

王恒生,刁治民,陈克龙,等. 冰核微生物的研究动态及开发应用前景[J]. 江苏农业科学,2014,42(7):17-21.

冰核微生物的研究动态及开发应用前景

王恒生¹, 刁治民¹, 陈克龙¹, 魏波²

(1. 青海师范大学生命与地理科学学院, 青海西宁 810008; 2. 合肥工业大学生物与食品工程学院, 安徽合肥 230011)

摘要:冰核微生物是近年来的研究热点,本文综述了冰核微生物的研究动态、应用现状,指出了其研究中存在的不足,提出雾霾的形成与冰核微生物相联系的观点,并对冰核微生物开发前景进行了展望,以期为冰核微生物的进一步研究开发提供理论基础。

关键词:冰核微生物;研究动态;应用;雾霾;开发前景

中图分类号: Q939.9 **文献标志码:** A **文章编号:** 1002-1302(2014)07-0017-05

冰核是引起水由液态变为固态的物质,它可以是无机物、有机物等非生物,也可以是生物^[1]。冰核存在是结冰发生的初始条件,因为冰核可作为晶核而凝结水分子,使其整齐排列,进而诱发结冰过程的形成。自然状态下,当水的温度高于一定值时,少量水分子开始有序排列成晶格状,形成同源冰核,并逐渐形成冰晶。理想状态下的小体积纯水在将近 -40℃ 才会结冰^[2]。冰核微生物作为一种生物冰核可以诱导水的冰点升高,其分布广泛,可在 -5 ~ -2℃ 下形成规则、细腻、微小异质冰晶。目前各国研究者对冰核微生物深入开展了基础理论和应用研究,在冰核微生物的分布、种类、影响成冰活性的因素、冰核细菌分子生物学及其应用等方面取得了较大的进展。

1 冰核微生物的种类及分布

1.1 冰核细菌

1972 年 Schnell 等首次在即将腐烂的植物叶内发现一种很重要的成冰核生物源物质^[3]。同年, Fresh 从即将腐烂的赤杨(*Alnus tenuifolia*) 树叶中分离出 1 株在 -5.0 ~ -2.5℃ 下具有冰核活性的细菌(ice nucleation-active bacteria, 简称

INA)^[4]。1974 年, Maki 等将这一具有冰核活性的细菌菌株鉴定为丁香假单胞菌(*Pseudomonas syringae*), 并进行了较为详细的研究^[5]。目前为止, 已发现 4 个属 23 个种或变种的细菌具有冰核活性。我国发现的冰核活性细菌分布在 3 个属 17 种或变种中, 优势种类为丁香假单胞菌和草生欧文氏菌(*Erwinia herbicola*)。

1.2 冰核真菌种类及分布

Kieft 于 1988 年首次报道红脐鳞菌(*Rhizoplacachrys oleuca*) 在 -1.9℃ 具有冰核活性^[6]。目前已报道了 4 属 11 个种或变种的冰核真菌, 除 3 种为地衣真菌外, 其余 8 种均为镰刀菌属(*Fusarium*)。冰核真菌分布在地衣、岩石表面、昆虫体内、土壤等, 研究证明真菌比细菌冰核抗热且耐酸碱、抗紫外线能力强, 这些重要的生理生化特性已引起科学家的关注, 认为冰核真菌比冰核细菌冰核活性稳定, 更具开发应用前景^[7]。

1.3 冰核病毒

研究发现接种黄矮病毒(barley yellow dwarf virus, BYDV) 的小麦农作物比对照提高霜冻温度 1 ~ 2℃, 且霜冻温度与病毒含量成正相关^[8]。

其他微生物如硅藻也发现具有冰核活性。

2 冰核微生物的研究现状

2.1 冰核细菌的分子生物学研究

目前, 关于冰核的分子生物学研究主要是以冰核细菌为研究对象。

2.1.1 细菌的冰核基因 研究发现冰核的成冰活性是由单个结构基因决定的, 每个冰核基因仅含 1 个开放阅读框架

(15):30-35.

[48] Gu Y X, Wang Z S, Li S X, et al. Effect of multiple factors on accumulation of nucleosides and bases in *Cordyceps militaris* [J]. Food Chemistry, 2007, 102(4):1304-1309.

[49] Park J P, Kim S W, Hwang H J, et al. Stimulatory effect of plant oils and fatty acids on the exo-biopolymer production in *Cordyceps militaris* [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2002, 31(3):250-255.

[50] 施明珠, 李有贵, 李增智, 等. 家蚕蛾油对蛹虫草液体发酵培养的影响[J]. 蚕业科学, 2008, 34(1):166-168.

