

硝普钠抑制青枯菌的机制研究

李浩^{1*}, 刘佳欣^{2*}, 杨林², 黄国桃², 杨勇², 向海波², 余君^{1#}

¹湖北省烟草科学研究院, 湖北 武汉

²湖北大学生命科学学院, 省部共建生物催化与酶工程国家重点实验室, 湖北 武汉

收稿日期: 2024年11月20日; 录用日期: 2024年12月20日; 发布日期: 2024年12月26日

摘要

硝普钠(Sodium Nitroprusside, SNP)作为一氧化氮(NO)的供体, 已被广泛研究用于增强植物的抗逆性和抑制病原菌的生长。然而, 其在防治烟草青枯病方面的效果尚未明确。本研究评估了SNP对烟草青枯病病原菌*Ralstonia solanacearum*的抗菌活性、形态、生物膜形成以及运动性的影响, 以探讨SNP对烟草青枯病的作用及其机制。在体外实验中, SNP显著抑制了*R. solanacearum*的生长及细胞繁殖, 随着SNP浓度的升高抑菌圈直径增加, 1 mmol/L时抑菌圈增长率高达129.6%。并显著抑制了其生物膜形成和游动能力, 最高减少82.53%和72.46%, 在1 mmol/L时对青枯菌有明显趋避性, 同时减少了*R. solanacearum*在烟草根部的定殖量。田间实验显示, 施用SNP显著降低了烟草青枯病的发病率和病情指数, 防效达到了57.71%。这些结果表明, SNP具有显著的抗菌效果, 展示了其作为防治*R. solanacearum*引起的烟草青枯病的潜在应用价值。

关键词

硝普钠, 烟草, 青枯病菌, 生物被膜, 烟草致病率

Mechanism Study on Sodium Nitroprusside's Inhibition of *Ralstonia solanacearum*

Hao Li^{1*}, Jiaxin Liu^{2*}, Lin Yang², Guotao Huang², Yong Yang², Haibo Xiang², Jun Yu^{1#}

¹Tobacco Research Institute of Hubei Province, Wuhan Hubei

²Provincial and Ministerial Jointly Established National Key Laboratory of Biocatalysis and Enzyme Engineering, School of Life Science, Hubei University, Wuhan Hubei

Received: Nov. 20th, 2024; accepted: Dec. 20th, 2024; published: Dec. 26th, 2024

*共同第一作者。

#通讯作者。

文章引用: 李浩, 刘佳欣, 杨林, 黄国桃, 杨勇, 向海波, 余君. 硝普钠抑制青枯菌的机制研究[J]. 农业科学, 2024, 14(12): 1463-1472. DOI: 10.12677/hjas.2024.1412185

Abstract

Sodium Nitroprusside (SNP), a nitric oxide (NO) donor, has been extensively investigated for its role in enhancing plant stress tolerance and inhibiting pathogen growth. However, its efficacy in controlling tobacco bacterial wilt caused by *Ralstonia solanacearum* remains to be elucidated. This study aimed to assess the antimicrobial activity, morphology, biofilm formation, and motility of SNP against *R. solanacearum*, thereby exploring its potential mechanism in combating tobacco bacterial wilt. *In vitro* experiments revealed that SNP significantly suppressed the growth and cell proliferation of *R. solanacearum*, with the diameter of the inhibition zone increasing proportionally to the SNP concentration, achieving a maximum increase of 129.6% at 1 mmol/L. Additionally, SNP markedly inhibited biofilm formation and swimming motility, with reductions of up to 82.53% and 72.46%, respectively. At a concentration of 1 mmol/L, SNP exhibited a pronounced repellent effect on *R. solanacearum* and reduced the colonization of the pathogen in tobacco roots. Field trials further demonstrated that SNP application significantly decreased the incidence and severity index of tobacco bacterial wilt, with a control efficacy of 57.71%. These findings suggest that SNP possesses significant antimicrobial properties and holds promise as a potential agent for controlling tobacco bacterial wilt caused by *R. solanacearum*.

