

何紫梅, 尹茂灵, 张宇, 罗学刚, 王正前, 李春华. 噻霉酮对猕猴桃溃疡病菌的抑菌机理研究[J]. 广东农业科学, 2023, 50(3): 105–112.

噻霉酮对猕猴桃溃疡病菌的抑菌机理研究

何紫梅¹, 尹茂灵¹, 张宇^{1,2}, 罗学刚^{1,2}, 王正前³, 李春华⁴

(1. 西南科技大学生命科学与工程学院, 四川 绵阳 621010; 2. 生物质材料教育部工程研究中心, 四川 绵阳 621010; 3. 广元市科学技术局, 四川 广元 628010; 4. 四川佳猕沃农业科技有限公司, 四川 广元 628000)

摘要:【目的】通过测定噻霉酮水乳剂处理后的丁香假单胞杆菌猕猴桃致病变种 (*Pseudomonas syringae* pv. *Actinidiae*, Psa) 的一系列指标变化, 揭示噻霉酮对猕猴桃溃疡病菌的抑菌机理, 为噻霉酮防控猕猴桃溃疡病提供理论依据。【方法】对 Psa 进行稀释 10 倍的噻霉酮处理 (X10), 原液噻霉酮处理 (Y) 以及无菌水处理 (CK), 利用试剂盒测定 Psa 抗氧化酶系过氧化氢酶 (CAT)、超氧化物歧化酶 (SOD) 的酶活性, 考马斯亮蓝法测定可溶性蛋白质量浓度; 通过荧光显微镜和扫描电子显微镜观察 Psa 细胞膜结构的变化; 通过流式细胞术进行细胞周期的检测。【结果】噻霉酮处理能明显抑制 Psa 生长和繁殖, 缩短菌体细胞的对数生长期, 使细胞膜破裂, 细胞内容物外泄, 细胞死亡量增加, 最终处理组菌体量为 CK 的 5.5%; Psa 对噻霉酮存在氧化应激反应, 处理后的 Psa 活性显著升高, 呈先上升后下降的趋势。噻霉酮处理后 Psa 的 CAT 活性在 10 h 时到达峰值 118.795 U/mg, SOD 活性在 4 h 时达到峰值 1 060.452 U/mg。X10、Y 的菌体蛋白质量浓度在 12 h 与 CK 相比差异显著, 分别降低了 47.1%、73.4%; 随噻霉酮浓度的增加, G0G1 期细胞堆积越多, 细胞百分比由 CK 的 28.85% 增加至 Y 的 45.23%, S 期细胞比例减少, 由 CK 的 58.84% 降低至 Y 的 41.86%。Y 的 G0G1 期细胞比 CK 高 56.8%, 在 S 期比 CK 低 23.7%。【结论】噻霉酮能使 Psa 菌体细胞膜破裂, 引起 Psa 的氧化应激反应, 并通过抑制菌体细胞的 DNA 合成抑制 Psa 生长, 有效防控猕猴桃细菌性溃疡病。

关键词: 噻霉酮; 猕猴桃溃疡病; 流式细胞术; 生理生化; 抑菌机理; 防控

中图分类号: S482; Q933

文献标志码: A

文章编号: 1004-874X (2023) 03-0105-08

Study on the Antimicrobial Mechanism of Benzothiazolinone Against Kiwifruit Ulcerative Pathogens

HE Zimei¹, YIN Maoling¹, ZHANG Yu^{1,2}, LUO Xuegang^{1,2}, WANG Zhengqian³, LI Chunhua⁴

(1. College of Life Science and Engineering, Southwest University of Science and Technology, Mianyang 621010, China; 2. Engineering Research Center of Material Materials, Ministry of Education, Mianyang 621010, China; 3. Science and Technology Bureau of Guangyuan City, Sichuan Province, Guangyuan 628010, China; 4. Sichuan Jiamiwo Agricultural Technology Co., Ltd., Guangyuan 628000, China)

Abstract:【Objective】By measuring a series of index changes of *Pseudomonas syringae* pv. *Actinidiae* (Psa) after treatment with benzothiazolinone aqueous emulsion, the antibacterial mechanism of benzothiazolinone aqueous emulsion against Psa was revealed, which would provide a theoretical basis for the control of kiwifruit ulcer disease with benzothiazolinone.【Method】Psa was treated with benzothiazolinone diluted 10 times (X10), benzothiazolinone stock

收稿日期: 2022-12-22

基金项目: 四川省科技计划重点研发项目 (2021YFN0035)

作者简介: 何紫梅 (1999—), 女, 在读硕士生, 研究方向为环境生态与环境生物效应, E-mail: hezimeiste@163.com

通信作者: 张宇 (1978—), 女, 博士, 副教授, 研究方向为环境生态与环境生物效应, E-mail: zhangyu

@swust.edu.cn

solution (Y) and sterile water (CK). The enzymatic activities of catalase (CAT) and superoxide dismutase (SOD) were determined by using kits and the soluble protein content was determined by Coomassie Brilliant Blue staining. Changes in the cell membrane structure of Psa were observed by fluorescence microscopy and scanning electron microscopy and cell cycle assays were performed by flow cytometry. 【Result】 The study showed that Psa growth and reproduction were significantly inhibited by benzothiazolinone treatment, which shortened the logarithmic growth period of Psa, caused cell membrane rupture, cell contents leakage and increased cell death, and the final amount of mycobacteria was only 5.5% of the control. Psa had oxidative stress response to benzothiazolinone, and the enzyme activities of Psa were significantly increased after treatment, showing a trend of increasing first and then decreasing. After treatment of benzothiazolinone, CAT enzyme activity reached a peak of 118.795 U/mg at 10 h and SOD enzyme activity reached a peak of 1 060.452 U/mg at 4 h. Bacterial protein content of X10 and Y differed significantly at 12 h compared with the control, decreasing by 47.1% and 73.4%, respectively. With the increase of the concentration of benzothiazolinone, more G0G1 phase cells piled up and the percentage of cells increased from 30.27% in the control group to 45.23% in treatment group Y. The percentage of S phase cells decreased from 58.84% in the control group to 41.86% in treatment group Y. The G0G1 phase cells in treatment group Y were 56.8% higher than those in CK and 23.7% lower than those in CK in S phase. 【Conclusion】 Benzothiazolinone ruptures bacterial cell membranes, causes oxidative stress response in Psa, and inhibits Psa growth by inhibiting DNA synthesis in bacterial cells. It can effectively prevent and control bacterial ulcer disease of kiwifruit.