收稿日期:2014-04-08

基金项目:国家自然科学基金(编号:31260130、41261020);国家社会科学基金(编号:10CJY015);青海省自然科学基金(编号:2013-z-902)。

作者简介:王恒生(1988—),男,安徽合肥人,硕士研究生,研究方向为资源微生物学。E-mail:365553207@qq.com。

通信作者:刁治民,教授,主要从事资源微生物学研究。E-mail:diao_zhemin@126.com。

[45] Dong J Z, Liu M R, Lei C, et al. Effects of Selenium and light wavelengths on liquid culture of *Cordyceps militaris* Link [J]. Applied Biochemistry and Biotechnology, 2012, 166(8):2030-2036.

[46] Masuda M, Urabe E, Honda H, et al. Enhanced production of cordycepin by surface culture using the medicinal mushroom *Cordyceps militaris* [J]. Enzyme and Microbial Technology, 2007, 40(5):1199-1205.

[47] Fan D D, Wang W, Zhong J J. Enhancement of cordycepin production in submerged cultures of *Cordyceps militaris* by addition of ferrous sulfate [J]. Biochemical Engineering Journal, 2012, 60

(ORF), 长度 4.0 ~ 7.5 kb, 由一系列的 24、48、144 个核苷酸重复单位组成, 冰核基因中间部分碱基具有周期性重复的特点, 每个重复区含 24 个保守的碱基对, 即重复的八肽 AGTGSTLT 相对应的不完整重复 DNA 序列^[7], 但不是完全保守。目前已对丁香假单胞菌的冰核基因 *IceC*、*InaZ*, 草生欧文氏菌的冰核基因 *IceE*, 荧光假单胞菌的冰核基因 *InaW*、*InaA*, 油菜黄单胞菌的冰核基因 *InaX* 和菠萝欧文氏菌的冰核基因等 6 个编码冰蛋白的基因作了序列测定分析, 发现 *InaW* 基因基本上与 *InaZ* 相似, *InaX* 的分子序列与 *InaZ*、*InaW*、*InaE* 基因也具有高度同源性^[9]。

2.1.2 冰核蛋白 冰核形成是由冰核蛋白 (ice nucleation protein, INP) 诱导的, 研究表明冰核活性细菌分泌的冰核蛋白附着于细菌细胞膜上, 是一种糖脂蛋白复合物 (lipogly coprotein compound), 冰核蛋白在细胞中聚合, 形成一种成冰核活性很强的蛋白复合物。不同细菌冰核蛋白有相似的一级结构, 其一级结构由 1 个相对疏水的 N-末端结构域、1 个高度亲水的 C-末端结构域和中心高度重复的 48 肽构成, 各占序列的 15%、4%、81%, 其中 48 肽中含 Gly、Ala、Ser、Thr, 具有亲水性, 结构上高度保真, 是表现冰核活性的重要模板^[7]。不同冰核蛋白都含有 1 个长度为 41 ~ 68 氨基酸残基的不重复 C 端和 161 ~ 203 个氨基酸残基的不重复 N 端, 以及中部 960 ~ 1 296 个氨基酸残基的核心重复区域, 该区域分 3 个不同层次的重复 (分别为 48、16 和 8 氨基酸重复单元), 其中 48 氨基酸重复单元间具高度相似性, 每个 48 氨基酸重复单元又可进一步分为 3 个 16 氨基酸残基的中度相似性重复单元, 16 氨基酸重复单元又可进一步分为 2 个只有 8 个氨基酸即 Ala-Gly-Tyr-Gly-Ser-Thr-Leu-Thr 的低度重复单元, 八肽中特异地富含 Ala、Gly、Thr 和 Ser, 因此具有亲水性特性, 在结构上表现出高度保真性, 是表现冰核活性最重要的模板。对冰核基因进行缺失分析发现, N-末端的缺失可引起丁香假单胞菌成冰核活性降低, 使其临界温度降至 -5 ℃ 以下; C-末端的缺失能使成冰核能力完全丧失; 中间重复结构域的连续缺失也能使成冰核能力相应下降^[10]。

2.2 影响冰核微生物成冰活性的因素

冰核活性细菌基因必须在其外膜表面表达组装成完整的冰核活性蛋白结酶, 且分布达到一定密度后, 才在一定温度下显示一定的冰核活性。在不同环境中, 冰核活性蛋白表达的时间、数量以及活性是不同的。影响成冰活性的因素很多, 主要表现在以下几个方面:

2.2.1 温度 冰核活性与温度呈负相关, 超过 25 ℃ 时则成冰活性显著下降。

2.2.2 菌液浓度 孙福等在研究发现, 当温度在 -7 ~ -2 ℃ 时, 冰核活性与菌液浓度呈正相关, 当浓度大于 10^8 个/mL 时冰核活性达到饱和^[11]。