Keywords

Sodium Nitroprusside, Tobacco, *Ralstonia solanacearum*, Biofilm, Tobacco Disease Rate

Copyright © 2024 by author(s) and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY 4.0).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

1. 引言

青枯雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*, 简称青枯菌)属于原核生物界(*Prokaryotae*)的变形菌门(*Proteobacteria*) [1]-[3], 是最具暴发性和破坏性的细菌病原体之一[1], 能够感染多种经济作物, 包括烟草、番茄、马铃薯等[4]。由于青枯菌物种复合体寄主范围、地理来源分布和致病行为各不相同[5], 青枯病已成为农业和经济的主要威胁[6]。据统计, 全球每年因青枯病造成的损失超过 9.5 亿美元[7], 这使得青枯菌成为全球农业生产中亟待解决的主要病害之一。然而, 现有的防治方法仍然存在一些明显的不足。传统的防治方法主要依赖于化学农药的应用[8], 尽管这些方法在短期内可见效果, 但长期使用不仅可能导致环境污染和抗药性菌株的产生, 还未能解决青枯病的根本问题, 降低防治效果[9] [10]。这些问题表明, 目前对青枯病的防治研究亟需创新的解决方案。因此, 探索新型的生物防治策略显得尤为重要[11]。

在这一背景下, 植物生长调节剂的使用逐渐受到关注。其中, 硝普钠(Sodium Nitroprusside, SNP)作为一种新型的植物生长调节剂, 其在增强植物抗逆性、促进生长发育方面的潜力日益显现[12]-[14]。研究表明, 硝普钠不仅可以提高植物的抗氧化能力, 还能调节植物体内的生理过程, 增强植物对病原菌的抵抗力[15]。一些研究发现, SNP 在特定浓度下对某些病原菌具有抑制作用, 尤其是在提高植物对病害抵抗能力方面显示出良好效果[16] [17]。然而, 针对青枯菌的系统研究仍然较少, 缺乏对其作用机制的深入探讨。

因此, 本研究旨在通过系统实验评估硝普钠对青枯菌的抑制效果, 探讨其在抑制青枯菌生长方面的机制和在烟草中的应用潜力, 为青枯病的生物防治提供新的思路 and 理论依据。

2. 材料与方法

2.1. 实验材料

亚硝基铁氰化钠二水合物(即硝普钠, 简写 SNP), 购于生工生物公司。

供试烟株: 雪茄烟 CX26 品种由湖北省烟草公司提供种子。播种: 在育苗盘内, 每个穴盘播 2~3 粒。
培育条件: 室温昼夜控制在 $28^{\circ}\text{C} \pm 2^{\circ}\text{C}$, 相对湿度控制在 80% 以上。

试验菌株: 烟草青枯雷尔氏菌(*Ralstonia solanacearum*)采购于明舟生物。

NA 培养基: 牛肉膏 3 g, 酵母粉 1 g, 蛋白胨 5 g, 葡萄糖 10 g, 琼脂 15 g, 加蒸馏水定容至 1000 mL。

NB 培养基: 牛肉膏 3 g, 酵母粉 1 g, 蛋白胨 5 g, 葡萄糖 10 g, 加蒸馏水定容至 1000 mL。

2.2. 实验设计

2.2.1. SNP 对青枯病致病率影响

配置如下试剂: 对照试剂(CK): 灭菌水; 试剂 A: 0.05 mmol/L 的硝普钠; 试剂 B: 0.1 mmol/L 的硝普钠; 试剂 C: 0.5 mmol/L 的硝普钠; 试剂 D: 1.0 mmol/L 的硝普钠。

平板抑制法。参照谭才邓[18]的方法, 将灭菌后的固体 NA 培养基加热并完全溶化, 冷却至约 55°C , 倒入培养皿中, 每皿厚度相同(约 15 mL), 凝固后备用。用涂布棒将浓度为 1.0×10^8 CFU/mL 的烟草青枯雷尔氏菌菌悬液均匀涂布在培养皿表面; 用打孔法在直径为 90 mm NA 培养基上钻 5 个直径为 5 mm 的孔, 实验重复三组, 分别加入 100 μL 试剂 A-D, 隔一小时补加一次。将平板置于 37°C 培养箱中, 待药液浸入培养基, 12 小时后检测抑菌效果。用十字交叉法测量抑菌圈的直径, 并记录抑菌圈的大小。

摇瓶培养法。参照杨小琼[19]方法并加以修改, 在规格均为 250 mL 容量的三角瓶中、容积为 100 mL 灭菌的 NB 培养基内分别加入 1 mL 的试剂 A-D。接种浓度为 1.0×10^8 CFU/mL 的烟草青枯雷尔氏菌悬液 800 μL , 在 37°C 、230 r/m 摇床震荡培养, 每隔三小时将发酵液离心稀释后测定菌体生物量 OD600 值, 监测 24 小时内烟草青枯雷尔氏菌的数量。

