

防除 INA 细菌减轻蚕豆霜冻害的研究*

张世珙, 罗佑珍, 胡爱民, 姬广海, 韦建福, 陈兴全, 董文汉
(云南农业大学植物保护学院, 云南昆明 650201)

摘要: 用室内测定及田间试验的方法, 从 10 种供试药剂中筛选出 1 号、3 号、4 号、5 号、10 号等 5 种防霜剂, 用于防除 INA 细菌, 减轻蚕豆霜冻, 效果稳定。在此基础上开发的农大防霜剂 5 号, 防霜效果好, 能使蚕豆增产 10% ~ 20%, 具有良好的应用前景。

关键词: INA 细菌; 药剂筛选; 农大防霜剂 5 号; 蚕豆; 除菌防霜

中图分类号: S 425; S 482.99 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-390X(2002)02-0117-06

长期以来, 人们一直认为霜冻是低温对植物的单一胁迫作用所造成的危害, 但这种说法难以圆满地解释霜冻的实质。近年来国内外的许多研究发现了冰核活性细菌 (Ice nucleation active bacteria, 简称 INA 细菌) 能够破坏植物的过冷却状态, 使之在 $-5\text{ }^{\circ}\text{C} \sim -2\text{ }^{\circ}\text{C}$ 下结冰, 发生霜冻。作者已从云南省的 50 余种植物分离到 197 株 INA 细菌^[1], 说明云南省广泛存在着 INA 细菌, 其发生高峰期为每年的 1~3 月^[2], 而此时云南省各地最低气温也经常降低至 $0\text{ }^{\circ}\text{C}$ 以下, 高密度的 INA 细菌与低温气候同时出现, 导致云南省霜冻害发生频繁, 损失严重。如 1986 年 2 月 28 日发生的大面积霜冻, 使云南省小春粮食产量从预测的 14 亿 kg 减少到 7 亿 kg, 其中受害最严重的是蚕豆, 平均单产只有 38 kg, 造成了巨大损失。由此可见霜冻害是影响蚕豆稳产高产的重要因素之一。

为了减轻霜冻损失, 人们一直都在寻找有效的防霜技术, 传统的做法是灌水、熏烟、覆盖、避霜栽培等, 费工费时, 成效甚小。当深入研究了 INA 细菌的成冰原理之后, 产生了一种全新的防霜冻理念, 即通过防除 INA 细菌来减轻霜冻造成的损失, 为此, 作者开展了防霜剂开发及应用的研究。该研究连续进行了 9 年, 基本弄清了云南省 INA 细菌的种类、分布, 筛选了一批防霜剂, 其中农大防霜剂 5 号在蚕豆、油菜、小麦、花卉及草坪等多种植物上试

验取得了良好的效益, 现将防霜剂的研究开发及在蚕豆上应用的结果报道如下。

1 材料与方法

1.1 杀灭 INA 细菌药剂的筛选

1.1.1 供试药剂

1 号 1 500 倍溶液、2 号 800 倍溶液、3 号 600 倍溶液、4 号 1 200 倍溶液、5 号 2 000 倍溶液、6 号 600 倍溶液、7 号 1 500 倍溶液、8 号 1 000 倍溶液、9 号 300 倍溶液、10 号 1 500 倍溶液。以下简称 1 号~10 号。

1.1.2 供试菌株

W0042 *Erwinia ananas* 寄主蚕豆, 采自邱北县;
W0068 *Pseudomonas syringae* P.v. *syringae* 寄主蚕豆, 采自玉溪市;

W0086 *E. herbicola* 寄主蚕豆, 采自昆明市双哨乡。

1.1.3 室内测定

1.1.3.1 抑制圈法

将 INA 细菌配制成 3×10^8 cfu/mL 悬浮液, 吸取 1 mL 注入 $45\text{ }^{\circ}\text{C}$ KB 培养基中, 摇匀, 倒入灭菌的平皿中, 制成厚度 2 mm 左右的鉴定平板, 在其上放置浸入药液 24 h 直径 6 mm 的圆形纸碟 6 片, $22\text{ }^{\circ}\text{C}$ 培养 24~48 h 后, 观察抑菌圈的有无, 并测量其直径。设重复 10 次 (10 皿), 对照 (浸入清水 24 h) 1

* 收稿日期: 2001-11-14

基金项目: 云南省科委应用基础研究基金资助项目 (95G-009)