2.2.3 pH 值 冰核细菌生长的 pH 值在 5.0 ~ 9.0 范围内, 最适 pH 值为 7.0。过酸、过碱环境都会破坏其冰核活性。

2.2.4 生长阶段 陈庆森等研究发现分离自杨树的 2 株冰核细菌的冰核活性在 MPDA 培养基的营养组分没有表现出特殊的要求, 都在生长到对数期后期为冰核蛋白的高表达时期, 并于稳定期后期活性最高^[12]。

2.2.5 其他因素 冰核细菌和冰核蛋白对重金属离子、化学

试剂、蛋白酶、植物外源凝集素等试剂敏感, 对紫外线、放射性元素的照射、抗菌素以及高温胁迫、臭氧^[13]也敏感。

2.3 冰核微生物与农作物霜冻关系的研究

2.3.1 冰核微生物对农作物霜冻的加剧 霜冻是造成农作物减产减收的严重灾害。长期以来, 人们一直认为是低温导致植物霜冻, 但自 1972 年 Schnell 等发现在腐烂的植物叶子内有细菌参与冰核的形成后, 人们才逐渐认识到霜冻的形成不完全是由低温引起的, 冰核细菌也参与了冰核的形成, 二者相互作用^[14]。冰核微生物广泛存在于腐生植物表面, 在 -5 ~ -2 ℃ 的条件下诱发植物体内形成冰晶, 造成植物霜冻, 破坏植物细胞膜结构, 致使植物死亡。通常, 无冰核细菌附生的植物可在 -8 ~ -7 ℃ 的低温下正常生长, 因此冰核微生物可诱发和加重植物的冻害。

刘建华等利用霜冻模拟试验与田间试验研究了玉米、大豆的霜冻机制与从作物上分离得到的 2 种冰核细菌间的数量关系。当玉米和大豆叶片喷洒有 5×10^8 个/mL 浓度的冰核细菌时, 叶温 -3 ~ -2.5 ℃ 时就严重受害, 而对照组则在 -7 ~ -6 ℃ 时才严重受害, 且霜冻程度与冰核细菌浓度呈正相关^[15]。韦建福等从蚕豆、玉米等植物中分离得到 12 株具有冰核活性的真菌, 经鉴定均为燕麦镰刀菌 (*Fusarium avenaceum*)^[16]。郑国华等以枇杷 (*Eriobotrya japonica*) 为试验材料, 在接种冰核细菌后人工降温, 随着低温胁迫时间的延长, 叶片褐变率不断上升, 相同时间内, 冰核细菌处理的枇杷叶片褐变率为无菌组的 2 ~ 3 倍, 且温度愈低, 冰核细菌处理的枇杷褐变率愈高^[17]。牛先前等研究发现冰核细菌不同程度地加重了冻害胁迫对枇杷果肉细胞壁、线粒体和叶绿体的破坏程度, 其中对叶绿体的破坏最为显著, 其次是细胞壁、线粒体^[18]。在 -3 ~ -2 ℃ 下, 相比于对照组, 接种冰核细菌的杏花器官的褐变率随温度的降低而加重, 花器官细胞膜透性遭受严重破坏, 细胞中丙二醛 (MDA) 显著上升, 而 MDA 是膜脂过氧化作用最终产物, 是膜系统受害的重要标志之一。说明冰核细菌是诱发和加重仁用杏霜冻危害的重要因素^[19-20]。

2.3.2 冰核微生物在农作物上的分布、消长动态研究 冰核细菌在植物体上的数量消长变化受降雨量多少、温度高低、湿度大小影响^[21]。当气温平均在 10 ~ 25 ℃, 雨量多、湿度大, 又逢春末秋初霜冻易发季节时, 冰核细菌出现频率高、数量较多, 容易分离到; 当平均气温高于 30 ℃, 处于盛夏季节时, 冰核细菌分布数量就很少, 难以分离到甚至分离不到。此外, 人类活动对冰核细菌浓度的变化也可能有重要影响^[22]。

目前对冰核微生物分布、消长动态的研究主要集中在细菌方面, 研究表明: 冰核细菌种类分布受植物种类、地域范围、气象因素和不同的制约而有差异。如在黄瓜、番茄和十字花科植物上主要分布 *P. syringae* 菌群, 而在香蕉和禾本科植物上主要分布着 *E. herbicola* 菌群; 在云南、广西亚热带地区, 冬季发生霜冻季节, 主要分布着 *E. herbicola* 菌群, 其次是 *P. syringae* 菌群, 而在北方温带的春、秋霜冻季节, 以荧光假单胞菌类为多, 其次是 *E. herbicola* 菌群^[7]。孙福等在研究了玉米上冰核细菌的消长动态规律, 结果发现冰核细菌消长动态变化和数量分布受玉米不同生长发育阶段影响, 冰核细菌数量在抽雄到成熟期间最多, 达到 $10^7 \sim 10^8$ CFU/g, 是拔节至抽雄期数量的 100 ~ 1 000 倍、苗期至拔节期数量的 10 000 ~

