

细菌气溶胶在大气冰核化过程中作用的研究进展

杜睿*,王亚玲,梁宗敏 (中国科学院大学资源与环境学院,北京 100049)

摘要: 介绍了大气中细菌气溶胶的种类和浓度分布的变化特征,对冰核细菌促进冰核化的分子生物学机制,影响成冰活性的因素以及冰核在大气冰核化过程中作用的研究进展等做了重点介绍,对冰核细菌的生物学、分子生物学和形态学及其实际应用等方面的研究进展也做了讨论,同时也指出了今后需要进一步研究的问题,尤其是生物冰核在云和降水中作用方面的问题。

关键词: 细菌气溶胶; 冰核细菌; 冰核化

中图分类号: X513

文献标识码: A

文章编号: 1000-6923(2013)01-0030-13

Progress of research on ice nucleation active bacterial aerosols' role in atmospheric ice nucleation. DU Rui*, WANG Ya-ling, LIANG Zong-min (College of Resources and Environment, University of Chinese Academy of Science, Beijing 100049, China). *China Environmental Science*, 2013,33(1): 30~42

Abstract: It was well known that ice nucleation is one of the most basic processes that lead to precipitation. This mini-review paper focused on respects of INA bacterial aerosols: concentration and dynamic macroscopically in atmosphere; molecular mechanic progresses, properties and factors of heterogeneous ice nucleation in lab and role on precipitation. However, there is no systemic and confirmed nucleation theory basing on characteristics of micro-physiology and/or physical chemistry of INA bacteria. Moreover it had been remained to research how deeply INA bacteria nucleating works on meteorologic process.

Key words: ice nucleation activity bacteria; bacterial aerosols; ice nucleation

气溶胶作为影响气候变化的一个重要影响因素,在 IPCC 第三次评估报告中着重指出:“气溶胶-云-气候的作用关系是我们当前尚未弄清的重要问题之一”。由于气溶胶颗粒具有各种粒度,决定了它对光的不同效应,如吸收、散射或反射作用,从而对气候产生直接或间接的效应。其直接效应是通过散射和吸收太阳辐射使地球的热平衡受到影响而直接影响气候;其间接效应是对云形成的影响,成云的前提是气溶胶粒子的存在。在现代地球大气的温湿条件下,气溶胶粒子可作为云凝结核、冰核而改变云的光学特性和分布,从而影响气候。

大气生物气溶胶作为气溶胶的重要组成部分,不仅能对气候产生辐射强迫效应,而且其成核效应对气候变化的影响也越来越被重视。生物气溶胶是那些具有生命的气溶胶粒子(包括细菌、真菌、病毒等微生物粒子)和活性粒子(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^[1-2],粒径范围从几十 nm 到几个 mm。全球每年生物气溶胶(>1 μ m)排放量为 56 Tg(2000 年估计)^[2]。由于 *P.syringe* (丁香假单胞菌)所具有的高效催化成核作用,众多学科的科学家开始共同关注细菌、真菌、花粉等生物气溶胶的化学异质性对其在大气中成为云凝结核(CCN)或冰核(IN)的活性能力的影响机制和由此所产生的气候效应^[3-5]。

1 大气细菌气溶胶

细菌在空气中以气溶胶的形成存在,单个细菌的直径一般在 0.3~10 μ m 之间,与其他气溶胶成分结合组成细菌气溶胶,粒径范围 0.3~100 μ m^[6]。细菌气溶胶作为大气生物气溶胶的重要组成部分

收稿日期: 2012-05-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(40875081,41175135)

* 责任作者,副教授, ruidu@mail.iap.ac.cn

分,广泛地分布在空气中,是一类具活性并能够在养分贫乏的空气中存留或代谢可利用营养物质而生长繁殖的气溶胶粒子。

大气中细菌几乎源自地球所有的表面(包括土壤、水和植物表面),以气溶胶颗粒的形式进入大气^[7]。目前大多数的研究结果仍是采用传统的基于培养技术的研究方法,事实上利用这种方法所能观测到的空气细菌不到可检测细菌的 10%,仅占大气细菌总量的 1%^[8],而且所运用的不同的观测和分析空气细菌的研究方法之间又缺乏可比性,这也是目前大气细菌气溶胶研究的主要问题之一。

1.1 大气细菌气溶胶的分布

科学家已经在高海拔位点甚至在平流层和中间层检测到了微生物有机体的存在。例如 Rogers 等^[9]利用通过平流层下降的气球中的收集装置从平流层采集到了真菌孢子和细菌。Imshenetsky 等^[10]用气象火箭采集到了海拔 48~77km 的真菌孢子和细菌。而另外一些科研人员^[9-12]在海拔达到近 80km 高度处同样发现了可培养细菌的存在。最近 Wainwright 等^[13]和 Shivaji 等^[14]在海拔达到 41km 也检测到了可培养的细菌。

与大气细菌有关的颗粒的粒径比细菌的典型尺寸(1 μm)大得多,这可能是因为细菌细胞与更大颗粒例如土壤和碎片结合或细胞丛聚的原因^[15-16],细菌与其他颗粒的结合能保护它们免于环境压力,更有利于保持可培养性^[8]。

细菌的排放机制有主动和被动之分,即病菌携带物体(如畜舍或人类)的释放与喷发(喷嚏)和细菌库源的气象过程所引发的被动机制。后者例如风和机械扰动使得植被和土壤表面的细菌被驱动而悬浮;水体表面浪花飞溅所致的气泡膜破裂均可导致细菌气溶胶的产生和排放。不同的点源与面源(例如建筑场地和植被或水域)所排放的细菌量有显著差别。由于受限于细菌排放通量的测量技术,直接的外场原位的细菌排放通量测量非常有限。观测结果显示:陆地上空大气中细菌的平均浓度至少约在 $1\times 10^4\text{cells}/\text{m}^3$ 以上^[17],而海洋上空的平均浓度可能要比之低约 100~1000 倍,

最低的浓度仅 $10\text{cells}/\text{m}^3$ ^[18-19]。源地的细菌背景丰度和增殖速率影响细菌气溶胶的释放通量。大气中的细菌浓度依赖于细菌在不同界面间的输送量。Burrows 等^[20]根据不同类型的生态系统源细菌浓度的测量数据、细菌排放速率采用相应转换系数估算了不同生态环境大气的细菌浓度值。其中,农作物区域大气的细菌浓度值是 $1.1\times 10^5\text{cells}/\text{m}^3$ ^[21],森林的是 $5.6\times 10^4\text{cells}/\text{m}^3$ ^[19],草地的是 $1.1\times 10^5\text{cells}/\text{m}^3$ ^[21-23]。

细菌一旦进入空气,会被气流携带而上升,在大气中可停留许多天并被长距离输送,细菌粒径是影响细菌大气停留时间的关键因素。目前,“许多由细菌引发的疾病的爆发是由于致病菌在区域空气中的传播而引起的”的观点已经成为人们的共识。大气中细菌细胞的平均停留时间可达一周^[20],但是细菌在云滴中的时间只是其在大气驻留时间的一小部分,Lelieveld 等^[24]估计,细菌在对流层大气的平均停留时间占在云滴中时间的大约 5%~6%。

细菌气溶胶的清除过程与其他类型的气溶胶粒子一样是通过不同的机制,如:干沉降,被植被、陆面和水面直接吸附或吸收;湿沉降,即云下的降水过程或云内的核化过程。已有研究表明生物气溶胶(如细菌、真菌和藻类)可作为 CCN 和 IN^[4],促使过饱和和水汽凝结形成液滴或诱导过冷却水滴发生冻结形成冰晶,改变大气云的化学和物理过程,影响大气降水、大气化学和微生物地球化学循环^[25-26]。

1.2 细菌气溶胶变化特征

气象因素直接影响大气细菌的浓度和菌群的生理特性^[7]。温度直接影响细菌的代谢和繁殖速率以及可培养性,可培养的细菌和细菌总浓度与大气温度成正相关^[15,21,27],但 Rosas 等^[28]在 Mexico 城的研究却发现可培养细菌浓度与温度的日变化幅度有关,而与温度本身并不相关,而且(干、湿)季节的变化对细菌浓度的影响比当地温度的逐日变化更为显著。相对湿度对大气细菌浓度的影响及相关关系并不确定^[27-29]。降水过程一方面对空气微生物具有冲刷和净化的作用,明显降低空气中细菌粒子的浓度,另一方面可能改善