Key words: benzothiazolinone; kiwifruit ulcer disease; flow cytometry; physiology and biochemistry; antimicrobial mechanism; prevention and control

【研究意义】猕猴桃营养丰富, 被誉为“水果之王”^[1], 其药用价值较高, 具有预防感冒、白发、高血压及抗衰老等作用^[2]。猕猴桃细菌性溃疡病是由革兰氏阴性菌丁香假单胞杆菌猕猴桃致病变种 (*Pseudomonas syringae* pv. *Actinidiae*, Psa) 引起的病害, 该病害于 1984 年第一次发现于日本静冈县^[3], 随后陆续在意大利^[4]、法国^[5]、新西兰^[6]等国家出现。猕猴桃细菌性溃疡病是一种严重威胁猕猴桃生产的毁灭性细菌性病害, 具有发病范围广、传播快、致病力强等特点, 可在短期内引起大面积猕猴桃树体死亡, 造成严重的经济损失^[7-8], 是国内森林植物的重点检疫对象^[9]。【前人研究进展】Psa 具有较强的生态适应性, 极大增加了防治难度。关于猕猴桃溃疡病的防治有较多报道^[10-12], 但当猕猴桃溃疡病大面积暴发时, 仍缺乏有效的治愈方法。由于缺乏高抗品种, 目前主要依赖农业措施和化学制剂, 主要是铜制剂(如硫酸铜、氢氧化铜、氧化亚铜等)进行猕猴桃细菌性溃疡病害的防治^[13-14]。因此, 亟需找到环境友好型药剂对猕猴桃溃疡病进行高效、绿色防控。农业中利用杀菌剂对植物病虫害进行防治已有多篇报道^[15-17]。噻霉酮水乳剂是一种新型、广谱杀菌剂, 具有高效低毒、使用安全等特点, 其杀菌作用机理主要包括破坏病菌细胞核结构使其衰竭死亡, 干扰病菌细胞新陈代谢, 使其生理紊乱, 最终导致死亡^[18]。姚廷山

等^[19]通过室内毒力测定表明噻霉酮对柑桔溃疡病菌的抑制作用最大; 曾荣等^[20]研究发现噻霉酮对西瓜果斑病具有良好的防控效果; 刘原等^[21]研究表明噻霉酮对猕猴桃溃疡病有较好的防治作用; 王晓敏等^[22]等研究发现 1.6% 噻霉酮水乳剂 1 000 倍液对芒果叶片炭疽病防效最好, 防治芒果果实炭疽病的最佳浓度为 3 000 倍液。【本研究切入点】虽然已有学者研究了噻霉酮对猕猴桃溃疡病的防控效果^[21,23], 但目前就噻霉酮对 Psa 的抑菌机理研究较少。【拟解决的关键问题】本研究测定经不同浓度噻霉酮处理后的猕猴桃溃疡病菌的生长、蛋白质含量和过氧化氢酶 (Catalase, CAT)、超氧化物歧化酶 (Superoxide dismutase, SOD) 的活性, 通过荧光显微镜和扫描电镜观察 Psa 细胞膜结构的变化, 通过流式细胞术进行细胞周期的检测, 揭示噻霉酮对 Psa 的抑菌机理, 为噻霉酮防控猕猴桃溃疡病提供理论依据, 促进猕猴桃产业的可持续发展。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试植株为中华猕猴桃红阳, 由四川省广元市苍溪县猕猴桃基地提供。噻霉酮水乳剂购自陕西西大华特科技实业有限公司。UV-1200 型紫外分光光度计购自上海美谱达仪器有限公司, 高速

低温组织研磨机购自武汉赛维尔生物科技有限公司, 供试的检测试剂盒均购自南京建成生物工程研究所。

1.2 试验方法

1.2.1 致病菌分离与鉴定 于2022年3月下旬在广元猕猴桃生产基地采集具有猕猴桃溃疡病典型症状的感病枝条及叶片, 采用鄢明峰等^[24]的方法进行致病菌分离, 分离获得的菌株纯化后进行致病性测定, 接种枝条为长势一致的一年生嫩叶, 以无菌水接种作为对照, 每个处理3次重复。参照《伯杰氏细菌鉴定手册》和《植病研究方法》, 测定病菌生理生化反应; 并将提取的菌株DNA送至北京擎科生物科技有限公司进行测序。将测得的16S rRNA原始序列用DNASTar分析软件进行数据处理, 运用NCBI中Blast工具在GenBank中搜索同源DNA序列并进行比较分析, 利用MEGA6软件构建系统发育树, 根据同源性大小和系统发育关系确定菌株的种类归属。

1.2.2 生长曲线测定 参照侯温甫等^[25]的方法, 将培养12 h的Psa接种至100 mL液体LB培养基中, 使培养液中的细菌浓度达 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL, 分别向培养液加1 mL经无菌水稀释10倍的噻霉酮水乳剂, 使菌液中噻霉酮浓度达1 μ L/mL (记为X10); 加入原液噻霉酮水乳剂, 使菌液中噻霉酮浓度达10 μ L/mL (记为Y); 加入1 mL无菌水为对照 (CK), 置于28 $^{\circ}$ C条件下培养, 每隔2 h于紫外分光光度计测定 OD_{600} 的光密度。

1.2.3 AO/PI染色观察 参照原红艳等^[26]的方法并进行改良, 预先配置含50 μ g/mL PI、10 μ g/mL AO的染色预混液, 将处理Y及CK培养6 h的菌液用0.2 mmol/L PBS清洗2次后, 离心, 弃去上清液, 吸取10 μ L细菌样本至EP管中, 加入等体积的AO/PI预混染色液 (终浓度25 μ g/mL PI, 5 μ g/mL AO), 吹打混匀后孵育5 min, 在荧光显微镜下观察。