100 000 倍,且冰核细菌数量受玉米不同播期影响显著,晚期播种(5.0×10^4 CFU/g) < 中期播种(7.9×10^5 CFU/g) < 正常播种(1.9×10^7 CFU/g)^[21]。刘新文等研究发现茶树上冰核细菌以假单胞菌属、黄单胞菌属、欧文氏菌属为主,且分离自芽叶的冰核细菌数量最多,嫩叶、老叶其次,茶树品种及不同区域对冰核细菌的分布也是有影响的^[23]。

2.4 冰核微生物对大气气溶胶的冰相核化能力的影响

研究人员已在高海拔地区甚至在平流层和间层检测到了微生物及其有机体,细菌以气溶胶的形式在空气中广泛存在,是大气生物气溶胶的重要组成部分,是一类具活性并可利用营养物质而生长繁殖或能够在养分匮乏的空气中存留的气溶胶粒子。单个细菌的直径一般在 $0.3 \sim 10 \mu\text{m}$ 之间,与其他气溶胶成分结合组成细菌气溶胶,粒径范围 $0.3 \sim 100 \mu\text{m}$,比大气细菌的典型尺寸大得多,这可能是因为细菌与更大颗粒例如土壤颗粒、碎片和尘埃结合成细胞丛聚的原因^[24-25],生物气溶胶是气溶胶的重要组成部分,能对气候产生辐射强迫效应,其成核效应对气候变化的影响也越来越受关注。生物气溶胶包括细菌、真菌、病毒等微生物粒子、活性粒子如花粉、孢子等,以及由有生命活性的机体所释放到空气中的各种质粒(皮毛纤维、皮屑、表皮碎片、植物碎片、蛋白质晶体等)的统称^[26-27]。研究发现生物气溶胶可作为云凝结核(CCN)或冰核(IN)^[28]诱导过饱和和水汽凝结成液滴、促使过冷却水滴发生冻结形成冰晶,改变大气云的物理和化学过程,对大气化、大气降水和微生物地球化学循环产生影响,其中细菌气溶胶是自然界冰核活性最强的异质冰核^[29-30]。Pratt 等研究发现云中冰相颗粒 1/3 的冰晶中含有生物气溶胶^[31]。Levin 等利用垂直风洞测试研究了冰核细菌液滴的核化活性,结果发现冰核细菌以接触核的活性最高,冻结温度 $-9 \sim -3 \text{ }^\circ\text{C}$ 之间^[32]。

2.5 冰核细菌对水循环的潜在影响

冰核细菌具有高效冰核活性,科学家推测其在大气云中的异质核化作用可能对大气降水过程产生显著影响。Morris 等通过不同地点的水样品中细菌种群组成分析了 *P. syringae* 与水循环的相互关系,他们认为水的循环推动了细菌生活史的循环,植物表面或农业生态系统土壤的冰核细菌以气溶胶形式进入大气散布云中并输送到远距离,作为凝结核核化催化降水事件,然后随降水在下垫面重新分布,随后回归农业生态系统;下垫面系统的选择性压力使得各系统中的细菌种类及其物化和生化特性改变,从而形成了冰核细菌在水循环路径中种群规模不同、空间分布新格局和新特性的菌种^[33]。目前生物冰核在水循环过程中作用研究尚存在许多不确定性和未知性,需要更深入和广泛的探索与研究。

3 冰核微生物的应用现状

3.1 食品工业中的应用

冰核细菌用于食品冷冻中,可提高食品的过冷点,从而使食品在较高的温度下发生冻结,缩短了冻结时间而节省了大量能源。Jingkun 等将草生欧文氏菌(*Erwinia herbicola*)悬浮液加入无菌水中并在 $-6 \text{ }^\circ\text{C}$ 进行冷冻试验,使其过冷点提高到 $-0.82 \text{ }^\circ\text{C}$,而对照组无菌水则一直保持液态^[34]。陈庆森等把冰核活性菌体蛋白碎片应用在基围虾(*Metapenaeus ensis*)的低温微冻保藏技术中,分别将虾倒入冰核细菌液

10 mL,置于 $-3 \sim -2 \text{ }^\circ\text{C}$ 的冰箱中,20 d 后经感官、品质和风味检测,发现虾体保存良好,此项技术延长了基围虾的保存期,且耗能低^[35]。