土壤和植被温湿条件而促进源细菌生长,从而增加大气中细菌气溶胶浓度和净沉降通量^[30-31]。

大气中细菌气溶胶浓度具有明显的日变化和季节变化特征.可培养细菌的浓度遵循典型日循环特征:早晨和夜晚浓度最高^[22,32-33].陆地位点细菌通量的日变化研究也发现净向上的通量在一天最暖和的时段达到了最大值^[31,33-35].许多学者^[15,21,28,36-38]研究细菌气溶胶浓度的季节变化,发现一般在冬季其平均浓度最低,而夏季最高.研究表明,大气中可培养的细菌浓度长期的平均浓度随季节和测量位点的变化而变化^[16].由于大气恶劣条件的胁迫使细菌渐渐失去可培养性,可培养细菌计数法对新排放的细菌最敏感.在一天的最暖和的时段,细菌的排放速率达到峰值,新鲜排放的细菌比例和细菌总数中可培养比例也同时达到峰值^[34]。

细菌浓度随大气高度的增加而减少,不同的高度其细菌浓度变异较大.Fulton 等^[39]在 Texas 上空对流层中 3 个高度,连续 30h 观测细菌浓度时发现,海拔 3127m 大气细菌浓度最低,1600m 的浓度大约比 690m 低 1 个数量级,在 690m 可培养细菌细胞浓度的变异比其他高度都要大.大气细菌垂直分布是否有分层现象目前尚未有明确的研究结论^[40]。

1.3 细菌气溶胶的识别和分析方法

细菌气溶胶含有某些特定对象细菌及其他无机或有机物质,细菌气溶胶识别以鉴别某些类细菌为目的.采用撞击式、离心涡旋法和静电场沉降等方法采集到膜上或选择性培养基上的细菌气溶胶,可以通过微生物培养^[17,25]、显微镜(SEM/TEM)观测形态、免疫测试等鉴别微生物或检测病理学特征.例如 Womiloju 等^[41]用常规相液体层析/电喷射离子化串联质谱仪器分析室外空气中真菌和花粉磷脂结构;Hairston 等^[42]组合了空气动力学颗粒测试和流式血细胞计数仪建立一套新装置,基于颗粒空气动力学直径和激发 250nm 并放射 420~580nm 的固有荧光特性来表征颗粒特性.将气溶胶转化为水溶胶也可对化学成分进行气相、液相色谱分析测定.测定三磷酸腺苷(ATP)水平可以表征特殊环境例如云中微

生物生存能力^[43].采用 ELISA 蛋白质分析技术定量过敏源及其他有害生物物质.荧光显微技术是通过荧光染料对 DNA 特异性计数含 DNA 的细胞数量,同时结合颗粒的粒径和形态来识别生物成分^[21],并用计算机分析显微图片和荧光光谱技术提供自动化^[44-45].用飞行时间质谱分析(TOF)^[46-47]和激光诱导荧光或 Raman 光谱检测特定微生物种类技术也已成熟.定量聚合酶链式反应(Q-PCR)能够在基因水平上鉴定细胞生物气溶胶颗粒,同时计数每一微生物的细胞数,从而来描述大气中细菌的生物多样性^[48-49]。

2 冰核细菌气溶胶

1957 年法国气象学家 Soulagé^[50]在云室实验测试中首次发现了霉菌孢子可以成为冰晶的核心,Fresh^[51]从腐烂的薄叶桤木(*Alnus tenuifolia* Nutt.)叶上分离到一种冰核活性很强(-2.5~-5℃)的细菌,经鉴定属于 *Pseudomonas*(假单胞菌)属^[52],Schell 等^[53-54]也撰文指出了有部分的大气冰核可能是由生物产生的,Maki^[52]也分离到了具有冰核活性的细菌 *Pseudomonas syringae*,确定是一种植物病原菌,而且陆续从山杨、柳树、和枫树的叶子中,高山的湖水中,溪流和雪水中都分离出来了产生冰核的微生物,从而将冰核活性细菌(简称 INA 细菌或冰核细菌)定义为“可以在-10℃以上较温暖的温度条件下催化液滴产生冰核的细菌^[55]”。从此,生物冰核尤其是冰核细菌开始成为一个研究领域,许多国家不同学科研究者开展了深入的基础理论和应用研究,在生物冰核的种类、影响成冰活性的因素、冰核细菌的生物学、形态学和分子生物学及其应用等方面取得了较大的进展^[56]。

2.1 冰核细菌的研究概况

在数以千计的与植物有关的已知细菌菌种中,目前普遍被认为具有高效冰核核化能力的细菌仅为 6 种,这些冰核细菌全是 Gram 阴性细菌^[57-58],分别是假单胞菌属(*Pseudomonas*)、欧文氏菌属(*Erwinia*)和黄单胞菌属(*Xanthomonas*).它们也是植物的致病菌或寄生物,其中最主要的是 *Pseudomonas syringae*(*P.syringae*) 和 *Erwinia*

herbicola(*E. herbicola*), 是广泛分布在世界各地的植物附生细菌^[52,59-60]. 而 *P. syringae* 则被公认为是冰核活性最强的菌种^[61-63], 研究发现它可在 -2°C 冻结^[52].

孙福在等^[64]一批我国的科研人员自 20 世纪 80 年开始, 从国内各地的 68 种植物上分离到 250 株 INA 细菌, 分离出了 20 个种或致病变种的冰核细菌分别是上述 3 属. 我国 INA 细菌的优势种是 *P. syringae* 和 *E. ananas*. *P. syringae* 在我国也是分布最广和冰核活性最强的 INA 细菌.

由于冰核细菌的冰核活性和冻结温度在相对较大范围内随机变化, 在已知的冰核细菌种的细胞菌群中, 其核化活性温度范围在 -2°C 和 -14°C . Yankofsk 等^[65]曾依据冻结温度将冰核细菌分为 3 种类型: 一型冰核细菌(Type I), 在 $-5\sim-2^{\circ}\text{C}$ 有冰核活性, 此类冰核细菌活性是最强的; 二型冰核细菌(Type II), 在 $-7\sim-5^{\circ}\text{C}$ 有冰核活性; 三型冰核细菌(Type III), 在 $-10\sim-7^{\circ}\text{C}$ 有活性, 冰核活性最弱的. 孙福在等^[66]根据在 -3°C 时产生一个冰核所需的细菌浓度数将细菌的冰核活性划分为 4 个等级: 特强(10^2 细菌/冰核); 强($10^3\sim10^4$ 细菌/冰核); 中($10^5\sim10^6$ 细菌/冰核); 弱(10^7 以上细菌/冰核). 而 Turner 所划分的 3 种冰核的活性温度范围, 分别是 -4.4°C 以上, $-4.8\sim-5.7^{\circ}\text{C}$ 和 -7.6°C 以下^[67].

Douglas 等^[68]研究发现: 细菌的生长温度对核化率有影响, 但是不同温度下核化率的差异在高温范围很明显, 而低温范围的差异不大, 他认为: 是低温时活性冰核响应了核化蛋白的数量, 而高温时响应了冰核蛋白聚集体的数量. 当通过某种标准化方法消去蛋白差异背景时, 发现低温范围核化率也是有差异的, 这可能是由于细胞菌群中所出现的冰核的总数量不同. Michele 等^[69]研究表明: 生长在植物表面的这些细菌冰核化特性的显现可能受营养限制和低温条件刺激不生长的细胞中的基因表达所制约. 低温转换诱导基因表达所产生的一型冰核从 2~3h 时间内 1 个冰核/ 10^7 cells (也就是不能测到) 到 1 个冰核/cell, 而恢复到高温时一型冰核则完全消失. Fall 等发现: 磷饥饿和低温暴露能引发 *Erwinia herbicola* 培养物中冰核的表达; 氮硫磷和铁离子的饥饿作用要

小些^[70]. 有 2 种细菌在最优条件培养时, 实际上所有的细胞产生了在 -10°C 或更暖和的温度条件时有活性的冰核, 在 1h 的低温转换内平均 22% 含一型冰核. 通过往培养介质中添加脂肪酸、植物油脂或硅酮油降低水活性, 可以优化 *P. syringae* 的冰核活性^[71]. 国内学者也对冰核细菌的培养条件做了很多研究, 并发表了有关培养条件对冰核活性的影响文献综述^[72-73].