1.2.4 扫描电子显微镜观察 扫描电镜样品的制备采用Gao等^[27]的方法, 将处理Y及CK培养6 h的菌液在4 $^{\circ}$ C下静置固定12 h, 用0.2 mmol/L PBS清洗3次, 每次15 min。用30%、50%、75%、90%、95%、100%乙醇逐级脱水, 每级脱水20 min。进行冷冻干燥4 h后, 在离子溅射仪中进行金属镀膜, 然后将样品置于TM-3000台式扫描电子显微镜下观察细菌的细胞形态。

1.2.5 噻霉酮对病原菌生理生化的影响 在LB液体培养基中培养Psa, 用PBS稀释后得到约 10^6 CFU/mL的菌液, 将处理X10、Y、CK各加入1 mL至100 mL 10^6 CFU/mL菌悬液中, 在摇床中以120 r/min、28 $^{\circ}$ C条件培养。参照吴美艳等^[28]的方法, 分别于2、4、6、8、10、12、24 h后测定CAT、SOD活性和可溶性蛋白含量。其中CAT、SOD活性采用酶活检测试剂盒测定, 可溶性蛋白含量采用考马斯亮蓝染色法测定。每个处理3次重复。

1.2.6 流式细胞术测定噻霉酮对Psa的影响 菌液处理同1.2.5, 取培养24 h的X10、Y、CK菌液以8 000 r/min离心5 min, 弃上清, 加入1 \times PBS清洗后加入75%乙醇进行固定。固定后送至四川杨克斯特科技有限公司进行细胞周期的检测。荧光灵敏度: 1 000; 测度速度: low; 颗粒数: 3 000。每个处理3次重复。

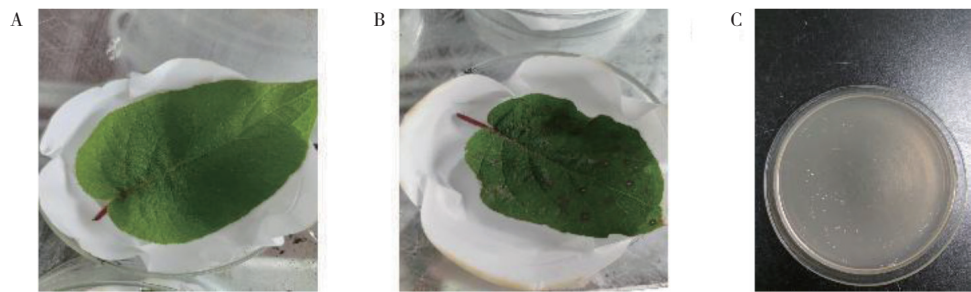
1.2.7 数据处理与分析 采用SPSS V.20.0 (SPSS Inc., Chicago, IL, USA) 软件对数据进行单因素方差分析和LSD多重比较。采用Origin 9.0 (Origin Lab. Corporation, Northampton, MA, USA) 作图; 采用Adobe Illustrator CS6进行图像排版。

2 结果与分析

2.1 致病菌鉴定

本研究从多个感病组织中均可分离出形态一致的菌落; 将菌株挑出, 纯化, 制成浓度为 $10^6 \sim 10^7$ CFU/mL的菌液, 用针刺法对猕猴桃新鲜健康叶片进行接种, 叶片出现褐色病斑 (图1B), 而接种无菌水的猕猴桃叶片正常 (图1A), 说明该菌株 (命名为H01) 有致病性; H01菌落在LB固体培养基上呈乳白色、圆形、光滑、半透明、表面湿润黏稠且生长缓慢 (图1C); 革兰氏染色为阴性。H01菌株的生理生化测定结果如表1所示, 其能利用葡萄糖、蔗糖, 不能利用麦芽糖; 甲基红、淀粉水解、KB培养基产荧光实验均表现为阴性, 接触酶实验表现为阳性, 能产生果聚糖。

将H01菌株的16S rDNA序列递交至GenBank数据库中, 获得的登录号为OP784219。经Blast分析显示, H01菌株属于假单胞杆菌属。由图2可见, H01菌株与登录号为AB001439.1和JN378726.1的Psa亲缘关系较近, 同源性相对较高, 结合取样寄主和致病性检测结果, 可以确定



A: 接种无菌水; B: 接种 H01; C: 纯化后的 H01 菌落
A: Sterile water inoculation; B: H01 inoculation; C: Colony of purified H01

图 1 H01 菌株致病性试验

Fig. 1 Pathogenicity tests of H01 stains

表 1 H01 菌株生理生化特性测定结果
Table 1 Determination results of physiological and biochemical characteristics of H01 strains

项目 Item	结果 Result
葡萄糖 Glucose	+
蔗糖 Sucrose	+
麦芽糖 Maltose	-
淀粉水解 Starch hydrolysis	-
甲基红 Methyl red	+
接触酶 Contact enzyme	+
产生果聚糖 Fructan	+
KB 培养基产荧光 KB fluorescent pigments	-
3% KOH	-

注：“+”代表阳性，“-”代表阴性。
Note: “+” means positive, and “-” means negative.

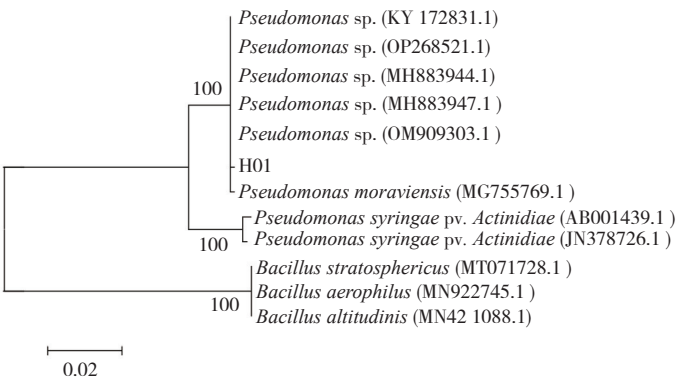


图 2 基于 16Sr DNA 序列构建的系统发育树
Fig. 2 Phylogenetic tree based on 16Sr DNA sequences

本试验分离的猕猴桃溃疡病病原菌株为 Psa。

2.2 不同浓度噻霉酮对 Psa 生长曲线的影响

由图 3 可知，CK 的生长曲线与 X10、Y 的生长曲线有较大差异。CK 的细菌活性整体高于 X10、Y 的细菌活性，CK 与 X10 都在 24 h 内呈对数增长，随后进入稳定期，但 X10 的菌体数量整体低于 CK，说明 X10 抑制了 Psa 的生长。而处理 Y 的 Psa 生长受到显著抑制，在前 4 h 缓慢生长，