作者简介: 张世珙 (1940-), 男, 昆明市人, 教授, 主要研究植物病原细菌及细菌病害。

个(1皿)。

1.1.3.2 药剂对 INA 细菌的杀灭作用

取 3×10^8 cfu/mL 的 INA 细菌悬浮液 0.1 mL 与 0.9 mL 测定浓度的药剂充分混合,使细菌浓度变为 3×10^7 cfu/mL,室温下放置 5 h,10 h 后,分别吸取 0.2 mL 菌药混合液涂抹于 KB 平板上,设 10 次重复,并以 3×10^7 cfu/mL 菌液(未加药剂)作对照,22℃培养 3 d 后,统计菌落数,计算杀菌效果。

1.1.3.3 药剂对 INA 细菌冰核活性的破坏作用

取 3×10^8 cfu/mL 的 INA 细菌悬浮液 0.1 mL 与 0.9 mL 测定浓度的药剂充分混合,室温下放置 5 h,30 h,60 h,90 h 后分别取样于 -5°C 下,用 Vali 的小液滴结冻法^[1]测定冰核活性。设重复 10 次,以未

加药剂的 3×10^7 cfu/mL 菌液作对照。统计冻滴率计算药剂对冰核活性的破坏效果。

1.2 蚕豆除菌防霜冻田间试验示范

1.2.1 供试药剂

同 1.1.1

1.2.2 试验示范地点及方法

按平流霜冻、辐射霜冻、平流辐射混合型等 3 种霜冻类型,选择霜冻发生频率高、小春作物以蚕豆为主的陆良县四河办事处、大沟办事处,昆明市福海乡,昆阳农场及玉溪大营街等地进行试验示范。各年度的试验地点、供试药剂、小区面积等详见表 1。

表 1 田间试验示范一览表

Tab. 1 Indoors and experimenting demonstration

时间	试验地点	供试药剂	施药次数	施药日期	物侯期	霜冻情况	小区面积/m ²	示范区面积/hm ²
1991	陆良四河	1,3,4,5,9,10	1次	1991.02.09	盛花	霜冻	10	
1992	陆良四河	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10	第1次 第2次	1992.01.30 92.02.20	初花 盛花	轻	10	
1993	陆良四河	1.2.3.4.5.6.7.8.9.10	第1次 第2次	1992.12.04 1993.01.15	现蕾 初花	霜冻 霜冻	10	
	陆良大沟	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10	第1次 第2次	1992.12.02 1993.01.15	现蕾 初花	霜冻 霜冻	10	
	昆阳农场	1,2,3,4,5,6,7,9,10	第1次 第2次 第3次	1992.12.15 1993.01.08 1993.02.01	现蕾 初花 始盛花	霜冻 霜冻 霜冻	30	
1994	玉溪大营街	1,3,4,5,10	第1次 第2次	1993.12.28 1994.01.17	初花 始盛花	无霜冻 霜冻	30	
1996	陆良四河	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10	第1次 第2次	1996.01.30 1996.02.28	始盛花 盛花	霜冻 霜冻	30	
		农大防霜剂 5 号	1次	90.01.30	始盛花	霜冻		2.7
	昆阳农场	1,2,3,4,5,6,7,8,9,10	第1次 第2次	1995.12.28 1996.01.15	初花 始盛花	霜冻 霜冻	30	
		农大防霜剂 5 号	1次	95.12.28	初花	霜冻		8
1997	陆良四河	农大防霜剂 5 号	1次	1997.01.30	盛花	霜冻		13.3
	昆阳农场	1,2,3,4,10	第1次 第2次	1996.12.27 1997.01.15	初花 始盛花	霜冻 霜冻	30	
		农大防霜剂 5 号	1次	1997.01.15	始盛花	霜冻		8
	昆明福海乡	农大防霜剂 5 号	1次	1997.02.02	盛花	霜冻		3.3
1999	陆良四河大沟	农大防霜剂 5 号	1次	1997.12.27	初花	霜冻		330