2.2.2. SNP 对青枯菌生物被膜形成的影响

在 96 孔培养板中每孔加入 100 μL NB 带药培养液, 接种 10 μL 过夜培养烟草青枯雷尔氏菌菌液, 37°C 静置孵育 24 h, 重复 3 孔以上[20]。通过结晶紫染色法在 600 nm 处测定青枯菌生物被膜的形成能力[3]。以时间为横坐标、吸光度值为纵坐标绘制生物被膜示意图。

2.2.3. SNP 对青枯菌运动性的影响

在青枯菌侵染寄主植物根部及早期定殖过程中, 由鞭毛和菌毛介导的运动性是影响其毒力的重要因子之一[21]。分别用不同浓度梯度的 SNP 溶液处理青枯菌, 置于 30°C 、220 $\text{r} \cdot \text{min}^{-1}$ 摇床中过夜培养。吸取 8 μL 菌液滴加至半固体平板(SMM 培养基: $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ 2.0 g/L, MgSO_4 0.2 g/L, $\text{CaCl}_2 \cdot 2\text{H}_2\text{O}$ 0.01 g/L, FeSO_4 0.001 g/L, $\text{Na}_2\text{HPO}_4 \cdot 12\text{H}_2\text{O}$ 1.5 g/L, KH_2PO_4 1.5 g/L), 放于 30°C 恒温培养箱培养 2 d 后观察平板生长情况[22], 采用十字交叉法测量菌圈大小, 每个处理重复 3 次。

2.2.4. SNP 对青枯菌趋化性的影响

参照毛细管法[23]来评估趋化性, 以灭菌水为对照 CK 组, 试剂 A-D 为实验组。将内径为 0.3 mm 的玻璃毛细管插入试剂 A-D 中, 待毛细管中趋化液液面稳定后将毛细管的一端加热使其融化封闭。将毛细管插入 400 μL 菌体浓度为均 1.0×10^8 CFU/mL 的菌悬液当中。 37°C 培养 30 min 后, 将毛细管取出并用无菌水清洗表面后, 将毛细管中的液体吹至离心管中, 无菌水稀释 100 倍后取 100 μL 菌液涂布于含有 TTC 的 NA 固体培养基上, 于 30°C 下培养 24 h, 统计单菌落个数, 以平板中细菌数来衡量烟草青枯雷尔

氏菌趋化性反应的大小。

2.2.5. SNP 对烟草青枯菌在烟草根部定殖量的影响

参照胡珊[24]方法,对“小十字期”的烟苗连续3天喷施5 ml 试剂 A-D,以等量的灭菌水作为对照。接种等量的烟草青枯雷尔氏菌悬液(稀释浓度同上)于烟苗长至四叶一心时的根部。接菌后每间隔12 h 取烟株根部样品测定,取样三次进行混合。烟根用75%乙醇浸泡15 min 后用无菌水充分冲洗,放置离心管中使用组织研磨仪充分研磨,静置后上清液即为烟株根内菌悬浮液。于固体NA 平板冷却至50℃时添加TTC 活力显色剂(烟草青枯雷尔氏菌于平板上显淡红色),培养12 h 后进行菌种鉴定及菌落计数,计算单位重量下烟草根部的青枯菌含量。

2.2.6. 盆栽效果实验

为了探究外源添加 SNP 对烟草青枯病发病率的影响,通过选择添加5种不同浓度的 SNP (0 mmol/L、0.05 mmol/L、0.10 mmol/L、0.5 mmol/L、1 mmol/L)对烟草植株进行处理,每个浓度处理20株烟苗,设计重复实验。然后,在烟苗移栽3~4 d 后接种青枯病病原菌,采用灌根法,每株烟株用200 mL 浓度为 1×10^8 CFU/mL 的悬浮液进行处理[25]。在感染后第5天,计算各处理组的发病率、病情指数和相对防效,比较不同浓度药剂对烟草青枯菌的防治效果。

3. 结果与分析

3.1. SNP 对青枯病致病率影响

使用NA 平板,评估了不同浓度的 SNP 对青枯菌生长的抑制作用,实验时间为24小时(图1(A))。表1展示了 SNP 在24小时后抑菌圈直径情况,相比于CK,0 mmol/L、0.05 mmol/L、0.10 mmol/L、0.5 mmol/L、1 mmol/L 的 SNP 处理抑菌圈直径分别增加32.4%、56.7%、93.3%、129.6% (表1)。在摇瓶实验中(图1(B)),不同梯度 SNP 处理最终青枯菌 OD 值分别为2.98、1.92、1.44、0.58、0.31,在1.0 mmol/L 的浓度下,青枯菌细胞几乎完全失活,未见活性。这些数据表明,SNP 的抗菌作用随着浓度的变化而有所不同。生长曲线也计算了 SNP 的抗菌效力(图1(C))。在0.05、0.1、0.15 和 0.2 mmol/L 的浓度下,SNP 均抑制了青枯菌的生长,抑制效果随着 SNP 浓度的升高逐渐升高,而且在6小时的培养后,抑制效果最明显。