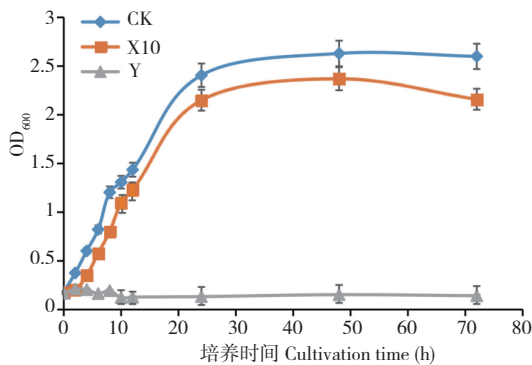


图 3 不同浓度噻霉酮对 Psa 生长曲线的影响
Fig. 3 Effects of different concentrations of benzothiazolinone on the growth curves of Psa

随后提前进入稳定期，与 CK 相比，对数生长期显著缩短，细胞死亡量增加，且最终的菌体量仅为 CK 的 5.5%。

2.3 噻霉酮处理后细菌形态观察

CK 培养 6 h 后的 AO/PI 染色图中可见大量绿色荧光的菌体（图 4A），Y 培养 6 h 后的 AO/PI 染色图中，红色荧光强度显著高于绿色荧光（图 4B），说明经 Y 处理后 H01 菌体大量死亡，即噻霉酮对 Psa 有显著的抑制作用。由图 4C 可以看出，CK 的 Psa 分散均匀，呈现出完整的杆状，并且彼此间无粘黏；Y 处理 6 h 后，Psa 开始聚集成堆且细胞膜破损，导致细胞内容物泄露，菌体黏附在一起，细胞发生了明显的变形（图 4D）。从以上结果可知，噻霉酮对 Psa 的生长具有抑制作用，其可使 Psa 细胞膜破损，导致细胞不能正常生长而死亡。

2.4 噻霉酮对 Psa 生理生化的影响

由图 5 可知，经过不同浓度噻霉酮处理，前 4 h 内 Y 处理 Psa 的 CAT 活性显著高于 X10 及 CK，到达峰值 73.964 U/mg，但随培养时间增

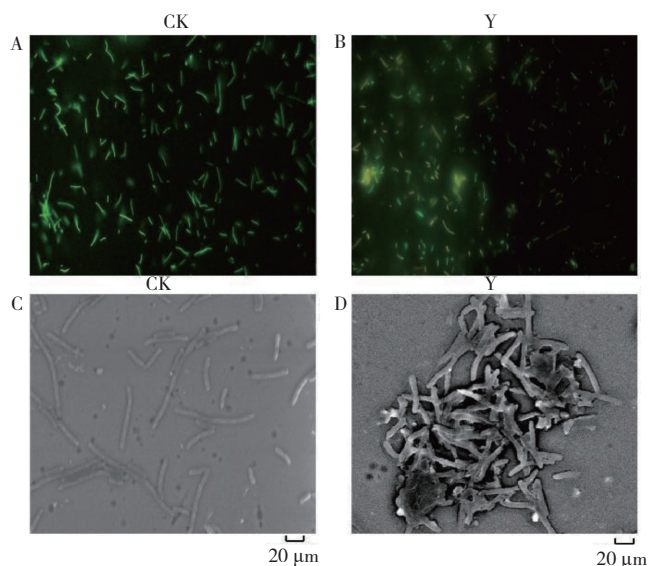


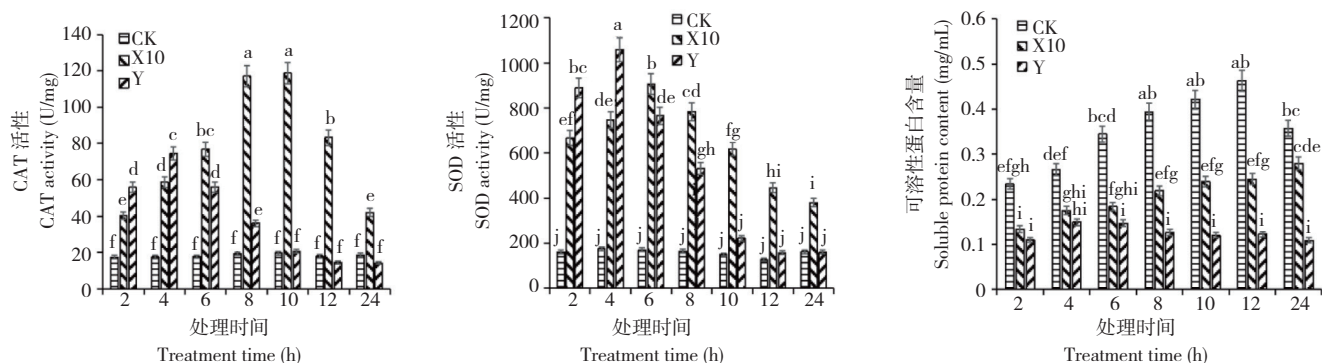
图4 噻霉酮水乳剂处理后 Psa 的 AO/PI 染色图 (A、B) 及扫描电子显微镜图像 (C、D)

Fig. 4 AO/PI staining (A、B) and scanning electron microscope images (C、D) of Psa after benzothiazolinone aqueous emulsion treatment