3.2 促冻杀虫

仓储害虫的传统防治常用熏蒸法或极端温度处理,前者易残留在仓储物上,对人畜造成毒害,后者费用昂贵。而利用冰核细菌防治仓储害虫有很大的优点。首先不污染环境,不存在残留问题,也不会影响储粮的品质等。其次,在这种小的环境中便于进行人工低温的控制,防治成本低,易于操作^[36]。赤拟谷盗(*Tribolium ferrugineum* Fadr.)是一种严重的仓储害虫,自然状态下不容易结冰,不容易将其消灭。冯玉香等用冰核真菌制剂喷洒虫体,风干后人工降温至 $-4.8 \text{ }^\circ\text{C}$ 即可使赤拟谷盗体内结冰,而未喷洒冰核真菌的虫体在 $-14.9 \text{ }^\circ\text{C}$ 才结冰,且赤拟谷盗的结冰温度与冰核真菌浓度呈正相关^[37]。杨凤连等研究了冰核活性细菌对青菜虫血淋巴系统的影响,结果发现在相对较高温度下菜青虫血淋巴免疫力受到破坏^[38]。朱红等分别以喷雾和喂食法在棉铃虫(*Helicoverpa armigera*)上接种冰核细菌,试验表明喷雾法接种可在接种 1 d 后使结冰温度提高 $5.9 \text{ }^\circ\text{C}$,并在棉铃虫化蛹后还能将其结冰温度提高 $7.71 \text{ }^\circ\text{C}$,喂食法接种后 2 d 才出现棉铃虫结冰现象,在蛹上仅能使结冰温度提高 $0.93 \text{ }^\circ\text{C}$ ^[39]。Mignon 等以不同浓度的丁香假单胞菌菌悬液接种 2 种谷物害虫(*Sitophilus granarius* 和 *Oryzaephilus surinamensis*),研究发现,2 种虫的死亡率与菌液浓度呈正相关^[40]。

3.3 人工降雪、滑雪场的应用

1980 年,Woerpel 以冰核细菌研制成人工降雪催化剂并申请专利。1985 年由美国生产的商品名为 Snomax[®] 的冰蛋白人工降雪催化剂在滑雪场中使用,使雪的维持时间延长、雪质提高,与其他非生物冰核相比,既节省了能源又不污染环境^[41]。Snowmax[®] 于 1994 年被首次应用于人工降雪,市场前景十分广阔。我国也掌握了利用冰核细菌进行人工降雪并进入应用阶段。

3.4 冰核基因用作报告基因

冰核细菌基因的研究应用是生物冰核领域的研究热点,已有研究人员将该基因导入大肠杆菌中,并成功表达,使大肠杆菌具有了成冰核活性^[10,42]。冰核基因也可以在酵母、细菌和植物中表达,产生蛋白具有冰核活性^[43]。因此可使冰核基因作为报告基因,用于细菌、酵母和植物基因的表达调控研究。冰核基因作为一种新型的报告基因,与通常的报告基因相比具有快速、灵敏、经济、应用范围广等优点。

3.5 高敏检测

冰核活性检测具有灵敏、方便的特点,应用于高敏检测前景广阔。将冰核基因转导到沙门氏菌特异性噬菌体加到待测的食品和水中,可检测其冰核活性,这种检测方法快速、灵敏、成功率高^[44],可用于检测食品和水中的致病性沙门氏菌。梁波等采用冰核蛋白展示系统,将木糖脱氢酶(XDH)高效地表达在菌体表面,结合紫外可见吸收光谱方法,实现了 D-木糖的检测^[45]。

3.6 冰核蛋白表面展示系统的研究

冰核蛋白最广泛和最成功的应用是被用作细胞表面展示系统的运载蛋白,由此构建了大量的表达系统并分别应用于

蛋白质文库筛选、环境有毒物质的降解、重金属吸附、生物传感器等方面。例如郭恒等将编码狂犬病毒主要免疫保护性抗原糖蛋白 G 基因片段融合到丁香假单胞菌冰核蛋白中,构建表面展示载体,转化大肠埃希菌 BL21 (DE3) 后 16 ℃ 低温诱导表达,细胞 ELISA 试验结果表明,重组蛋白在大肠埃希菌表面成功展示^[46]。研究发现丁香假单胞菌的冰核蛋白能引导外源蛋白定位于乳酸乳球菌的细胞膜上,为乳酸菌表面展示系统的构建提供了新的方向^[47]。

3.6 其他应用

明亮认为,霜冻和大震间有很好的对应关系与机制对应,通过收集我国历史上大震前的霜冻数据,发现在每次大地震前,我国都会出现大范围的霜冻雨雪天气,经深入分析得出的结论是:震前地壳内应力增加裂缝增多,使大量土壤微生物逸出地表,由于风向使微生物飘向其他地区,这些微生物附生在农作物上,作为细菌冰核提高了作物细胞间水分的过冷却点温度,致使大规模霜冻的发生^[48]。笔者认为冰冻作为一种大震前兆的应用有待于跨领域深入研究,此项研究为震前预报提供了很好的研究方向。