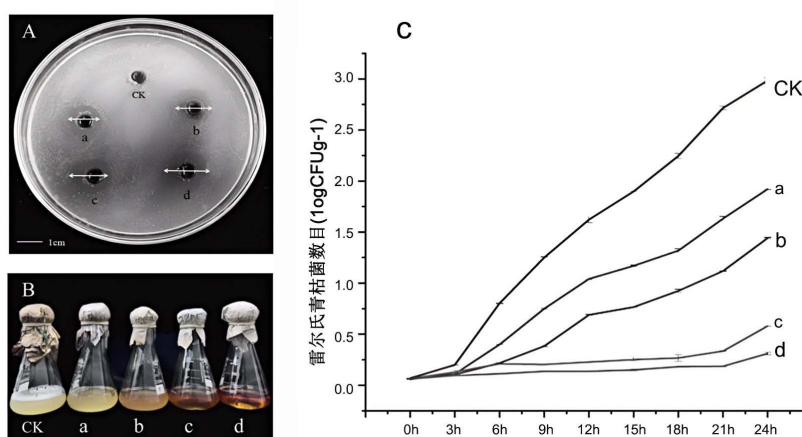


Figure 1. (A) Effects of different treatments on the inhibition zone diameter of *Ralstonia solanacearum*; (B) Effects of different treatments on the quantity of *Ralstonia solanacearum*; (C) Line graph of the growth curve of *Ralstonia solanacearum* at different concentrations of SNP

图 1. (A) 不同处理对青枯菌抑菌圈直径影响; (B) 不同处理对青枯菌数量的影响; (C) 不同浓度 SNP 对青枯菌生长曲线的折线图

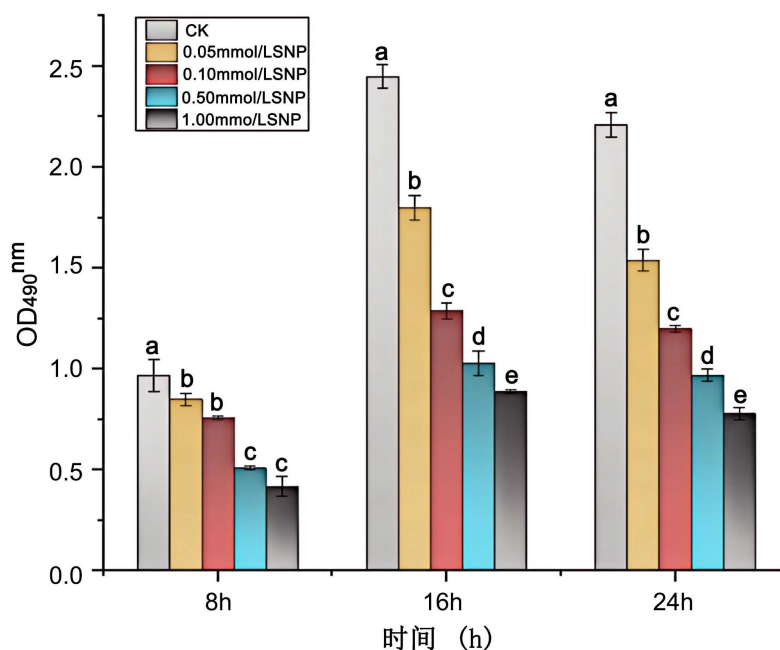
Table 1. Effects of different formulations of antimicrobial solutions on the inhibition zone diameter of *Ralstonia solanacearum***表 1.** 不同配方抑菌液对青枯菌抑菌圈直径的影响

分组	CK	0.05 mmol/L SNP	0.1 mmol/L SNP	0.5 mmol/L SNP	1 mmol/L SNP
抑菌圈直径(mm)	7 ± 0 d	9.97 ± 0.12 c	10.97 ± 0.56 c	13.53 ± 0.21 b	16.07 ± 0.5 a