长, 其 CAT 活性逐渐降低至 CK 水平; 而 X10 处理 Psa 的 CAT 活性增加, 且在 10 h 时到达峰值 118.795 U/mg, 10 h 后活性开始下降。Y 处理的 SOD 活性与 CAT 活性变化趋势一致, 在 4 h 时达到峰值 1 060.452 U/mg, 显著高于 X10 及 CK; 而 X10 在 6 h 达到峰值 906.67 U/mg, 随着培养时间的延长, X10 的 SOD 活性始终显著高于 Y 及 CK。X10 及 Y 的菌体可溶性蛋白含量显著低于 CK, 在 12 h 时可溶性蛋白含量差异最大: X10 为 0.245 mg/mL, Y 为 0.123 mg/mL, 与 CK 的 0.463 mg/mL 相比分别降低 47.1% 和 73.4%。

2.5 噻霉酮对 Psa 细胞周期的影响

经 CK、X10、Y 处理 20 h 后的细胞周期如图 6 所示, 不同噻霉酮浓度处理各细胞周期的细胞百分比见表 2。G0G1 期细胞比例随着噻霉酮浓度的增加而增加, G2M 期与 S 期比例随着噻霉酮浓度的增加逐渐减少。且 X10 各细胞周期的百分比



小写英文字母不同者表示处理间差异显著 ($P < 0.05$, $n = 3$)

Different lowercase letters indicate significant differences between treatments ($P < 0.05$, $n = 3$)

图5 不同浓度噻霉酮对 Psa 生理化的影响

Fig. 5 Effect of different concentrations of benzothiazolinone on the physiology and biochemistry of Psa

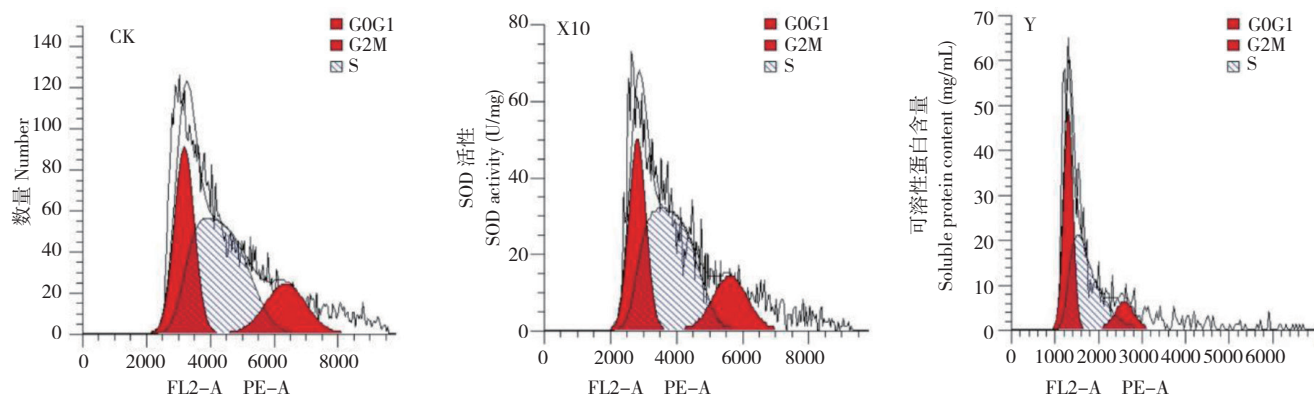


图6 不同浓度噻霉酮对 Psa 细胞周期的影响

Fig. 6 Effect of different concentrations of benzothiazolinone on the cell cycle of Psa

表 2 不同浓度噻霉酮处理后各周期细胞百分比
Table 2 Percentages of cells in each cycle after treatment with different concentrations of benzothiazolinone

处理 Treatment	G0G1 (%)	G2M (%)	S (%)
CK	28.85b	16.30a	54.84a
X10	30.27b	17.29a	52.45a
Y	45.23a	12.9b	41.86b

注：同列数据后小写英文字母不同者表示差异显著（ $P<0.05$ ， $n=3$ ）
Note: Different lowercase letters after data in the same column indicate significant differences ($P<0.05$, $n=3$)

与 CK 相比均无显著差异，而 Y 各细胞周期的百分比与 X10 及 CK 差异显著（ $P<0.05$ ）。

3 讨论

研究表明，噻霉酮对猕猴桃溃疡病菌有较好的抑菌效果，其杀菌机理包括干扰病菌细胞的新陈代谢，使其生理紊乱，最终导致死亡^[18]，这与本研究结果一致。经噻霉酮水乳剂处理后能明显观察到 Psa 生长和繁殖能力受到抑制，对数生长期缩短，提前进入稳定期。处理后的 Psa 经 AO/PI 染色后在荧光显微镜下明显观察到红色荧光，但红色荧光强度较低，可能是因为细胞处于早期凋亡状态，凋亡细胞在进入最终溶解阶段前，胞膜通透性无明显改变^[29]。且通过扫描电子显微镜观察到 Psa 经噻霉酮处理后细胞膜破裂，细胞内容物外泄，导致菌体粘连并堆积，这与 Das 等^[30]研究结果相同。

通常生物体在受到生物或非生物胁迫时，会上调其抗氧化酶系统进行应对^[31]。经噻霉酮水乳剂处理后，Psa 抗氧化酶 SOD、CAT 活性升高，说明 Psa 对噻霉酮存在氧化应激反应，这与潘佳亮^[32]的研究结果相似，经苦参碱处理后，葡萄座腔菌丝体内 MDA、活性氧含量和保护酶（SOD、POD、CAT）的活性显著增加，表明苦参碱可以使真菌氧化应激水平升高，细胞膜发生脂质过氧化过程。而 Y 的 CAT、SOD 活性在 10 h 后均与 CK 无差异，可能是噻霉酮浓度过高，致使 Psa 细胞膜受损，菌体死亡，活菌数量少，氧化应激能力弱。而噻霉酮处理后可溶性蛋白含量显著低于 CK，这与万惠一^[33]的研究结果相反，其在加入菲律宾蛤仔抑菌酶解物组分 II 后，金黄色葡萄菌和枯草芽孢杆菌 2 种细菌培养液中可溶性蛋白含量增加。菌体蛋白水平降低，推测噻霉酮是通过抑制菌体蛋白质的合成或者导致菌体的蛋白质变性，进而影响细胞的能量代谢，导致菌体死亡。