1.2.3 田间设计

试验地要求地势开阔平坦,历年霜冻发生频繁,蚕豆长势基本一致。每处理重复 3 次,设不施

药(喷清水)作对照,相邻各小区间留有空行间隔,随机排列。

1.2.4 施药方法

喷药要求均匀一致,叶片正反面都要喷到,以药液布满叶面不下滴为度。操作时用塑料薄膜将相邻小区隔开,防止串喷。

1.2.5 调查方法

各小区对角线5点取样,每点取20株,调查花荚受冻情况,统计保花效果,百枝实荚数、百枝实粒数、百粒重,产量实收实测。示范区也作产量调查。

1.2.6 防霜剂的开发研究

在室内测定及田间试验的基础上,开发农大防霜剂,并作大田示范,调查蚕豆经济性状及产量。调查方法同1.2.5。

2 结果与分析

2.1 防除 INA 细菌药剂室内筛选结果

2.1.1 药剂对 INA 细菌的抑菌作用

表2 药剂对 INA 细菌的抑菌作用

Tab. 2 The medicine for INA bacteria's bacteristasis

药剂	抑菌圈直径/mm					
	<i>E. ananas</i>	药效排名	<i>E. herbilola</i>	药效排名	<i>P. syringae</i>	药效排名
1号	22.0	2	24.3	1	25.8	1
2号	16.4	4	15.5	7	13.4	6
3号	15.2	5	21.1	3	22.2	2
4号	18.4	3	18.6	4	18.4	4
5号	23.4	1	23.2	2	21.5	3
6号	13.2	6	16.1	6	10.8	7
7号	10.5	8	6.9	9	9.4	9
8号	8.6	9	8.4	8	10.5	8
9号	4.6	10	6.8	10	5.5	10
10号	12.8	7	17.7	5	14.9	5
CK	0		0		0	

表3 药剂对 INA 细菌的杀灭作用

Tab. 3 The medicine for INA bacteria's fordo action

药剂	5 h 后			10 h 后		
	菌落数/个	存活细菌数/mL	杀灭率/%	菌落数/个	存活细菌数/mL	杀灭率/%
1号	0	0	100	0	0	100
3号	0	0	100	0	0	100
4号	610	3 050	99.99	96	470	≈100
5号	3 280	16 400	99.94	1 600	8 000	99.97
10号	3 200	16 000	99.95	560	2 800	99.99
CK	密布平板 无法计数	3×10^7	-	密布平板 无法计数	3×10^7	-

注:①假定 CK 中 5 h, 10 h 后存活细菌数仍为 3×10^7 cfu/mL; ②每 mL 中存活细菌数 = $\frac{\text{菌落数} \times \text{稀释倍数}}{\text{平板中加菌液量}}$;

③杀灭率% = $\frac{\text{CK 活细菌数} - \text{处理后存活细菌数}}{\text{CK 中活细菌数}} \times 100$

从表2看出,作者选用的10种药剂对3株供试菌均有抑菌作用,其中1号、3号、4号、5号、10号抑菌作用较强。

2.1.2 药剂对 INA 细菌的杀灭作用

由表3看出,测试的5种药剂对 INA 细菌都有杀灭作用,其中1号、3号能迅速杀死 INA 细菌,5 h

后已无存活细菌,10 h 后,4号、5号、10号杀灭率也达到99.97%以上。由于细菌数量的对数与植物受冻率呈线性相关^[2],因此,在植物上喷施药剂防除 INA 细菌,减轻霜冻害是一项有效的简单可行的措施。

2.1.3 药剂对 INA 细菌冰核活性的破坏作用

表 4 药剂对 INA 细菌冰核活性的破坏效果

Tab. 4 The medicine's effect of INA bacteria's demonlition

药 剂	5 h 后		30 h 后		60 h 后	
	冻滴率/%	破坏率/%	冻滴率/%	破坏率/%	冻滴率/%	破坏率/%
1 号	100	0	85	15	0	100
3 号	0	100	0	100	0	100
4 号	0	100	0	100	0	100
5 号	5	95	0	100	0	100
10 号	100	0	5	95	0	100
CK	100	-	100	-	100	-

注:破坏率 = CK 冻滴率 - 处理冻滴率

表 4 说明,不同药剂对冰核活性的破坏速率是不一样的,3 号、4 号处理 5 h 后破坏率即达 100%,30 h 后 5 号达 100%,60 h 后,1 号、10 号方为 100%。因此,田间应用防霜剂需根据天气预报,在重霜之前 10 d 左右施用,待冰核活性充分破坏后才能发挥其良好的防霜效果。