3.2. SNP 对青枯菌生物被膜形成的影响

在 0.05、0.1、0.5 和 1.0 mmol/L 浓度下, 分别在 8 小时、16 小时和 24 小时后, 评估了 SNP 对青枯菌生物膜形成的影响(图 2)。所有处理组的生物膜生物量在 8 到 16 小时之间增加, 16 到 24 小时之间下降。对照组(CK, 0.0 mmol/L)的生物膜形成显著高于 SNP 处理组的各个浓度。具体而言, 0.05 和 0.1 mmol/L 的 SNP 处理降低了生物膜的形成, 而 0.5 和 1.0 mmol/L 的高浓度处理则显著抑制了生物膜的形成量。

在 16 小时时, 0.5 和 1.0 mmol/L 处理组分别减少了 57.96% 和 63.67% 的生物膜形成量; 在 24 小时时, 这两个处理组的生物膜形成量与对照组相比分别减少了 75.57% 和 82.53%。这些数据表明, SNP 对青枯菌生物膜的形成具有显著的抑制作用, 且其抑制效果随着浓度的增加而增强。

**Figure 2.** Effects of SNP treatment on the biofilm of *Ralstonia solanacearum* at different times**图 2.** 不同时间下 SNP 处理对青枯菌生物被膜的影响

3.3. SNP 对青枯菌运动性的影响

在形态上, 青枯菌的菌体呈短杆状, 长度一般为 0.5~1.5 μm, 通常有 1~3 根鞭毛, 这些鞭毛有助于其在液体或半固体培养基中的运动与从动[26]。在 2 d 后, 可得到青枯菌在半固体培养基运动直径(图 3), 由表 2 可得出在未加 SNP 时, 青枯菌运动直径最大, 为 21.17 mm, 而在 0.05 mmol/L、0.10 mmol/L、0.5 mmol/L、1 mmol/L SNP 培养基中, 运动直径分别减少 19.84%、25.22%、60.46%、72.46%, 结果表明 SNP 可通过影响青枯菌鞭毛运动进而影响其直径大小。

Table 2. Effects of different formulations of bacteriostatic solutions on the motility of *Ralstonia solanacearum*
表 2. 不同配方抑菌液对青枯菌运动直径的影响

分组	CK	0.05 mmol/L SNP	0.1mmol/L SNP	0.5mmol/L SNP	1 mmol/L SNP
运动直径(mm)	21.17 ± 0.58 a	16.97 ± 0.24 b	15.83 ± 0.54 b	8.37 ± 0.29 c	5.83 ± 0.77 d

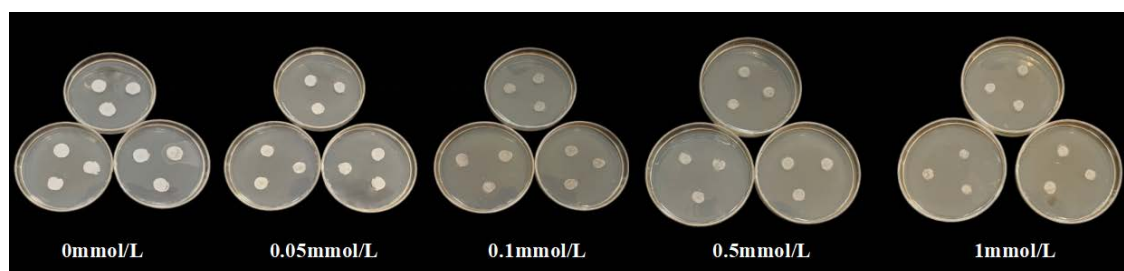


Figure 3. Visual representation of the effects of different formulations of bacteriostatic solutions on the motility of *Ralstonia solanacearum*

图 3. 不同配方抑菌液对青枯菌运动性的直观图

3.4. SNP 对青枯菌趋化性的影响

图 4 中显示了不同浓度的硝普钠(SNP)对青枯菌趋化性的影响。从表 3 数据中可以看出, 随着 SNP 浓度的增加, 青枯菌的生长情况呈现显著变化, 体现了 SNP 对青枯菌趋化性的抑制作用。