4 存在的问题及展望

4.1 存在的不足

自发现微生物的冰核现象以来,经各国学者不断深入研究,在冰核微生物的研究及其应用等方面取得较大进展,但仍有一些应用中的实质性问题未能得到很好的解决。

4.1.1 冰核微生物在大气科学的研究还不够深入 纵观冰核微生物的整个研究发展过程,相关的主流研究集中在对其生物学特性研究、防霜技术的应用、食品冷冻、冰核基因导入及降低物质过冷却点等方面,远远偏离了大气科学,直到 21 世纪初,科学家们开始再次关注冰核细菌的冰核活性,将其应用研究延伸到了大气科学领域中,从而产生了一个新兴的综合学科交叉研究领域^[49]。研究中存在的疑问还很多,具有很多不确定性,比如如何鉴别已发现的生物冰核种和新种,怎样直接或间接测定混合相云中的生物冰核数浓度的空间分布,怎样确定导致大气活性生物冰核的数浓度以及其对环境因子的影响程度和影响机制等。探求解释这些科学问题需要各学科间的交叉综合方法去研究,包括气象学、微生物学和大气化学、物理学等。

4.1.2 冰核微生物是否对雾霾的形成有诱导作用 雾霾成分复杂,受其粒径、来源、所处气候条件等因素影响,主要包括有机物、无机物、水溶性无机盐以及含碳组分,其中水溶性无机盐和含碳组分是雾霾主要组分,其质量之和超过雾霾质量的 50%,且不同时间不同地区的雾霾中的无机元素种类和含量各不相同^[50]。雾霾中还含有大量的微生物,如细菌、病毒、霉菌等^[51-53]。近日,清华大学生命学院朱听研究员课题组报道了北京市雾霾天气中大气悬浮颗粒物的微生物组分,其中包含 1 300 多种微生物,细菌占 80% 以上,同时还含有少量的病毒和古细菌。雾霾具有季节性日变化模式:整体上是冬季夜间质量浓度高于白天,夏季白天质量浓度低于夜晚。He 等研究发现雾霾浓度具有明显的季节变化特征,即冬季浓度值最高,夏季最低^[54],这与冰核细菌的分布消长动态相吻合。笔者认为低温是诱导雾霾形成的必要因素之一,雾霾的产生

是否受到冰核微生物在相对低温条件下的丛聚胶黏作用,使大气中水、无机物、有机质以及各种污染物聚合在一起而诱导其形成? 目前还未见相关的研究和报道。

4.1.3 应加强极地冰核微生物的研究与开发 严寒是极地基本的气候特征之一,在内陆青藏高原也常年分布着高原雪山与冻土层,其分布的冰核微生物还未深入研究。目前,已经从南极分离到 11 株具有冰核活性的细菌,其中包括一种新的南极细菌,定名为 *Pseudomonas* sp. KS-1^[55]。且与中温冰核活性生物相比,南极冰核生物具有热稳定性好、冰核活性强、分布广和致病性弱等特点^[56]。加强对极地冰核微生物的研究与开发将有助于冰核微生物大规模应用迈上新台阶。

4.1.4 应加强对真菌冰核的研究 真菌冰核基础理论研究目前还不深入,其具有的独特特性是细菌冰核所不具备的,如耐酸碱、耐热,不需脂类、糖类和巯基基团参与即可发挥活性等,真菌冰核的应用更具便利性、操作性,预计应用前景可能会更广阔,因此,应当加速真菌冰核的研究和开发应用。

4.1.5 在食品工业应用中存在的不足 将冰核活性细菌应用于食品的冷冻浓缩中不仅可促使冰晶的生成,降低食品的过冷却点,还可解决因食品黏度大影响固液分离效率等技术难题,这也是该技术将来研究的方向之一,细菌冰核在食品中的应用将日益广泛。克隆冰核基因并导入到乳酸杆菌、酵母菌等食用级安全微生物中,通过直接应用这些微生物而表达冰核活性,需要对冰核细菌作大量的分子生物学研究。如何确保在食品工业中冰核活性蛋白的高水平表达和冰核细菌活性成分对环境以及人类的安全的影响是当前研究的方向。

4.2 冰核微生物应用前景展望

随着低温生物技术的发展与改进,冰核微生物将越来越显现出广阔的应用前景,它除了应用在冰核蛋白表面展示系统的构建、食品业、体育娱乐业、农业、人工影响气候演变、促进降雨降雪、分子生物学等领域,还将在医药卫生业昂贵生物制品的保藏等方面起着重要的作用,随着新的冰核微生物的发现和冰核微生物基础理论研究工作的推进以及与不同学科间的交叉研究,必将使冰核微生物的应用前景越来越广阔,也必将使冰核微生物更广泛地应用于生产实践中。

参考文献:

- [1] 姜莉, 缪卫国, 努尔孜亚, 等. 冰核细菌的研究、应用现状和前景[J]. 新疆农业科学, 2002, 39(5): 271-274.
- [2] Bigg E K. The supercooling of water[J]. Proc Soc, 1953, 66: 688-694.
- [3] Schnell R C, Vali G. Atmospheric ice nuclei from decomposing vegetation[J]. Nature, 1972, 236(5343): 163-165.
- [4] Fresh R W. Ice nucleation produces by a *Pseudomonas* isolate, strain C-9[D]. Laramine: University of Wyoming, 1972.
- [5] Maki R L, Galyan E L, Chang - Chien M M, et al. Ice nucleation induced by *Pseudomonas syringae*[J]. Applied Microbiology, 1974, 28(3): 456-459.
- [6] Kieft T L. Ice nucleation activity in lichens[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1988, 54(7): 1678-1681.
- [7] 黄俊宝, 李春, 吴晓玉. 冰核微生物的生物学研究与应用前景[J]. 江西农业大学学报, 2005, 27(2): 299-304.
- [8] 周希明, 朱红, 孙福在. 大麦黄矮病毒的冰核活性与作物霜冻

- 的关系[J]. 微生物学报,1994,34(6):457-462.
- [9]胡爱民,张世光. 冰核活性细菌的研究进展[J]. 云南农业大学学报,1999,14(2):98-101.
- [10]岳思君,王文举. 冰核活性细菌研究进展及其在防霜技术中的应用[J]. 农业科学研究,2005,26(2):66-70.
- [11]孙福在,朱红,何礼远. 影响冰核细菌成冰活性的因素研究[J]. 中国农业科学,1991,24(3):57-64.
- [12]陈庆森,阎亚丽,王素英,等. 冰核细菌表达冰核蛋白特性的研究[J]. 微生物学通报,2000,27(6):421-424.
- [13]Sarron E, Cochet N, Gadonna - Widehem P. Effects of aqueous ozone on *Pseudomonas syringae* viability and ice nucleating activity[J]. Process Biochemistry,2013(48):1004-1009.
- [14]孙福在,赵廷昌. 冰核细菌生物学特性及其诱发植物霜冻机理与防霜应用[J]. 生态学报,2003,23(2):336-345.
- [15]刘建华,陶毓汾,何维勋,等. 冰核活性细菌与玉米和大豆霜冻关系的研究[J]. 中国农业气象,1990,11(1):1-6.
- [16]韦建福,张世光,徐光华. 冰核活性真菌的分离与鉴定[J]. 云南农业大学学报,1999,14(1):7-11.
- [17]郑国华,潘东明,牛先前,等. 冰核细菌对低温胁迫下枇杷光合参数和叶绿素荧光参数的影响[J]. 中国生态农业学报,2010,18(6):1251-1255.
- [18]牛先前,郑国华,林秀香,等. 冰核细菌对低温胁迫下枇杷幼果中果肉超微结构的影响[J]. 中国生态农业学报,2011,19(2):388-393.
- [19]彭伟秀,杨建民,张芹,等. 冰核细菌对仁用杏胚珠超微结构的影响[J]. 园艺学报,2004,31(1):21-24.
- [20]杨建民,孟庆瑞,彭伟秀,等. 冰核细菌对杏花器官抗寒性的影响[J]. 园艺学报,2002,29(1):20-24.
- [21]孙福在,赵廷昌,王佳君,等. 冰核细菌在我国北方玉米上的消长动态规律[J]. 生态学报,2005,25(4):785-790.
- [22]游来光,杨绍忠,王祥国,等. 1995 和 1996 年春季北京地区大气冰核浓度的观测与研究[J]. 气象学报,2002,60(1):101-109.
- [23]刘新文,侯晓兰. 冰核细菌在山东茶树上的消长动态研究[J]. 山东林业科技,2013,43(1):42-44,33.
- [24]Bovallius A, Rofey B B R, Anas P. Three - year investigation of the natural airborne bacterial flor at four localities in Sweden [J]. Applied and Environmental Microbiology,1978,35:847-852.
- [25]Lighthart B. The ecology of bacteria in the alfresco atmosphere[J]. FEMS Microbiology Ecology,1997,23(4):263-274.
- [26]Burge H A. Bioaerosols [M]. Boca Raton: Lewis Publisher, 1995:7.
- [27]Jaenicke R. Abundance of cellular material and proteins in the atmosphere[J]. Science,2005,308(5718):73.
- [28]Sun J, Ariya P A. Atmospheric organic and bioaerosols as cloud condensation nuclei (CCN): a review [J]. Atmospheric Environment,2006,40:795-820.
- [29]Bauer H, Giehl H, Hitznerberger R, et al. Airborne bacteria as cloud condensation nuclei [J]. Geophys Res, 2003, 108: AAC2/1 - AAC2/5.