本研究通过流式细胞术检测发现随着噻霉酮浓度的增加，G0G1 期细胞堆积越多，Y 比 CK 高出 56.8%，而 Y 的 S 期细胞减少，比 CK 低 23.7%。G0G1 期为 DNA 合成前期，S 期为 DNA 合成期，表明噻霉酮可能通过抑制菌体细胞的 DNA 合成达到抑菌效果，这与蛋白水平下降结果一致。

本研究从噻霉酮处理后的 Psa 生长情况、结构形态、生理生化反应及细胞周期影响揭示噻霉酮对 Psa 的抑菌机理，为噻霉酮作为有机酮制剂防控猕猴桃溃疡病提供了理论依据。后续研究可通过测定组学分析抑菌过程中代谢物上调或下调情况，从分子水平探究噻霉酮对 Psa 的抑菌机制。

4 结论

本研究结果表明，噻霉酮能使菌体细胞膜破裂，导致 Psa 生长和繁殖能力下降，Y 处理后菌体量仅为 CK 的 5.5%。噻霉酮处理后会引起 Psa 的氧化应激，具体表现为 SOD、CAT 的活性均呈先上升后下降的趋势，显著高于对照组（ $P<0.05$ ）。而可溶性蛋白含量随噻霉酮浓度的增加而降低，在处理 12 h 时差异最大，分别降低 47.1%、73.4%；且周期测定细胞百分比发现 Y 处理的 G0G1 期细胞比 CK 高出 56.8%，S 期细胞比 CK 低 23.7%。表明噻霉酮处理后，细胞堆积在 DNA 合成前期，通过抑制菌体细胞的 DNA 合成抑制 Psa 生长，有效防控猕猴桃细菌性溃疡病。

参考文献（References）：

[1] 张迪, 高小宁, 赵志博, 秦虎强, 黄丽丽. 不同猕猴桃品种对溃疡病的抗性差异及其机制研究[J]. 果树学报, 2019, 36(11): 1549–1557. DOI:10.13925/j.cnki.gsx.20190166.
ZHANG D, GAO X N, ZHAO Z B, QIN H Q, HUANG L L. Differences in resistance to *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* and acting mechanism of different kiwifruit varieties [J]. *Journal of Fruit Science*, 2019, 36(11): 1549–1557. DOI:10.13925/j.cnki.gsx.20190166.

[2] 贾照志, 曾海. 猕猴桃的药用价值[J]. 中国中医药现代远程教育, 2012, 10(4): 118. DOI: 10.3969/j.issn.1672-2779.2012.04.081.
JIA Z Z, ZENG H. The medicinal value of kiwifruit [J]. *Chinese Medicine Modern Distance Education of China*, 2012, 10(4): 118. DOI: 10.3969/j.issn.1672-2779.2012.04.081.

[3] SERIZAWA S, ICHIKAWA T, TAKIKAWA Y, TSUYUMU S, GOTO M. Occurrence of bacterial canker of kiwifruit in Japan: description of symptoms, isolation of the pathogen and screening of bactericides [J]. *Annals of the Phytopathological Society of Japan*, 1989, 55(4): 427–436. DOI:10.3186/jjphytopath.55.427.