由于 Lindow 等^[74-75]在田间观测和实验室研究中认为冰核细菌是诱发和加重霜冻敏感作物霜冻的主要因素. 更多科学家开始关注冰核细菌的冰核活性产生的机制. *P. syringae* 作为冰核细菌的模式菌, 随着分子生物学技术的迅速发展, 自 20 世纪 80 年代中期科学家们运用分子生物学技术对 *P. syringae* 的高效冰核活性的机理进行了深入的研究. Orser 等^[76]1985 年通过克隆技术, 将 *P. syringae* 的高效冰核活性在大肠杆菌中得到表达, 从而明确了冰核细菌的催化核化特性的基础是冰核基因表达的冰核蛋白的存在所致. 冰核蛋白是一种附着于细菌细胞膜上的糖脂蛋白复合物. 在已发现的冰核细菌中, 其成冰基因多数已被克隆到大肠杆菌(*Escherichia coli*)并可大量表达, 而且所克隆的基因赋予了宿主和原菌株相同的成冰核活性. 基因 DNA 测序分析结果也显示: 冰核细菌的冰核基因是同源基因单基因 *inaZ*. 其所编码的冰核蛋白结构保守, 其氨基末端和羧基末端各具有独特的序列区(分别占总序列的 15% 和 4%), 蛋白的其余部分有一中央串联重复结构组成, 重复结构具有 8, 16 及 48 氨基酸序列重复. 冰核蛋白的这种重复可能是促使水分子排列成冰网格发生核化的模板^[77].

冰核基因长度较小, 常在 4.0~7.5kb 左右, 所编码的冰核蛋白单体的大小为 120KD. 冰核基因编码的冰蛋白成冰活性比较弱, 必须通过脂碳水化合物等共价修饰装后, 才可配成成冰活性较强的冰核. 在 -2°C 有活性的冰核蛋白其大小在 19000KD 左右, -12°C 有活性的冰核蛋白其大小在 150KD, 因此冰核基因所编码的冰核蛋白必须经过修饰组装, 形成复合物, 才能有强的冰核活性. 冰核蛋白 N-末端结构域较为疏水, 可与磷脂脂

类结合,可能是与细菌膜结合的位点,其特有的结构域的缺失可导致成冰核活性的降低;而 C-末端结构域相对亲水,在二级结构中可能与水分子结合而形成冰晶,其特有结构域的缺失则导致成冰活性的完全丧失^[77-78].Kozoloff 等^[79]提出 C → B → A 级冰核的结构模型:A 级结构是活性最强的冰核,其可能由 3 种成分构成,冰蛋白和碳水化合物(可能为葡萄糖苷或甘露糖苷)以及磷酸酯^[67,79-81].Christopher 等^[82]预测 *P. borealis* 产生的冰核蛋白(INP)新的 β-螺旋折叠结构是冰核蛋白研究中的一大最新进展:在冰核蛋白结构中,丝氨酸和谷氨酸盐做阶梯,埋藏了暴露在溶剂中的酪氨酸梯形,产生了与二聚体界面结合紧密的疏水接触端.*PbINP* 也能以形成二聚体的方式形成多聚体,解释了 INP 活性与蛋白聚集体的关系.*PbINP* 结构的两面都有串联成组的氨基酸,氨基酸可以把水分子组织成晶格结构.二聚体的形成,宽度加倍,长度增加,并且使蛋白两面都呈现水分子容易连接的成冰表面,从而极大增加了冰核蛋白的表面活性,这使得冰核蛋白表面一线排列了充足的与水分子结合的晶格位点,利于核化冻结.*PbINP* 与已知的细菌冰核蛋白很相似,因此另外的 INPs 可能具有类似 *PbINP* 的折叠结构和作用机制.在分子生物学的研究成果的基础上,研究人员利用遗传工程技术,将冰核基因进行推广和应用研究^[83].

2.2 冰核细菌的应用研究

应用主要表现在以下几个方面,人工降雪(冷冻剂添加定量研究)、食品浓缩与冷冻、促冻杀虫.利用冰核活性检测方便灵敏等优点,冰核基因作为报告基因和高敏检测手段已得到成功的应用^[64,83-85],例如把一个铁离子调节探针转录整合到冰核报告基因 *inaZ* 中,通过评估原位的含有转录整合基因的 *pvd-inaZ* 的荧光假单胞菌 *P. fluorescens* Pf-5 表达的冰核活性来估计体系中铁离子的生物可利用性^[86].如用细菌冰核基因转导的噬菌体检测蛋、乳、肉类等食品和水中对人和动物治病的沙门氏菌,用非冰核活性微生物或把非冰核活性基因转导对抗活性细菌来防霜害^[87-89].应用冰核蛋白尤其是氮黏性末

端作为细胞表面锚定系统增加碳酸酐酶^[90]或有机磷水解酶^[91]的稳定性,使得相应酶功能发挥更高效;用冰核蛋白作为对细胞膜的紧密结合性建立木糖脱氢酶显示系统检测 D-木糖的选择性和敏感性^[92].我国正在进行冰核基因的克隆技术研究,冰核细菌的发酵工艺、浓缩干燥技术、生物冰核在降雪、制冷和食品冷冻保鲜等方面的应用研究^[56,93].

自生物冰核首先被气象学家发现至今,近 50 年来,仅有美国 Wornerpel 等人利用冰核细菌高冰核活性的特性,将冰核细菌 *P. syringae* 成功制成人工降雪催化剂并于 1980 年获得美国专利,1985 年由美国 Advanced Genetic Sciences 公司将其商品化推广应用到人工降雪和人工影响天气方面^[95].因 1994 年加拿大冬奥会上 Snowmax 被首次使用而成功地进行人工降雪后,冰核细菌 Snowmax 被更广泛地应用于南北美洲、澳大利亚、新西兰、日本和欧洲等地的滑雪场,市场前景十分广阔.目前我国也已掌握了利用冰核细菌进行人工降雪催化技术并进入应用阶段.纵观冰核细菌的整个研究发展过程,相关的主流研究远远的偏离了大气科学,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^[3-5,96].

3 冰核细菌在大气异质核化过程中的作用研究

3.1 大气冰核的核化机制

云层中水汽凝结形成云滴(暖云中水滴和冷云中水滴冰晶混合相)在上升气流顶托下漂浮空中,粒径大约 10 μm;降水粒子的尺度大约是云滴的 100 倍,浓度仅为云滴的百万分之一,云滴要经历一系列复杂的微物理过程增长.当前关于冰核核化机制的理论主要有同质核化作用与异质核化作用.同质核化过程中,水汽以几个水分子集合体为中心聚集成液体(凝结)或固体(凝华),或者以过冷却水中的水分子集合体为中心形成冰晶(冻结);把这些微小的水分子集合体看成核,则将这种无异质核存在时的核化现象称为自发核化或同质核化.而异质核化则是有异质核存在时的核

化现象.在实际大气中,由于悬浮的气溶胶粒子无处不在,可以在适宜的温度下成为冰核.它是过冷水滴或水汽冻结或凝华形成初始冰晶胚胎的载体核和引物,由其作为成核剂为冰的形成提供模板,因此与同质核化作用温度接近 -40°C 左右或300%的过饱和度下才可发生的苛刻条件^[97-98]相比,异质成核作用需要较少的水分子和较低的自由能,所以其水的冻结温度也就相应提高^[57].异质核化的成核模式主要包括:水汽在冰核表面直接凝华成冰,所谓凝华模式(或沉积模式);冰核对水汽的吸附使之在其表面凝结后冻结成冰,所谓凝冻模式(或吸附模式);冰核嵌入过冷水滴内使其变成冰粒子,所谓冻结模式(或浸润模式);冰核与过冷水滴碰撞而形成冰粒子,所谓接触模式.对应于4种不同的成冰机制的冰核可分别称为凝华核、吸附核、浸润核和接触核.同种物质的冰核可以具有不同模式成冰^[99].凝华核化在冰面过饱和条件下即能进行,但所需克服的势垒最大,所以在同样温度条件下凝华核化要求的粒子比冻结核化的大.冰核与过冷却水接触过程导致水滴冻结的接触核化作用,接触核冰核活性最高,冰核先形成水滴而后冻结的浸润核作用,也就是凝冻模式,在当前的冰核实验研究被较多的关注^[100].