在不添加 SNP 的对照组(CK)中, 青枯菌的菌量达到 $1601.33 \pm 122.55 \text{ CFU} \times 10^2/\text{ml}$, 菌落分布较为密集, 说明在无抑制剂的环境下青枯菌能够正常生长。添加 0.05 mmol/L SNP (组 A)后, 菌量减少至 $284.67 \pm 25.77 \text{ CFU} \times 10^2/\text{ml}$, 较对照组减少约 82.2%, 但仍维持较为均匀的分布, 表明此浓度的 SNP 对青枯菌的抑制作用较弱, 趋化性受到一定影响。在 0.1 mmol/L 浓度(组 B)下, 青枯菌的菌量显著减少至 $103.67 \pm 12.55 \text{ CFU} \times 10^2/\text{ml}$, 较对照组减少约 93.5%, 表现出更显著的抑制效果, 趋化性明显下降, 这说明 0.1 mmol/L 可能是 SNP 对青枯菌趋化性产生显著影响的阈值浓度。随着 SNP 浓度进一步提高至 0.5 mmol/L (组 C), 菌量大幅下降至 $11.67 \pm 2.49 \text{ CFU} \times 10^2/\text{ml}$, 较对照组减少约 99.3%, 青枯菌趋化性进一步被显著抑制, 表明 SNP 浓度的增加对青枯菌的抑制作用逐渐增强。而在 1 mmol/L 的高浓度 SNP (组 D)条件下, 菌量进一步减少至 $4.33 \pm 2.36 \text{ CFU} \times 10^2/\text{ml}$, 与对照组相比减少了约 99.7%, 几乎没有观察到青枯菌菌落, 表明趋化性几乎完全被抑制, SNP 对青枯菌表现出极强的抑制效果。

由此可见, 随着 SNP 浓度的增加, 青枯菌的趋化性逐渐减弱, 在 1 mmol/L 浓度下趋化性几乎完全被抑制。这表明 SNP 对青枯菌的趋化性具有显著的浓度依赖性抑制效果。



Figure 4. Plate diagram showing the chemotaxis of *Ralstonia solanacearum* to different formulations of bacteriostatic solutions

图 4. 不同配方抑菌液对青枯菌趋化性的平板图

Table 3. Effects of different formulations of bacteriostatic solutions on the chemotaxis of *Ralstonia solanacearum*
表 3. 不同配方抑菌液对青枯菌趋化性的影响

分组	CK	0.05 mmol/L SNP	0.1 mmol/L SNP	0.5 mmol/L SNP	1 mmol/L SNP
菌(CFU × 10 ² /ml)	1601.33 ± 122.55 a	284.67 ± 25.77 b	103.67 ± 12.55 c	11.67 ± 2.49 c	4.33 ± 2.36 c

3.5. SNP 对烟草青枯菌在烟草根部定殖量的影响

本实验结果显示, 在接菌 24 h 时, 不同浓度的硝普钠(0 mmol/L、0.05 mmol/L、0.10 mmol/L、0.5 mmol/L、1 mmol/L)处理的根部含青枯菌量(见图 5)分别为 10.17×10^5 CFU/ml、 7.87×10^5 CFU/ml、 4.53×10^4 CFU/ml、 1.63×10^4 CFU/ml 和 1.17×10^3 CFU/ml (见表 4), 不同处理样品之间无显著性差异。其中, 添加 1 mmol/L 的硝普钠效果最为显著, 相比于对照组, 其在 24 h 时使青枯菌在烟草根部定殖的数量下降 88.50%。从而说明, 添加硝普钠能显著地抑制青枯菌在烟草根部的定殖, 进而大大地降低了青枯菌对烟草的致病率。

Table 4. Effects of different formulations of bacteriostatic solutions on the colonization of bacteria in tobacco roots
表 4. 不同配方抑菌液对烟草根部定殖菌量的影响

分组	CK	0.05 mmol/L SNP	0.1 mmol/L SNP	0.5 mmol/L SNP	1 mmol/L SNP
菌量(CFU/ml)	10.17×10^5	3.87×10^5	4.53×10^4	1.63×10^4	1.17×10^3

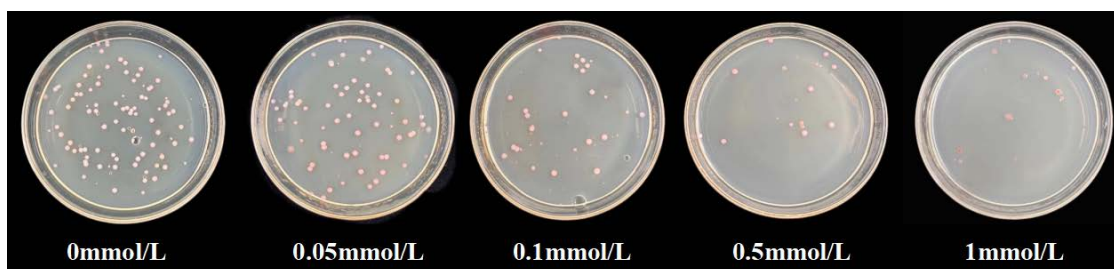


Figure 5. Visual representation of the colonization of *Ralstonia solanacearum* in tobacco roots by different formulations of bacteriostatic solutions