[4] FERRANTE P, SCORTICINI M. Identification of *Pseudomonas*

- syringae* pv. *actinidiae* as causal agent of bacterial canker of yellow kiwifruit (*Actinidia chinensis planchon*) in central Italy [J]. *Journal of Phytopathology*, 2019,157(11-12):768-770. DOI: 10.1111/j.1439-0434.2009.01550.x.
- [5] VANNESTE J L, POLIAKOFF F, AUDUSSEAU C, CORNISH DA, PAILLARD S, RIVOAL C, YU J. First report of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae*, the causal agent of bacterial canker of kiwifruit in France [J]. *Journal of Plant Pathology*, 2011, 96(1): 169-175. DOI: 10.4454/JPP.V96I1.040.
- [6] EVERETT K R, TAYLOR R K, ROMBERG M K, RSSE-GEORGE J, MANNING M A. First report of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* causing kiwifruit bacterial canker in New Zealand [J]. *Australasian Plant Disease Notes*, 2011, 6(1):67-71. DOI: 10.1007/s13314-011-0023-9.
- [7] NAROEI KHANDAN H. Predicting the potential global distribution of *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* (Psa) [M]. New Zealand: Plant Protection Conference, 2013. DOI:10.30843/nzpp.2013.66.5601.
- [8] 钟彩虹, 李黎, 潘慧, 邓蕾, 陈美艳. 猕猴桃细菌性溃疡病的发生规律及综合防治技术 [J]. 中国果树, 2020(1): 9-18. DOI: 10.16626/j.cnki.issn1000-8047.2020.01.002.
- ZHONG C H, LI L, PAN H, DENG L, CHEN M Y. Occurrence rule and comprehensive control of kiwifruit bacterial canker disease [J]. *China Fruits*, 2020(1): 9-18. DOI:10.16626/j.cnki.issn1000-8047.2020.01.002.
- [9] 游雨欣, 戴德江, 罗金燕, 朱洁, 李斌. 猕猴桃溃疡病防治策略的研究现状与展望 [J]. 浙江农业科学, 2022, 63(6): 1322-1328, 1331. DOI: 10.16178/j.issn.0528-9017.20212933.
- YOU Y X, DAI D J, LUO J Y, ZHU J, LI B. Current status and perspectives of research on control strategies for kiwifruit ulcer disease [J]. *Journal of Zhejiang Agricultural Sciences*, 2022, 63(6): 1322-1328, 1331. DOI: 10.16178/j.issn.0528-9017.20212933.
- [10] 赵贵丽, 柏松, 李向阳, 罗永高, 刘仕琴. 噬菌体生物防治猕猴桃细菌性溃疡病研究进展 [J]. 农药, 2022, 61(11):781-788,794. DOI: 10.16820/j.nyzz.2022.1032.
- ZHAO G L, BAI S, LI X Y, LUO Y G, LIU S Q. Research progress on phage-based biocontrol of kiwifruit bacterial canker [J]. *Agrochemicals*, 2022, 61(11):781-788,794. DOI: 10.16820/j.nyzz.2022.1032.
- [11] PEREIRA C, COSTA P, PINHEIRO L, BALCAO V M, ALMEIDA A. Kiwifruit bacterial canker: an integrative view focused on biocontrol strategies [J]. *Planta*, 2021, 253(2): 49. DOI: 10.1007/s00425-020-03549-1.
- [12] 贺富胤, 石浩, 李凤华, 郭阳, 崔丽红, 王仁才. 湖南猕猴桃溃疡病致病菌的鉴定及植物源防治药剂的筛选 [J]. 植物检疫, 2022,36(2):7-14. DOI:10.19662/j.cnki.issn1005-2755.2022.02.001.
- HE F Y, SHI H, LI F H, GUO Y, CUI L H, WANG R C. Identification of pathogenic bacteria of kiwifruit canker in Hunan and evaluation of botanical bactericides [J]. *Plant Quarantine*, 2022,36(2):7-14. DOI:10.19662/j.cnki.issn1005-2755.2022.02.001.
- [13] 秦虎强, 赵志博, 高小宁, 王强, 杜培龙, 黄丽丽. 四种杀菌剂防治猕猴桃溃疡病的效果及田间应用技术 [J]. 植物保护学报, 2016, 43(2): 321-328. DOI: 10.13802/j.cnki.zwbhxb.2016.02.021.
- QIN H Q, ZHAO Z B, GAO X N, WANG Q, DU P L, HUANG L L. Bactericidal activities of four bactericides and their field application against *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* [J]. *Journal of Plant Protection*, 2016, 43(2): 321-328. DOI: 10.13802/j.cnki.zwbhxb.2016.02.021.
- [14] 秦虎强, 赵志博, 高小宁, 杨彪, 徐国信, 黄丽丽. 猕猴桃细菌性溃疡病菌对 17 种杀菌剂的敏感性及其不同药剂田间防效 [J]. 西北农业学报, 2015, 24(9): 145-151. DOI: 10.7606/j.issn.1004-1389.2015.09.022
- QIN H Q, ZHAO Z B, GAO X N, YANG B, XU G X, HUANG L L. Bactericidal activities of seventeen bactericides and their field applications against *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* [J]. *Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica*, 2015, 24(9): 145-151. DOI: 10.7606/j.issn.1004-1389.2015.09.022.
- [15] 邝瑞彬, 杨敏, 周陈平, 杨护, 黄柄雄, 魏岳荣. 7 种生物药剂对百香果茎基腐病菌的抑菌效果试验 [J]. 广东农业科学, 2022, 49(10): 104-111. DOI:10.16768/j.issn.1004-874X.2022.10.012.
- KUANG R B, YANG M, ZHOU C P, YANG H, HUANG B X, WEI Y R. Antifungal effects of seven biological fungicides against the pathogen causing stem rot disease in passion fruits [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2022, 49(10): 104-111. DOI:10.16768/j.issn.1004-874X.2022.10.012.
- [16] 蓝国兵, 何自福, 于琳, 汤亚飞, 李正刚, 邓铭光, 余小漫. 16 种杀菌剂对火龙果褐腐病菌抑菌持效期及田间防效试验 [J]. 广东农业科学, 2019, 46(12): 95-101. DOI: 10.16768/j.issn.1004-874X.2019.12.013.
- LAN G B, HE Z F, YU L, TANG Y F, LI Z G, DENG M G, SHE X M. Effective inhibition duration and field control effects of 16 fungicides against *Neoscytalidium dimidiatum* [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2019, 46(12): 95-101. DOI: 10.16768/j.issn.1004-874X.2019.12.013.
- [17] 沈会芳, 蒲小明, 杨祁云, 张景欣, 孙大元, 林璧润. 香蕉细菌性软腐病防治药剂筛选试验 [J]. 广东农业科学, 2020, 47(1): 98-104. DOI: 10.16768/j.issn.1004-874X.2020.01.014.
- SHEN H F, PU X M, YANG Q Y, ZHANG J X, SUN D Y, LIN B R. Selection of bactericides for controlling bacterial soft rot of banana [J]. *Guangdong Agricultural Sciences*, 2020, 47(1): 98-104. DOI: 10.16768/j.issn.1004-874X.2020.01.014.
- [18] 宋根苗, 蒋家珍, 邱立红. 噻霉酮和苯醚甲环唑混配对 4 种不同病原菌的增效作用 [J]. 植物保护, 2012, 38(4): 171-175. DOI:10.3969/j.issn.0529-1542.2012.04.038.
- SONG G M, JIANG J Z, QIU L H. Synergistic activity of benziotiazolinone/difenoconazole complex against four different fungi [J]. *Plant Protection*, 2012, 38(4): 171-175. DOI:10.3969/j.issn.0529-1542.2012.04.038.
- [19] 姚廷山, 周常勇, 胡军华, 冉春, 李鸿筠, 刘浩强, 肖田. 3 种杀菌剂对柑桔溃疡病菌的室内毒力测定 [J]. 江西农业大学学报, 2009, 31(6): 1026-1029. DOI:10.13836/j.jjau.2009200.
- YAO T S, ZHOU C Y, HU J H, RAN C, LI H J, LIU H Q, XIAO T. Toxicity of three fungicides to *Xanthomonas axonopodis* pv. *citri* [J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2009, 31(6): 1026-1029. DOI:10.13836/j.jjau.2009200.
- [20] 曾荣. 噻霉酮防治西瓜细菌性果斑病和梨火疫病研究 [D]. 南京: 南京农业大学, 2020. DOI:10.27244/d.cnki.gnjnu.2020.002038.