相关的冰核化理论认为,低水溶性、冰核表面氢键的可利用性、冰晶相的结构、冰核粒径、冰核表面的活性位点(水分子被优先吸附)等因素均影响颗粒的核化过程^[57,100].但目前有关上述冰核化过程参数的研究较多是理论模式的推导和解释而相关的实验研究尤其是定量的实验研究无论是实验室室内还是外场观测研究都比较欠缺,而且存在着较大的不确定性.Turnbull等^[101]用异质核化的自由能(或活化能)(ΔG_{nuc})来描述冰核的核化过程.云模型计算表明,混合相云中异质冰核化的大部分是凝华/浸润模式^[102-103].CAM-Oslo 计算结果认为,85%以上的异质冰核化是通过浸润模式冻结的^[104].大的亲水性的生物颗粒物尤其可能以浸润核核化.而凝华核和接触核的作用模式也是当前科学家重点讨论的核化过程,这些过程需要存在裂隙非活性

颗粒,因此黑炭和矿物质灰尘颗粒可能便于这些核化模式,而这些物质的参与将可能降低生物颗粒在此核化过程中的作用.而上述4种模式只是冰核异质核化的一级机制,冰晶的形态学研究进一步阐释了其二级机制,这包括冰晶相态转变过程中形态特性和晶体与非晶体结构和吸湿潮解的过程^[105].

3.2 冰核核化的实验研究

由于冰核是形成冰晶的重要条件之一,冰晶在冷云降水中对水相变起催化作用,而且大气冰核在各种天气过程中的影响与云凝结核具有同等的重要性,其浓度除对冰云的微结构和云中降水过程有重要影响外,还可能对云的辐射特征产生影响进而影响天气气候过程^[106].因此对大气冰核的观测分析,是研究自然冷云降水和人工影响天气的重要基础工作.

测量一定温度下的大气冰核的数量和浓度的方法主要有:(1)微孔滤膜法,采用抽气法将一定体积的空气通过一个具有微孔的滤膜,使空气中的质粒被截留在滤膜上,再将该滤膜放到保持一定温度和过饱和度的箱内,使滤膜上的冰核活化增长,从而观察计算所增长的冰晶数,即可获得冰核的数量和浓度.但是不同的活化显现技术使活化的冰核数量差异较大从而导致滤膜法所测得冰核浓度较比其他方法所测结果相差较大,甚至可达数个量级.(2)云室法,在云室中抽入已知体积的空气,使其冷却直至出现云.然后测量一定温度下云中所形成的冰晶数^[107-108].在一定空间的云室可模拟云雾条件下而进行不同云物理实验研究,容积有大有小.通常容积为立方米以上的大体积云室是固定的,可用于进行多种云物理实验研究;容积为几到几十升的小型混合云室主要用于外场自然冰核观测,也可进行播云催化剂成冰性能的检测.云室出入气流和相关调控的参数指标变化的状态分为静态云室如科罗拉多州立大学的等温云室(CSU-cloud chamber)和动态云室如德国 Forschungszentrum Karlsruhe 的 AIDA 云室.根据云室造雾的温度,可分为暖云室(云温度高于 0°C)和冷云室(云温度低于 0°C);而根据云室造雾的方法,可分为膨胀型、扩散型、恒温型

和混合型云室等几种.在云室内常见的云雾生成方法有:绝热膨胀冷却、使水汽达饱和而凝结成云雾滴;降冷云室壁,导致云室内降湿达饱和而凝结出云雾滴;直接向云室内喷射微小水滴,形成云雾;使云室内达到过饱和而产生凝结.(3)Vali 建立的液滴冷台实验技术^[109],通过测定浸润核液滴的冻结温度的高低判断冰核的活性强弱.由于实验仪器和条件要求相对简单易行,一直被科研人员采用并被不断地改进,在对于生物冰核活性的甄别与判断的试验研究中,液滴冷台实验技术是被最为广泛使用的研究方法之一^[52,65,110].(4)管测试冰核活性方法,也是一种装置比较简单的方法,原理类似液滴冷台实验技术.待测样品碎屑被丢进一个含有 2mL 的无菌去离子水的小测试管,测试管放置在 -5.0°C 循环水浴冰箱中使得去离子水保持过冷却状态,而且在 -10.0°C 测试 1h 没有冰核产生.10min 内管中碎屑样品冻结则记为 INA^+ .也可以把管和管中待测样品回暖到室温,20min 后再放回水浴持续 20min,然后冷却到 0°C ,随后以 $0.1^{\circ}\text{C}/\text{min}$ 降温到 -10.0°C ,记录样品冻结的温度.这种方法简单易行,例如在 Nejad 等^[111]冻结温度测试中使用.(5)差示扫描量热仪法(DSC),这种方法特别的是检测仪器部分,以热量变化作为信号参数,冰核活性就可以用微分热量扫描法,通过实时检测核化相变中潜热变化,建立冰核密度与核化动力学能量间的定量关系.这种方法也被许多学者用于科学研究中^[112-117],例如 Zobrist 等^[118]用冻-融-冻二个循环控温过程测定发现二元羧酸(苯二甲酸、己二酸、反丁烯二酸、丁二酸和乙二酸)中只有乙二酸且以乙二酸水合物形式作为乳状溶液(如水、NaCl、 $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 、 NH_4HSO_4 、 H_2SO_4 、 $\text{H}_2\text{SO}_4/\text{NH}_4\text{HSO}_4$)的异质冰核.而且在医学、物理化学、分子生物学等领域有广泛应用.

3.3 细菌气溶胶异质核化活性的研究

科学家推测由于冰核细菌所具有的高效冰核活性,使其在大气云中的异质核化作用可能对大气降水过程产生重要意义.

对于细菌冰核的活性测定与鉴别,最初 Maki 等^[52]和 Vali 等^[110]利用液滴冷台冻结实验技术发

现并鉴别出了 *P.syringae* 类细菌品种所具有的特殊冰核的活性,发现可在 $-2\sim-4^{\circ}\text{C}$ 使液滴冻结,随后许多科学家利用此方法筛选和鉴别出新的冰核细菌、冰核真菌等生物冰核,Yankofsk 等^[65]也是利用此技术将冰核细菌划分为著名的 3 型活性等级的冰核菌. Levin 等^[119]利用位于洛杉矶的加利福尼亚州立大学的垂直风洞测试研究了冰核细菌作为浸润核和接触核,其粒径为 $220\sim360\mu\text{m}$ 液滴的核化活性,结果发现冰核细菌以接触核的活性要高于浸润核的活性,冻结温度在 $-3\sim-9^{\circ}\text{C}$ 之间.1989 年 Ward 等^[91]则是利用科罗拉多州立大学的等温云室(CSU-cloud chamber)测试了冰核细菌 Snowmax 的核化活性,从而确认其在人工影响天气尤其是人工造雪方面的重要作用.此后,对于生物冰核的测试研究开始尝试采用可以模拟大气云雾条件的云室法来更真实的模拟测试生物冰核的异质核化特性^[120-121].德国的 Boundke 博士和他的同事最近研制出了一种新型的可以监测大气生物冰核的快速监测仪器^[122],尽管该仪器的各项性能指标目前还有待进一步的验证和完善,但其为今后大气生物冰核与云凝结核的数量浓度和粒径大小的现场及时直接观测提供了一个良好的开端.