2.2 药剂除菌减轻蚕豆霜冻田间试验示范结果

2.2.1 小区试验结果

由表 5 看出于蚕豆现蕾期、初花期施用药剂防除 INA 细菌,除 9 号外,其余 9 种药剂蚕豆全开花台数比 CK 增加 2.5% ~ 13.9%。2 号,3 号,5 号,8 号,10 号始荚节比 CK(5.03)降低,分别为 4.30,4.89,4.25,4.50,4.76,说明供试药剂确有保花保荚作用,早结荚、多结荚、早结实,有利于青蚕豆提早

上市及提高产量,能增加经济效益。

表 5 药剂除菌防冻保花保荚效果调查

Tab. 5 The inquiry of medicine prevent bacteria and forst's effection 陆良

药剂	全开放花台数/枝	±/%	始荚节
1 号	4.50	13.9	5.73
2 号	4.20	6.3	4.36
3 号	4.05	2.5	4.89
4 号	4.15	5.1	6.01
5 号	4.38	10.9	4.25
6 号	4.10	3.8	6.48
7 号	4.38	3.8	5.32
8 号	4.10	10.9	4.50
9 号	2.65	-32.9	6.50
10 号	4.35	6.3	4.76
CK	3.95	-	5.03

表 6 蚕豆主要经济性状及产量调查

Tab. 6 The inquiry of bean's main economic quatitative status and output 陆良四河

药剂	百枝实荚数/个		百枝实粒数/粒		产量/(kg·hm ²)			
	1992 年	1996 年	1992 年	1996 年	1992 年	±/%	1996 年	±/%
1 号	221.5	184	352.4	243	2 611.5	19.0	4 237.5	32.13
2 号	218.9	162	331.5	229	2 604.0	18.7	2 887.5	-9.97
3 号	235.9	157	357.9	242	2 439.0	11.1	3 538.5	10.33
4 号	236.0	194	367.6	248	2 380.5	8.5	3 376.5	5.29
5 号	223.4	171	339.3	232	2 473.5	12.7	3 855.0	20.21
6 号	218.2	174	337.5	231	2 416.5	10.1	3 169.5	-1.14
7 号	210.2	196	318.9	228	2 116.5	-3.6	3 000.0	-6.44
8 号	220.0	179	333.9	235	2 413.5	10.0	3 439.5	7.29
9 号	226.3	180	348.6	275	2 379.0	8.5	3 309.0	3.18
10 号	226.5	196	348.1	239	2 416.5	10.1	3 613.5	12.71
CK	219.3	153	328.8	228	2 194.5	-	3 205.5	-

表 6,表 7 分别是陆良四河及昆阳农场蚕豆经济性状及产量的调查结果。从表中看出,1 号,3 号,4 号,5 号,8 号,9 号,10 号效果稳定,蚕豆增产

率最高 32.13%,最低 3.18%。多数在 10% ~ 20% 之间,2 号,6 号效果不太稳定,7 号效果不好。

2.2.2 农大防霜剂 5 号大田示范结果

在5号药剂的基础上,开发了农大防霜剂5号,分别于1996,1997,1999年在陆良四河、大沟、昆阳农场、玉溪大营街、昆明市福海乡等地作了大田

示范。也进行了蚕豆经济性状的调查,全部田块实收实测产量,计算平均单产,结果见表8,表9。

表7 蚕豆主要经济性状及产量调查

Tab. 7 The inquiry of bean's main economic quatitative status and output

药剂	调查株数	总分枝数	有效分枝数	实荚数/个	实粒数/粒	百粒重/g	昆阳农场 1997年	
							产量/(kg·hm ⁻²)	±/%
1号	100	185	160	623	753	112.29	2 370	18.8
2号	100	202	143	668	718	109.73	2 310	15.8
3号	100	198	173	681	753	108.17	2 220	11.3
4号	100	197	159	673	741	109.28	2 295	15.0
5号	100	199	185	621	769	110.44	2 325	16.5
10号	100	216	145	643	711	107.71	2 175	9.0
CK	100	195	138	501	675	106.51	1 995	-