- [30]Franc G D, Demott P J. Cloud activation of airborne *Erwinia carotovora* cells[J]. Appl Meteor,1998,37:1293-1300.
- [31]Pratt K A, Demott P J, French J R, et al. *In situ* detection of biological particles in cloud ice - crystals[J]. Nature Geoscience,2009,2(6):398-401.
- [32]Levin Z, Yank S A. Contact versus immersion freezing of freely suspended droplets by bacterial ice nlei[J]. Appl Meteor,1983,22:1964-1966.
- [33]Morris C E, Sands D C, Vinatzer B A, et al. The life history of the plant pathogen *Pseudomonas syringae* is linked to the water cycle [J]. ISME Journal,2008,2(3):321-334.
- [34]Jingkun L, Tungching L. Bacterial extracellular ice nucleator effects on freezing of foods [J]. Journal of Food Science,1993,63(3):375-381.
- [35]陈庆森,刘剑虹,阎亚丽,等. 冰核活性菌体蛋白微冻保鲜虾体的应用研究[J]. 食品科学,2002,23(11):139-143.
- [36]段波,李燕,罗佑珍. 运用冰核活性细菌降低害虫的抗寒能力[J]. 云南农业大学学报,2004,19(3):260-264,271.
- [37]冯玉香,何维勋. 冰核真菌削弱赤拟谷盗抗寒力的初步研究[J]. 昆虫学报,2002,45(1):148-151.
- [38]杨凤连,程家森,罗佑珍. 冰核活性细菌 (INAB) 对菜青虫血淋巴免疫系统影响的研究[J]. 昆虫知识,2005,42(4):391-394.
- [39]朱红,孙福在,张永祥,等. 冰核细菌对棉铃虫结冰温度影响的研究[J]. 中国农业科学,1994,27(6):23-27.
- [40]Mignon J, Haubruge E, Gaspar C. Effect of ice - nucleating bacteria (*Pseudomonas syringae* Van Hall) on insect susceptibility to sub - zero temperatures [J]. Journal of Stored Products Research, 1998,34(1):81-86.
- [41]Woerpel M D. Snow making:US,4200228[P]. 1978-09-18.
- [42]姚润贤,袁哲明. 冰核细菌 *Erwinia ananas* 110 冰核基因 *iceA* 的原核表达及冰核活性分析[J]. 湖南农业大学学报:自然科学版,2013,39(4):354-358.
- [43]Baertlein D A, Lindow S E, Panopoulos N J, et al. Expression of a bacterial ice nucleation gene in plants [J]. Plant Physiology,1992,100(4):1730-1736.
- [44]Wolber P K. Bacterial ice nucleation [J]. Microbiol Physiol,1993,34:203-237.
- [45]梁波,李亮,刘爱骅. 基于冰核蛋白的木糖脱氢酶细菌展示系统的构建及其在 *D* - 木糖检测中的应用 [C]. 中国化学会第 28 届学术年会. 成都,2012.
- [46]郭恒,刘娟,李慧萍,等. 基于冰核蛋白的狂犬病毒糖蛋白细菌表面展示[J]. 动物医学进展,2010,31(增刊1):51-54.
- [47]张秋香,侯慧丽,芦颖,等. 基于冰核蛋白的乳酸菌表面展示系统的构建[J]. 微生物学报,2013,53(4):397-402.
- [48]明亮. 大震前的霜冻与生物冰核数量增大[J]. 山西地震,2011,36(4):36-39.
- [49]杜睿. 生物气溶胶在大气冰核化过程中的作用 [M]. “10 000 个科学难题”地球科学编委会. 10 000 个科学难题:地球科学卷. 北京:科学出版社,2010:753-755.
- [50]刘洁岭,蒋文举. PM_{2.5} 的研究现状及防控对策[J]. 广州化工,2012,40(23):22-24.
- [51]任海燕. 认识 PM_{2.5} [J]. 中国科技术语,2012,14(2):54-56.
- [52]范蔚,王燕玲,姜垣,等. 上海部分餐馆室内空气 PM_{2.5} 浓度监测及禁烟措施调查[J]. 中国健康教育,2012,28(2):88-90.
- [53]杨新兴,冯丽华,尉鹏. 大气颗粒物 PM_{2.5} 及其危害[J]. 前沿科学,2012,21(1):22-31.
- [54]He K B, Yang F M, Ma Y L, et al. The characteri Stics of PM_{2.5} in Beijing, China [J]. Atmospheric Environment,2001,35(29):4959-4970.
- [55]阚光锋,史翠娟,丁燊. 南极冰核活性生物研究进展[J]. 食品科技,2008,33(5):123-125.
- [56]Worland M R, Block W. Ice - nucleating bacteria from the guts of two sub - Antarctic beetles, *Hydromedion sparsutum* and *Perimylops antarcticus* (Perimylopidae) [J]. Cryobiology,1999,38(1):60-67.