有些细菌也能成为 CCN 而且确实在云中观测到了细菌形成 CCN 的过程^[25-26]. Morris 等^[3]提出 *P.syringae* 等冰核细菌在大气降水过程中具有重要的潜在作用.空气微生物可以利用大气中 DCA 作为可得营养物质生长代谢,使得有机气溶胶有效转化而改变大气化学特性^[123].而且这种转化过程也并非只是代谢过程,例如生物表面的分子吸附^[124],由于细胞溶破致使的化学释放和碰撞联合过程等可以驱动多孔表面的吸附和解吸,从而改变大气气相和特殊物质的化学组成. Amato 等^[125]从云中分离到 128 种微生物,其中细菌种有 71 种;在测试的 20 种细菌中有 11 种(55%)能在接近自然大气环境(i.e. 5°C)中生长代谢. Morris 等^[126]进一步通过不同地点的水样品中细菌种群组成分析阐释了 *P. syringae* 与水循环的相互关系,他们提出假设模型,认为水的环境循环过程推动了细菌生活史的循环:农业生态系统

土壤或植物表面的冰核细菌通过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。

有研究人员发现:在分离所采集的样品中所能分离鉴定的细菌中并未发现上述具有的特殊冰核活性的特定冰核细菌(如 *P. syringae*)的存在^[127-128],而 Bowers 等^[129]通过测试实验也发现:所研究的主要冰核细菌的浓度的变化与-10℃温度时有效冰核的浓度之间并不存在相关性。Lannone 等^[130]通过多次室内模拟实验发现:在大气中分布最为丰富的一类真菌 *Cladosporium* 的孢子并不具备有效冰核活性,其冻结温度仅分布在-25~-35℃范围内。而本课题组在利用液滴冷台实验方法检测冰核细菌 *P. syringae* pv. *lachrymans* 的冰核活性时也发现,其菌悬液浓度低于 10^5 cells/mL 后,液滴的冻结温度会显著降低,而当菌悬液浓度在 $10^2 \sim 10^3$ cell/mL 时,其液滴冻结温度与对照的超纯水的液滴冻结温度没有显著差别,并未显示冰核活性。

Hoose 等^[104]研究了全球尺度上云中生物冰核化的意义,对原生生物气溶胶颗粒(PBAP)冰核化能力做最优条件假设模拟时,冰核化 PBAPs 仅仅贡献 0.00001%(矿物质灰尘主导全球总浸入冻结的 88%,煤烟 12%).PBAPs 的冻结其中细菌 11%,真菌孢子 1%,花粉 88%。但是在 PBAP-MAX 模拟中,PBAP 对全球总浸润冻结的贡献升至 0.6%(其中细菌 98%,真菌孢子 2%)。这个估计值上限是由某些区域暖和的低对流层较高 PBAP 浓度得到的,而利用实际观测生物 IN 浓度模型运行结果只有 0.00001%,实际情况下生物 IN 对大气冰形成的作用微乎其微,降水中的确存在生物冰核,但是 PBAPs 在全球云冰核化和降水形成中的作用大小值得怀疑。如果足够高的生物 IN 浓度(显著高于模拟假设的),PBAP 是可以引起云在更暖和的温度和更低海拔的结冰作用。Diehl 等^[131]用非绝热气块模型模拟对流云条件,输入参数是

观测的颗粒粒径及最大核化率以及云水和雪样品中细菌浓度数值,结果表明这些少量细菌对对流云中浸润冻结冰形成的影响,比无机灰尘颗粒作用小得多,仅与煤烟冰核作用相当,细菌冰核必须在现有云水中浓度基础上富集 10^4 倍才能与云滴中只占 20~25%无机灰尘冰核的影响相当。Mohler 等^[132]认为模拟的生物颗粒对全球气候变化的影响微乎其微,可能是因为生物颗粒浓度很低,或者它们较高的核化能力根本与随后的云滴增长无关,云滴的增长更可能是由核化能力不如生物颗粒的,在-5~-10℃进行核化的冰核所主导的,因为大气条件达到冰面饱和和后期阶段冰增长很快从而极大影响了云特性。因此生物冰核在气象过程中作用研究存在许多不确定性,还需要更广泛和深入的研究与探索。

4 展望

目前已有的相互矛盾的研究结果,充分表明当前对于生物气溶胶在大气中的气候效应了解的知识是极为有限的,还存在着许多的不确定性,科学界尚存在许多关于生物冰核在云和降水中的作用的未解问题,以下这些科学问题需要更进一步研究来证实和丰富。

(1) 在温暖条件下有活性而能影响云的特性和降水过程,细菌冰核可能是唯一的生物冰核吗?

(2) 由于目前大气实际观测中并没有显著的冰核活性细菌,或者由于菌株的多样性和很低的细菌种群数量,又如何解释在相对较高温度下的冰核化机制?

(3) 如何鉴别已发现的生物冰核种和新种,怎样直接测量混合相云中的生物冰核数浓度的空间分布?

(4) 怎样确定导致大气活性生物冰核的数浓度方差增大的环境因子的影响程度和影响机制?

探求解释这些科学问题需要各学科间的交叉综合方法,包括微生物学,气象学和大气物理学与化学。同样,深入的外场观测试验和实验室研究对大气和微生物学家之间的合作研究有着重要

的促进作用,现阶段使用该领域先进的知识和分析测试方法,定量测定冰核在大气中的数浓度是十分迫切的.鉴于冰相在降水过程中所起的重要作用,冰核核化性能和机制过程一直是大气云和降水物理过程的重要研究方向,尤其是在人工影响天气方面,筛选有效核化剂也一直是重要的科研课题.但在应用新知识和检测方法来理解生物冰核和非生物冰核在降水和云的相关特性中的作用的同时,则更需要完善而更切实际的描述云和气象的模型来共同研究大气冰核的异质核化问题.

参考文献:

- [1] Burge H A. Bioaerosols [M]. Boca Raton(FL): Lewis Publisher, 1995:7.
- [2] Jaenicke R. Abundance of cellular material and proteins in the atmosphere [J]. Science, 2005,308:73.
- [3] Morris C E, Georgakopoulos D G, Sands D C. Ice nucleation active bacteria and their potential role in precipitation [J]. Phys., 2004,121:87-103.
- [4] Sun J, Ariya P A. Atmospheric organic and bio-aerosols as cloud condensation nuclei (CCN): a review [J]. Atmos. Environ., 2006, 40:795-820.
- [5] DeMott P J and Prenni A J. New directions: need for defining the numbers and sources of biological aerosols acting as ice nuclei [J]. Atmos. Environ., 2010,44:1944-1945.
- [6] Agranovski V, Rirtovski Z D. Real-time monitoring of viable bioaerosols: capability of the UVAPS to predict the amount of individual microorganisms in aerosol particle [J]. Aerosol Sci., 2005,36:665-676.
- [7] Jones A M, Harrison R M. The effects of meteorological factors on atmospheric bio-aerosol concentrations — A review [J]. Sci. Total Environ., 2004,326:151-180.
- [8] Lighthart B. Mini-review of the concentration variations found in the al fresco atmospheric bacterial populations [J]. Aerobiologia, 2000,16:7-16.
- [9] Rogers L A, Meier F C. The collection of microorganisms above 36000 feet [J]. Nat.Geo.Soc.Strat. Ser.2, 1936,146-151.
- [10] Imshenetsky A, Lysenko S, Kazakov G. Upper boundary of the biosphere [J]. Appl. Environ. Microb., 1978,35:1-5.
- [11] Meier F C. Collecting microorganisms from the Arctic atmosphere [J]. Sci. Monthly, 1935,40:5-20.
- [12] Timmons D, Fulton J, Mitchell R. Microorganisms of the upper atmosphere instrumentation for isokinetic air sampling at altitude [J]. Appl. Environ. Microb., 1966,14:229-231.
- [13] Wainwright M, Wickramasinghe N, Narlikar J, et al. Microorganisms cultured from stratospheric air samples obtained at 41 km [J]. FEMS Microbiol. Lett., 2003,218:161-165.
- [14] Shivaji S, Chaturvedi P, Suresh K, et al. Bacillus aerius sp.nov., Bacillus aerophilus sp. nov., Bacillus stratosphericus sp.nov. and Bacillus altitudinis sp. nov., isolated from cryogenic tubes used for collecting air samples from high altitudes [J]. Int. J.Syst. Evol. Micr., 2006,56,1465, doi:10.1099/ijs.0.64029-0.
- [15] Bovallius, A, B B R Roffey, P Anas. Three-year investigation of the natural airborne bacterial flora at four localities in Sweden [J]. Appl. Environ. Microbiol., 1978,35:847-852.
- [16] Lighthart B. The ecology of bacteria in the al fresco atmosphere [J]. FEMS Microbiol. Ecol., 1997,23:263-274.
- [17] Bauer H, Kasper-Giebl A, Loflund M, et al. The contribution of bacteria and fungal spores to the organic carbon content of cloud water, precipitation and aerosols [J]. Atmos. Res., 2002,64:109-119.
- [18] Prospero J, Blades E, Mathison G, et al. Interhemispheric transport of viable fungi and bacteria from Africa to the Caribbean with soil dust [J]. Aerobiologia, 2005,21:1-19.
- [19] Griffin D, Westphal D, Gray M. Airborne microorganisms in the African desert dust corridor over the mid-Atlantic ridge, ocean drilling program, Leg 209 [J]. Aerobiologia, 2006,22:211-226.
- [20] Burrows S M, W Elbert, M G Lawrence, et al. Bacteria in the global atmosphere part 1: review and synthesis of literature data for different ecosystems [J]. Atmos. Chem. Phys., 2009,9:9263-9280.
- [21] Harrison R, Jones A, Biggins P, et al. Climate factors influencing bacterial count in background air samples [J]. Int. J. Biometeorol., 2005, 49:167-178.
- [22] Tong Y, Lighthart B. Diurnal distribution of total and culturable atmospheric bacteria at a rural site [J]. Aerosol Sci. Tech., 1999,30:246-254.
- [23] Tilley R, Eamus D, Ho J. Background bio-aerosols and aerosols at two sites in northern Australia: Preliminary measurements [R]. Australia, Melbourne, Vic.: DSTO Aeronautical and Maritime Research Laboratory, 2001.
- [24] Lelieveld J, Heintzenberg J. Sulfate cooling effect on climate through in-cloud oxidation of anthropogenic SO₂ [J]. Science, 1992,258:117-120.
- [25] Bauer H, Giebl H, Hitznerberger R, et al. Airborne bacteria as cloud condensation nuclei [J]. J. Geophys. Res., 2003,108: AAC2/1-AAC2/5.
- [26] Franc G D, Demott P J. Cloud activation of airborne *Erwinia carotovora* cells [J]. J. Appl. Meteor., 1998,37:1293-1300.
- [27] Lighthart B, Shaffer B T, Frisch A S, et al. Meteorological variables associated with population density of culturable

- atmospheric bacteria at a summer site in the Mid-Willamette River Valley, Oregon [R]. Tech. rep., U.S. Army Edgewood Chemical Biological Center, Aberdeen Proving Ground, Maryland, USA, 2004.
- [28] Rosas I, Yela A, Santos-Burgoa C. Occurrence of airborne enteric bacteria in Mexico City [J]. *Aerobiologia*, 1994,10:39–45.
- [29] Mouli P, Mohan S, Reddy S. Assessment of microbial (bacteria) concentrations of ambient air at semi-arid urban region: Influence of meteorological factors [J]. *Appl. Ecol. Environ. Res.*, 2005,3: 139–149.
- [30] Constantinidou H A, Hirano S S, Baker L S, et al. Atmospheric dispersal of ice nucleation-active bacteria: The role of rain [J]. *Phytopathology*, 1990,80: 934–937.
- [31] Lindemann J, Upper C D. Aerial dispersal of epiphytic bacteria over bean plants [J]. *Appl. Environ. Microb.*, 1985,50:1229.
- [32] Gregory P. The microbiology of the atmosphere [M]. Leonard Hill Aylesbury, UK, 1973:7–214.
- [33] Lighthart B, Kirilenko A. Simulation of summer-time diurnal bacterial dynamics in the atmospheric surface layer-experiments, topography, and winds [J]. *Atmos. Environ.*, 1998,32:2491–2496.
- [34] Lighthart B, Shaffer B T. Bacterial flux from chaparral into the atmosphere in mid-summer at a high desert location [J]. *Atmos. Environ.*, 1994,28, 1267–1274.
- [35] Chen M, Jin L, Sun Z, et al. Concentration and flux of bioaerosol and environmental factors [J]. *Prog. Nat. Sci.*, 2001, 11: 681–687.
- [36] Pady S and Kelly C. Aerobiological studies of fungi and bacteria over the Atlantic Ocean [J]. *Can. J. Botany*, 1954,32:202–212.
- [37] di Giorgio C, Krempff A, Guiraud H, et al. Atmospheric pollution by airborne microorganisms in the city of Marseilles [J]. *Atmos. Environ.*, 1996,30:155–160.
- [38] Borodulin A, Safatov A, Belan B, et al. Measurement errors in determining tropospheric bioaerosol concentrations in the southern region of Western Siberia [J]. *Doklady Biolog. Sciences*, 2005,403:260–262.
- [39] Fulton J D, Mitchell R B. Microorganisms of the upper atmosphere. II. Microorganisms in two types of air masses at 690 meters over a city [J]. *Appl. Microbiol.*, 1966,14:232–236.
- [40] Andreeva I, Borodulin A, Buryak G, et al. Biogenic Component of Atmospheric Aerosol in the South of West Siberia [J]. *Chem. Sust. Dev.*, 2002,10:523–537.
- [41] Womiloju T O, Miller J D, Mayer P M, et al. Methods to determine the biological composition of particulate matter collected from outdoor air [J]. *Atmos. Environ.*, 2003,37:4335–4344.
- [42] Hairston P P, Ho J, Quant F R. Design of an instrument for real-time detection of bioaerosols using simultaneous measurement of particle aerodynamic size and intrinsic fluorescence. *J. Aerosol. Sci.*, 1997,28:471–482.
- [43] Amato P, M'énager M, Sancelme M, et al. Microbial population in cloud water at the Puy de Dôme: implications for the chemistry of clouds [J]. *Atmos. Environ.*, 2005,39:4143–4153.
- [44] Carrera M, Kesavan J, Zandomeni R, et al. Method to determine the number of bacterial spores within aerosol particles. *Aerosol. Sci. Tech.*, 2005,39:960–965.
- [45] Courvoisier F, Bonacina L, Boutou V, et al. Identification of biological microparticles using ultrafast depletion spectroscopy [J]. *Faraday Discuss.*, 2008,137:37–49.
- [46] Czerwieniec G A, Russell S C, Lebrilla C B, et al. Improved sensitivity and mass range in time-of-flight bioaerosol mass spectrometry using an electrostatic ion guide [J]. *Am. Soc. Mass Spectrom.*, 2005,16:1866–75.
- [47] Fergenson D P, Pitesky M E, Tobias H J, et al. Reagentless detection and classification of individual bioaerosol particles in seconds. *Anal. Chem.*, 2004,76:373–378.
- [48] Brodie E. Urban aerosols harbor diverse and dynamic bacterial populations. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, 104:299–304, doi:10.1073/pnas.0608255104, 2007.
- [49] Wagner M, Smidt H, Loy A, et al. Unravelling microbial communities with DNA-microarrays: Challenges and future directions, *Microb. Ecol.*, 2007,53:498–506.
- [50] Soulage F B. Les noyaux de congélation de l'atmosphère [J]. *Ann. Geophys.*, 1957, 13:103–134.
- [51] Fresh R W. Ice nucleation produced by a *Pseudomonas* isolate, Strain C-9 [D]. Laramie: University of Wyoming, 1972.
- [52] Maki L R, Galyan E L, Chang-Chien M M. et al. Ice nucleation induced by *Pseudomonas syringae* [J]. *Appl. Microbiol.*, 1974,28: 456–459.
- [53] Schnell R C, Vali G. Atmospheric ice nuclei from decomposing vegetation [J]. *Nature*, 1972,236:163–165.
- [54] Schnell R C, Vali G. Worldwide source of leaf-derived freezing nuclei [J]. *Nature*, 1973,246:212–213.
- [55] Maki L R, Willoughby K J. Bacteria as biogenic sources of freezing nuclei [J]. *Appl. Meteor.*, 1978,17:1049–1053.
- [56] 晁龙军,吕全,贾秀珍,等. 生物冰核研究与应用的现状和前景 [J]. *林业科学研究*, 2001,14(4):446–454.
- [57] Szyrmer W, Zawadzki I. Biogenic and anthropogenic sources of ice-forming nuclei: a review [J]. *Bull. Amer. Meteor. Soc.*, 1997, 78:209–228.
- [58] Waturangi D E, Tjhen A. Isolation, characterization, and genetic diversity of ice nucleation active bacteria on various plants [J]. *Hayati J Biosci*, 2009,6:54–58.
- [59] Army D C, S E Lindow, C D Upper. Frost sensitivity of Zea mays increased by application of *Pseudomonas syringae* [J]. *Nature*, 1976,262:282–284.