- ZENG R. Control of bacterial fruit spot of watermelon and pear fire blight with benzothiazolinone [D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2020. DOI:10.27244/d.cnki.gnjnu.2020.002038.
- [21] 刘原. 2种昆虫抗菌肽粗提物对猕猴桃溃疡病菌抑菌作用及猕猴桃溃疡病药剂防治试验 [D]. 雅安: 四川农业大学, 2016.
- LIU Y. The bacteriostasis effect of two species of insect antimicrobial peptides crude extract on *Pseudomonas syringae* pv. *actinidiae* and the agent control experiments on kiwifruit bacterial canker [D]. Ya'an: Sichuan Agricultural University, 2016.
- [22] 王晓敏, 刘清国, 龚德勇. 新农药噻霉酮对芒果炭疽病的防治效果 [J]. 贵州农业科学, 2013, 41(1): 90–92. DOI:10.3969/j.issn.1001-3601.2013.01.027.
- WANG X M, LIU Q G, GONG D Y. Control effect of benzothiazolinone on mango anthracnose [J]. *Guizhou Agricultural Sciences*, 2013, 41(1): 90–92. DOI:10.3969/j.issn.1001-3601.2013.01.027.
- [23] 曹凡, 高贵田, 雷玉山, 杜莹琳, 朱丹, 徐雅芬, 张晓萍, 李朝政, 张鑫. 3种药剂对猕猴桃花粉溃疡病菌灭菌及果实产量的影响 [J]. 食品与机械, 2018, 34(1): 121–125. DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2018.01.024.
- CAO F, GAO G T, LEI Y S, DU Y L, ZHU D, XU Y F, ZHANG X P, LI Z Z, ZHANG X. Effect of three agents on the sterilization of kiwifruit pollen ulcer fungus and fruit yield [J]. *Food and Machinery*, 2018, 34(1): 121–125. DOI: 10.13652/j.issn.1003-5788.2018.01.024.
- [24] 鄢明峰, 李诚, 王园秀, 赵尚高, 李帮明, 涂贵庆, 蒋军喜. 奉新县猕猴桃溃疡病病原菌鉴定 [J]. 江西农业大学学报, 2019, 41(2): 243–248. DOI: 10.13836/j.jjau.2019029.
- YAN M F, LI C, WANG Y X, ZHAO S G, LI B M, TU G Q, JIANG J X. Pathogen identification of kiwifruit bacterial canker in fengxin county of Jiangxi province [J]. *Acta Agriculturae Universitatis Jiangxiensis*, 2019, 41(2): 243–248. DOI: 10.13836/j.jjau.2019029.
- [25] 侯温甫, 欧阳何一, 吴忌, 韩千慧, 周敏, 王宏勋. 曲酸对冷鲜鸭肉中优势腐败菌的抑制作用及其抑菌机理 [J]. 食品科学, 2019, 40(1): 278–285. DOI: 10.7506/spkx1002-6630-20180613-226.
- HOU W F, OUYANG H Y, WU J, HAN Q H, ZHOU M, WANG H X. Inhibitory effect of kojic acid on dominant spoilage bacteria in chilled duck meat and its mechanism [J]. *Food Science*, 2019, 40(1): 278–285. DOI: 10.7506/spkx1002-6630-20180613-226.
- [26] 原红艳, 张淑香, 李兴启, 李树华. γ-吡啶橙-碘化丙啶双染色法观察大鼠耳蜗基底膜毛细胞活性 [J]. 听力学及言语疾病杂志, 2006, 14(5): 337–339. DOI:10.3969/j.issn.1006-7299.2006.05.018.
- YUAN H Y, ZHANG S X, LI X Q, LI S H. Observation of the role of acridine orange-propidium iodide in the identification of hair cell status in a laboratory condition [J]. *Journal of Audiology and Speech Pathology*, 2006, 24(5): 337–339. DOI:10.3969/j.issn.1006-7299.2006.05.018.
- [27] GAO L Y, CHEN H M, CHEN W X, CHEN W J, JIAN H Y, ZHONG Q P, ZHANG M. Linalool against *Hafnia alvei*, its antibacterial mechanism revealed by metabolomic analyses [J]. *Food Bioscience*, 2023, 51:102316. DOI: 10.1016/j.fbio.2022.102316.
- [28] 吴美艳, 罗兴录, 樊铸硼, 刘继忠, 金相宇. 木薯抗细菌性枯萎病生理特性研究 [J]. 南方农业学报, 2020, 51(6):1353–1359. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1191.2020.06.015.
- WU M Y, LUO X L, FAN Z P, LIU J Z, JIN X Y. Physiological characteristics of cassava against bacterial blight [J]. *Journal of Southern Agriculture*, 2020, 51(6):1353–1359. DOI: 10.3969/j.issn.2095-1191.2020.06.015.
- [29] 朱斌, 叶铁虎, 牛浩. 原代培养大鼠海马细胞随培养时间早期凋亡和死亡增加 [J]. 基础医学与临床, 2005, 25(2): 179–180. DOI: 10.3969/j.issn.1001-6325.2005.02.018.
- ZHU B, YE T H, NIU H. Studies on early apoptosis and death of primary cultured neurons from hippocampi of newborn rat [J]. *Basic & Clinical Medicine*, 2005, 25(2): 179–180. DOI: 10.3969/j.issn.1001-6325.2005.02.018.
- [30] DAS G, BAEK K H, PATRA J K. Biofabrication of streptomycin-conjugated calcium phosphate nanoparticles using red ginseng extract and investigation of their antibacterial potential [J]. *PLoS ONE*, 2019, 14(6): e0217318. DOI: 10.1007/s00425-020-03549-1.
- [31] JAKUBOVICS N S, SMITH A W, JENKINSON H F. Oxidative stress tolerance is manganese (Mn) regulated in *Streptococcus gordonii* [J]. *Microbiology (Reading)*, 2002, 148(10): 3255–3263. DOI: 10.1099/00221287-148-10-3255.
- [32] 潘佳亮. 苦参碱对山核桃干腐病病原真菌 (*Botryosphaeria dothidea*) 抑菌机制研究 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2018.
- PAN J L. Antifungal mechanism of matrine to *Botryosphaeria dothidea* [D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2018.
- [33] 万慧一. 菲律宾蛤仔 (*Ruditapes philippinarum*) 抑菌酶解物的制备与作用机理研究 [D]. 青岛: 青岛大学, 2012.
- WAN H Y. Preparation and mechanism of action of clam inhibition enzymes in the *Ruditapes philippinarum* [D]. Qingdao: Qingdao University, 2012.

(责任编辑 陈丽娥)