图 5. 不同配方抑菌液对青枯菌在烟草根部定殖的直观图

3.6. 盆栽效果实验

Table 5. Effects of different formulations of bacteriostatic solutions on the disease index of tobacco
表 5. 不同配方抑菌液对烟草病情指数的影响

处理	发病率(%) Disease incidence (%)	病情指数 Disease index	相对防效(%) Control efficacy (%)
CK	95.00 ± 5.00 a	7.57 ± 0.08 a	
0.05 mmol/L	85.00 ± 4.08 b	5.48 ± 0.02 b	27.53 ± 0.31 a
0.10 mmol/L	83.33 ± 2.36 b	4.23 ± 0.08 c	44.05 ± 1.12b
0.50 mmol/L	73.33 ± 4.71 c	3.43 ± 0.37 d	54.63 ± 4.90 c
1.00 mmol/L	71.67 ± 2.36 c	3.20 ± 0.11 d	57.71 ± 1.43 c

该实验通过评估不同浓度 SNP 对烟草青枯病的烟草田控制效果, 可发现控制组的病害发生率(I)和病

害指数(DI)明显高于 SNP 处理组。随着 SNP 浓度从 0.05 mmol/L 增加到 1.00 mmol/L, 病害发生率(I)从 85.00% 逐渐下降到 71.67%, 病害指数(DI)从 5.48 降至 3.20。随着 SNP 浓度的增加, 控制效果逐渐增强。所有结果表明, 施用 SNP 能够有效减少青枯菌的发生率(I)和病害指数(DI), 其相对防效高达 57.71% (见表 5)。

4. 结论

本研究系统评估了硝普钠(Sodium Nitroprusside, SNP)对烟草青枯菌(*Ralstonia solanacearum*)的抑制作用, 并探讨了其作为生物防治剂的潜力。研究通过一系列实验, 包括平板抑菌、摇瓶发酵、生物膜形成、运动性、趋化性以及植物根部定殖量和盆栽实验等, 全面分析了 SNP 在不同浓度下对青枯菌的影响。实验结果表明, SNP 在高浓度下对青枯菌具有显著的抑制作用, 并且这种抑制作用呈现浓度依赖性。具体而言, 在 1 mmol/L 浓度下, SNP 对青枯菌的生长、菌体生物膜的形成、运动性和趋化性等均有明显抑制作用。此外, SNP 还显著减少了青枯菌在烟草根部的定殖量, 并有效降低了烟草青枯病的发病率和病情指数。

综上所述, 硝普钠不仅在体外实验中展示了良好的抑菌效果, 还在盆栽实验中验证了其在实际应用中的潜力。因此, 硝普钠作为一种潜力巨大的植物生长调节剂, 具有成为青枯病生物防治剂的可行性, 为未来青枯病的防治提供了新的思路 and 理论依据。

5. 讨论

5.1. SNP 对青枯菌抑制作用的机制探讨

本研究的结果表明, SNP 在较高浓度下显著抑制了青枯菌的生长, 并对其生物膜形成、运动性和趋化性等方面产生了明显的抑制作用。生物膜的形成是青枯菌致病性的重要因素, 能提高其在植物表面的定殖能力和耐药性。SNP 对生物膜的抑制可能通过改变青枯菌的细胞膜结构或影响其信号转导通路来实现。此外, SNP 对青枯菌运动性和趋化性的抑制可能通过影响细胞壁合成或其他代谢途径, 从而减缓病菌的定殖和扩散。

虽然已有研究表明 SNP 可以增强植物的抗逆性[16] [17], 但其对病原菌的直接抑制作用尚不完全明确。我们的研究首次展示了 SNP 在不同浓度下对青枯菌的浓度依赖性抑制效应, 这为进一步探讨 SNP 对病原菌的抑制机制提供了实验依据。