- [60] Kozloff L M, M A Schofield, M Lute. Ice nucleating activity of *Pseudomonas syringae* and *Erwinia herbicola* [J]. Bacteriol., 1983,153:222-231.
- [61] Hirano S S, Maher E A, Kelman A. et al. Ice nucleation activity of fluorescent plant pathogenic pseudomonads [C]. France, Proceedings of the Fourth International Conference on Plant Pathogenic Bacteria, Institute National Recherche Agronomique, Beaucauzé, F1978,717-724
- [62] Hirano S S, Baker L S, Upper C D. Ice nucleation temperature of individual leaves in relation to population sizes of ice nucleation active bacteria and frost injury[J]. Plant Physiol., 1985,77:259-265.
- [63] Li J, Martha PI, Lee T C. Effects of ice nucleation active bacteria on the freezing of some model systems [J]. Int J Food Sci. Technol., 1997,32:41-49.
- [64] 孙福在, 韦建福, 朱 红. 我国冰核活性细菌的优势种类调查与研究 [J]. 生态学报, 1996.12, 16(6):618-622.
- [65] Yankofsky S A, Levin Z, Bertold T, et al. Some basic characteristics of bacterial freezing nuclei [J]. Appl. Meteor., 1981,20:1013-1019.
- [66] 孙福在, 何礼远. 冰核活性细菌与植物霜冻的研究概况 [J]. 植物保护, 1989,41-43
- [67] Turner M A, Arellano F, Kozloff L M. Three separate classes of bacterial ice nucleation structures [J]. Bacteriol., 1990,172:2521-2526.
- [68] Douglas G S, Steven E L. Different effects of growth temperature on ice nuclei active at different temperature that are produced by cells of *pseudomonas syringae* [J]. Cryobiology, 1995,32:129-138.
- [69] Michele N M, Laduca R, and Fall R. High-level expression of ice nuclei in a *Pseudomonas syringae* Strain is induced by nutrient limitation and low temperature [J]. J. Bacteriol., 1993,175:4062-4070
- [70] Fall A L, Fall R. High level expression of ice nuclei in *Erwinia herbicola* is induced by phosphate starvation and low temperature [J]. Curr. Microbiol., 1998,36:370-376.
- [71] Blondeaux A, Hamel J F, Widehem P, et al. Influence of water activity on the ice-nucleating activity of *Pseudomonas syringae* [J]. J. Industr Microbio. Biotechnol., 1999,23:514-519.
- [72] 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.
- [73] 张耀东, 王钦宏. 冰核活性细菌的培养条件 [J]. 郑州粮食学院学报, 1990,18(1):8-13.
- [74] Lindow S E, Amy D C, Upper C. *Erwinia herbicola*: a bacterial ice nucleus active in increasing frost injury to corn [J]. Phytopathology, 1978,68:523-527.
- [75] Lindow S E, Amy D C, Upper C. Bacterial in ice nucleation: a factor in frost injury to plants [J]. Plant Physiology, 1982,70:1084-1089.
- [76] Orser C, Staskawicz B J, Panopoulos N J, et al. Cloning and expression of bacterial ice nucleation genes in *Escherichia coli* [J]. Bacteriol., 1985,164:359-366.
- [77] Kajava A V, Lindow S E. A model of the three dimensional structures of ice nucleation proteins [J]. Mol. Biol., 1993,232:709-717.
- [78] Gurian-Sherman D, Lindow S E. Differential effects of growth temperature on ice nuclei active at different temperatures that are produced by cells of *Pseudomonas syringae* [J]. Cryobiology, 1995,32:129-138.
- [79] Kozloff L M, Turner M A, Arellano F, et al. Phosphatidylinositol, a phospholipid of ice-nucleating bacteria [J]. Journal of Bacteriology, 1991,173:2053-2060.
- [80] Govindarajan A G, Lindow S E. Phospholipid requirement for expression of ice nuclei in *Pseudomonas syringae* and in vitro [J]. Biol. Chem., 1988,263:9333-9338.
- [81] Turner M A, Arellano F, Kozloff L M. Components of ice nucleation structures in bacteria [J]. J. Bacteriol., 1991,173:515-6527.
- [82] Christopher P G, Robert L C, Virginia K W, et al. Novel dimeric β -helical model of an ice nucleation protein with bridged active sites [J]. BMC Structural Biology, 2011, 11:36. doi:10.1186/1472-6807-11-36
- [83] Fahy G M. The role of nucleation in cryopreservation [M]. Biological ice nucleation and its Applications. St. Paul, MN, APS Press, 1995,315-336.
- [84] 张新建, 丁爱云, 刘招舰, 等. 冰核细菌应用研究 [J]. 山东科学, 2002,15(3):32-37
- [85] 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.
- [86] Loper J E and Henkels M D. Availability of iron to *pseudomonas fluorescens* in rhizosphere and bulk soil evaluated with an ice nucleation reporter gene [J]. Appl. Environ. Microbio., 1997, 63:99-105
- [87] Lindow S E. The role of bacterial ice nucleation in frost injury to plants [J]. Ann. Rev. Phytopathol., 1983,21:363-384.
- [88] Lindow S E. Lack of correlation of in vitro antibiosis with antagonism of ice nucleation active bacteria on leaf surfaces by non-ice nucleation active bacteria [J]. Phytopatho., 1988,78:444-450
- [89] Kim K C, Kim Y C, Cho B H. Antagonistic activity of isolate of *Candida* species to ice nucleation-active *Pseudomonas syringae* [J]. Phytopatho., 1989,79:275-277.
- [90] Fan L H, Liu N, Yu M R, et al. Cell surface display of carbonic anhydrase on *escherichia coli* using ice nucleation protein for