表8 农大防霜剂5号示范区调查

Tab. 8 Anti-frost-proof No.5 inquire in demenstration region

项目	陆良			昆阳农场		
	示范区	±/%	CK	示范区	±/%	CK
调查株数	100		100	100		100
总分枝数	216		217	198		198
有效分枝数	173		168	173		149
始荚节	5.81		5.96	9.1		9.4
百株总荚数	421		388	768		690
百株实荚数	393	12.94	312	681	10.06	501
百株秕荚数	28	66.04*	76	87	58.37*	189
百株总粒数	599		566	867		773
百株实粒数	530	19.23	392	753	-0.47	675
百株秕粒数	69	62.52*	174	114	-0.47	98
百粒重	112.42	18.04	91.73	112.29	5.42	106.50
产量/kg·hm ⁻²	2 760	33.3	2 070	2 938.5	21.45	2 419.5

* :注为比对照降低程度 $X = 100(A - B)$

表9 农大防霜剂5号施药次数与产量的关系

Tab. 9 The reference between Anti-frost-proof No.5 output and fertilizing times

地点	施药次数	产量/(kg·hm ⁻²)		
		施药区	±/%	CK
陆良大沟	1	3 699.0	4.23	3 549.0
	2	3 853.5	20.21	3 205.5
陆良四河	1	3 537.0	4.75	3 376.5
	2	3 613.5	7.02	3 376.5
昆阳农场	1	2 932.5	11.02	2 641.5
	2	3 319.5	20.60	2 752.5

从表8,表9看出,田间施用农大防霜剂5号后,保花保荚效果明显,有效分枝增加,始荚节降

低,百枝实荚数、总粒数增加,秕荚秕粒数减少,百粒重增加,产量增加,施药2次效果更好。

3 讨论

(1) 经作者多年研究发现,云南省每年1~3月份是INA细菌发生的高峰期,而同期最低气温经常降至0℃以下,由于寒冷天气与大量INA细菌发生期的一致性,导致了云南省霜冻灾害发生频繁,危害严重。因此研究科技含量高、简单易行的防霜新技术成为生产上急需解决的问题。

(2) 作者从1990年开始,对10种药剂进行了室内测定和田间示范,都有一定的除菌防霜减冻效果,其中以1号、3号、4号、5号、10号效果较好,其

增产幅度在 10% 左右。

(3) 研究表明,药剂对 INA 细菌冰核活性的破坏需要一定的时间,必须在重霜发生之前 10 d 左右施用。因此应与气象部门密切联系,了解中期天气预报,做好药械及人力准备,及时施用。

(4) 作者在 5 号药剂基础上开发的农大防霜剂 5 号在蚕豆上试验示范防霜效果稳定,增产效果明显,已形成了一项成熟的技术,可以在云南省大面积推广。

(5) 农大防霜剂 5 号在玫瑰、月季、黑麦草、马蹄金、白花苜蓿等 27 种园艺植物,甘蔗、蔬菜等作物上使用,防霜作用明显,未见药害,有良好的推广应用前景。

[参 考 文 献]

- [1] 韦建福,张世琬.冰核细菌的研究方法[J].云南农业大学学报,2000,15(2):165-167.
[2] 徐光华.云南冰核细菌密度与霜冻发生规律及冰核生物多样性的研究[D].云南农业大学,1999.

Research on Preventing INA Bacteria and Releasing Bean form Frost

ZHANG Shi-guang, LUO You-zheng, HU Ai-min,
JI Guang-hai, WEI Jian-fu, DONG Wen-han

(College of Plant Protection of Yunnan Agricultural University, Kunming 650201, China)

Abstract: By measuring indoors and experimenting in fields, we choose five out ten optional medicinal preparations for preventing INA bacteria and releasing bean form frost. These five medicines are named as No. 1, No. 3, No. 4, No. 5, and No. 10 and which all have stable effect on the frostbite. On such solid basis, we have developed a new Anti-frost-proof named as No. 5 which increases bean production by 10% ~ 20% , so as to apparentil pmote profits.

Key words: INA bacteria; medicine selection; Anti-frost-proof No. 5; bean; frost control by exclusion of INA bacteria

=====

(上接第 113 页)

Study on Primary Compositions of Emblic Fruits in Various Mature Period

ZHAO Hong, LI Shao-jia, TANG Li-ying

(The Research Institute of Insect Resources, Chinese Academy Forestry, Kunming 650216, China)

Abstract: The primary compositions of emblic fruits in various mature period are analyzed. According to the analysis results, the paper propose that the best processing period of emblic fruit juice is from November to February next year, and the most suitable processing period of emblic preserved fruit is after February later, by this time, the emblic fruits are thorough ripe.

Key words: primary compositions; emblic fruits; mature period; processing period