- CO₂ sequestration [J]. *Biotechnol. and Bioeng.*, 2011,108:2853–2864.
- [91] Khodi Samaneh, Ali Mohammad Latifi, Mojtaba Saadati, et al. Surface display of organophosphorus hydrolase on *E. coli* using N-terminal domain of ice nucleation protein inaV [J]. *Microbiol. Biotechnol.*, 2012,22:234–238.
- [92] Liang B, Li L, Mascin M, et al. Construction of xylose dehydrogenase displayed on the surface of bacteria using ice nucleation protein for sensitized D-xylose detection [J]. [dx.doi.org/10.1021/ac202513](https://doi.org/10.1021/ac202513). *Anal. Chem.*, 2012,84:275–282.
- [93] Zhang Shaozhi, Haiying Wang, Guangming Chen. Addition of ice-nucleation active bacteria: *Pseudomonas syringae* pv. *Panici* on freezing of solid model food. *LWT* [J]. *Food Sci. and Technol.*, 2010,43:1414–1418.
- [94] Woerpel M D. Snowmaking [P]. US Patent, 1978(4):200–228.
- [95] Ward P J, Demott P J. Preliminary experimental valuation of SNOM AX snow inducer for weather modification [J]. *Weather Modification*, 1989,21:9–13.
- [96] 杜 睿. 生物气溶胶在大气冰核化过程中的作用. 《10000 个科学难题(地球科学专辑)》[M]. 北京: 科学出版社, 2010: 753–755.
- [97] Heymsfield A J, Sabin R M. Cirrus crystal nucleation by homogeneous freezing of solution droplets [J]. *Atmos. Sci.* 1989,46:2252–2264.
- [98] Pruppacher H R. A new look at homogeneous ice nucleation in supercooled water drops [J]. *Atmos. Sci.* 1995,52:1924–1933.
- [99] 盛裴轩, 毛节泰, 李建国, 等. 大气物理学 [M]. 北京: 北京大学出版社, 2008:321.
- [100] Ariya P A, Sun J, Eltouny N A, et al. Physical and chemical characterization of bioaerosols—Implications for nucleation processes [J]. *Inter. Rev. in Phys. Chem.*, 2009,28(1):1–32
- [101] Turnbull D, Vonnegut B. Nucleation catalysis [J]. *Ind. Eng. Chem.*, 1952,44(6):1292–8.
- [102] Meyers M P, Demott P J, Cotton W R. New primary ice nucleation parameterizations in an explicit cloud model [J]. *Appl. Meteor.*, 1992,31:708–721.
- [103] Philips V T J, Donner L J, and Garner S T. Nucleation processes in deep convection simulated by a cloud-system-resolving model with double moment bulk microphysics [J]. *Atmos. Sci.*, 2007,64:738–761.
- [104] Hoose C, Kristjansson J E, Burrows S M. How important is biological ice nucleation in clouds on a global scale [J]. *Environ. Res. Lett.*, 2010,5(024009).
- [105] Mikhailov E, Vlasenko S, Martin S T, et al. Amorphous and crystalline aerosol particles interacting with water vapor: conceptual framework and experimental evidence for restructuring, phase transitions and kinetic limitations [J]. *Atmos. Chem. Phys.*, 2009,9:9491–9522.
- [106] Vali C. Report of the experts meeting on interaction between aerosols and clouds [R]. WCRP259 WMO/ TD2No.423.1991.
- [107] 李大山. 人工影响天气与展望 [M]. 北京: 气象出版社, 2002:216.
- [108] 华莱士, 霍布斯. 大气科学(第二版中文版) [M]. 北京: 科学出版社, 2008:247.
- [109] Vali G. Quantitative evaluation of experimental results on the heterogeneous freezing nucleation of supercooled liquids [J]. *Atmos. Sci.* 1971,28:402–409.
- [110] Vali G, Christensen M, Fresh R W, et al. Biogenic ice nuclei: part II. Bacterial sources [J]. *Atmos. Sci.*, 1976,33:1565–1570.
- [111] Nejad P, Granhall U, Ramstedt M. Factors influencing pathogenic Ice Nucleation Active (INA) bacteria isolated from *Salix* plants, soil and litter [J]. *Agric. Technol.*, 2005,1:207–222.
- [112] Franks F, Wakabayashi T, Mathias S F. Nucleation kinetics of ice in undercooled yeast cells: long-term stability against freezing [J]. *General Microbiol.*, 1987,133:2807–2815.
- [113] Devireddy R V, Leo P H, Lowengrub J S, et al. Measurement and numerical analysis of freezing in solutions enclosed in a small container [J]. *Int J Heat and Mass Transfer*, 2002,45:1915–1931.
- [114] Gill P S, Sauerbrunn S R, Reading M. Modulated differential scanning calorimetry [J]. *Therm. Anal.*, 1993,40:931–939.
- [115] Ganguly S, Adisheshaiah K S. Ice nucleation in emulsified aqueous salt solutions: a differential scanning calorimetry study [J]. *Colloid Surf.*, 1992,66:105–111.
- [116] Wilson P W, Heneghan A F, Haymet A D J. Ice nucleation in nature: supercooling point (SCP) measurements and the role of heterogeneous nucleation [J]. *Cryobiology*, 2003,46:88–98.
- [117] Bruylants G, Woutersand J, Michaux C. Differential scanning calorimetry in life science: thermodynamics, stability, molecular recognition and application in drug design [J]. *Curr. Med. Chem.*, 2005,12:2011–2020.
- [118] Zobrist B, Marcolli C, Koop T, et al. Oxalic acid as a heterogeneous ice nucleus in the upper troposphere and its indirect aerosol effect [J]. *Atmos. Chem. Phys.*, 2006,6:3115–3129.
- [119] Levin Z, Yankofsky S A. Contact versus immersion freezing of freely suspended droplets by bacterial ice nuclei [J]. *Appl. Meteorol.*, 1983,22:1964–1966.
- [120] Wood S E, Baker M B, Swanson. Instrument for studies of homogeneous and heterogeneous ice nucleation in freefalling supercooled water droplets [J]. *Rev. Sci. Instrum.*, 2002,73:3988–3996.
- [121] von Blohn N, Mitra S K, Diehl K, et al. The ice nucleating ability of pollen: Part III: New laboratory studies in immersion and contact freezing modes including more pollen types [J]. *Atmos.*

- Res., 2005,78:182-189.
- [122]Bundke U, Reimann B, Nillius B, Jaenicke R, et al. Development of a bioaerosol single particle detector (BIO IN) for the fast ice nucleus chamber FINCH [J]. Atmos. Meas. Tech., 2010,3: 263-271.
- [123]Ariya P A, Nepotchatykh O, Ignatova O, et al. Microbiological degradation of atmospheric organic compounds [J]. Geophys. Res. Lett., 2002,29(22):2077-2080.
- [124]Cote V, Kos G, R Mortazavi, et al. Microbial and “de novo” transformation of dicarboxylic acids by three airborne fungi [J]. Sci. Total Environ. 2008,390:530-537.
- [125]Amato P, Parazols M, Sancelme M, et al. Microorganisms isolated from the water phase of tropospheric clouds at the Puy de Dôme: major groups and growth abilities at low temperatures [J]. FEMS Microbiol. Ecol., 2007,59: 242-254.
- [126]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]. Int. Soc. Microb. Ecol., 2008,2:321-34.
- [127]Christner B C, Caib R, Morris C E, et al. Geographic, seasonal, and precipitation chemistry influence on the abundance and activity of biological ice nucleators in rain and snow [J]. PNAS, 2008,105:18854-18859.
- [128]Mortazavi R, Hayes C T, Ariya P A. Ice nucleation activity of bacteria isolated from snow compared with organic and inorganic substrate [J]. Environ.Chem, 2008,5:373-381.
- [129]Bowers R M, Lauber C L, Wiedinmyer C, et al. Characterization of airborne microbial communities at a high-elevation site and their potential to act as atmospheric ice nuclei [J]. Appl. Environ. Microb., 2009,75:5121-5130.
- [130]Lannone R, Chernoff D I, Pringle A, et al. The ice nucleation ability of one of the most abundant types of fungal spores found in the atmosphere [J]. Atmos. Chem. Phys. Discuss., 2010,10: 24621-24650.
- [131]Diehl K, Wurzler S. Air parcel model simulations of a convective cloud: bacteria acting as immersion ice nuclei [J]. Atmos. Environ., 2010,44:4622-4628.
- [132]Mohler O, DeMott P J, Vali G, et al. Microbiology and atmospheric processes: the role of biological particles in cloud physics [J]. Biogeosciences, 2007,4:1059-1071.

作者简介: 杜 睿(1970-),女,河南开封人,副教授,博士,主要从事生物气溶胶在大气物理与大气化学过程中的作用、温室气体与碳氮循环过程及机理等方面的研究.发表论文 50 余篇.

《中国环境科学》2011 年度引证指标

根据《2012 年版中国科技期刊引证报告(核心版)》,《中国环境科学》2011 年度引证指标继续位居环境科学技术、安全科学技术类科技期刊前列,核心影响因子 1.523,学科排名第 1,综合评价总分 79.2,学科排名第 2;在被统计的 1998 种核心期刊中影响因子列第 18 位,综合评价总分列第 52 位.《中国科技期刊引证报告》每年由中国科学技术信息研究所编制,统计结果被科技管理部门和学术界广泛采用.

《中国环境科学》编辑部