5.2. SNP 对植物的影响与潜在应用

除了对青枯菌的直接抑制作用外, SNP 作为植物生长调节剂的应用也值得关注。在本研究中, SNP 不仅有效抑制了青枯菌, 还显著降低了烟草青枯病的发病率和病情指数, 这表明 SNP 不仅能直接作用于病原菌, 还可能通过增强植物的抗病能力来间接提高植物的抗病性。SNP 通过调节植物的抗氧化酶系统、促进植物的生长发育等机制, 提升了植物对青枯菌的耐受力。因此, SNP 不仅具备作为生物防治剂的潜力, 还可能成为一种有前景的植物抗病性提升剂。

5.3. SNP 浓度对抑制效果的影响

本研究发现, SNP 的抑制效果呈浓度依赖性, 尤其在 1 mmol/L 浓度下表现出最显著的抑制作用。随着 SNP 浓度的增加, 其对青枯菌的抑制作用更加明显。然而, 在浓度过高时, 是否会对植物本身造成负面影响仍需要进一步的研究。未来的工作可以探索不同浓度 SNP 对不同植物的影响, 并优化其应用剂量, 以确保其在生物防治中的有效性和安全性。

5.4. 研究的局限性与未来展望

尽管本研究为 SNP 在青枯病防治中的应用提供了初步的实验数据, 但仍有一些局限性。首先, 本研

究主要集中在体外和盆栽实验中, 未来应在更大规模的田间试验中验证 SNP 的效果, 确保其在实际应用中的稳定性和可行性。其次, 尽管 SNP 在实验中表现出较强的抑制作用, 但其具体作用机制仍需要进一步深入研究。未来的工作可以通过基因表达分析、蛋白质组学等方法, 进一步揭示 SNP 对青枯菌的具体作用机制, 推动其作为生物防治剂的开发。

综上所述, 本研究为硝普钠作为青枯菌生物防治剂的应用提供了初步的理论基础, 并为后续研究和实际应用提供了有价值的数据库支持。未来的研究应聚焦于优化 SNP 的使用方法, 提升其在实际生产中的效果, 并结合其他生物防治措施, 探索综合防治策略, 以实现更广泛的应用。

基金项目

中国烟草总公司科技重大专项项目[110202101059(XJ-08), 110202201040(XJ-11)]; 湖北省烟草公司科技项目(027Y2021-001)。

参考文献

- [1] 韩菲菲, 贺鸣, 杨松, 等. 细菌分泌系统与茄科雷尔氏菌致病机理的关系研究进展[J]. 农药学报, 2012, 14(2): 115-124.
- [2] 刘颖, 谭万忠, 丁伟. 我国烟草青枯菌的种下多样性及统一用名问题商榷[J]. 植物医生, 2019, 32(6): 12-17.
- [3] Yu, J., Wang, F., Shen, Y., Yu, F., Qiu, L., Zhang, L., *et al.* (2022) Inhibitory Effect of Ficin on Candida Albicans Biofilm Formation and Pre-Formed Biofilms. *BMC Oral Health*, **22**, Article No. 350. <https://doi.org/10.1186/s12903-022-02384-y>
- [4] 席宁博, 王硕, 李婷婷, 等. 噬菌体-有益菌协同消减土壤青枯菌生物障碍的效应初探[J/OL]. 土壤学报, 1-12. <http://kns.cnki.net/kcms/detail/32.1119.p.20240909.1120.002.html>, 2024-12-18.
- [5] Cheng, D., Zhou, D., Wang, Y., Wang, B., He, Q., Song, B., *et al.* (2021) Ralstonia Solanacearum Type III Effector RipV2 Encoding a Novel E3 Ubiquitin Ligase (NEL) Is Required for Full Virulence by Suppressing Plant Pamp-Triggered Immunity. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, **550**, 120-126. <https://doi.org/10.1016/j.bbrc.2021.02.082>
- [6] Jiang, G., Wei, Z., Xu, J., Chen, H., Zhang, Y., She, X., *et al.* (2017) Bacterial Wilt in China: History, Current Status, and Future Perspectives. *Frontiers in Plant Science*, **8**, Article 1549. <https://doi.org/10.3389/fpls.2017.01549>
- [7] 韩长志. 植物与病原菌互作理论研究进展[J]. 河南农业科学, 2012, 41(11): 5-8.
- [8] Yuliar Nion, Y.A. and Toyota, K. (2015) Recent Trends in Control Methods for Bacterial Wilt Diseases Caused by *ralstonia Solanacearum*. *Microbes and environments*, **30**, 1-11. <https://doi.org/10.1264/jisme2.me14144>
- [9] Perera-Rios, J., Ruiz-Suarez, E., Bastidas-Bastidas, P.d.J., May-Euán, F., Uicab-Pool, G., Leyva-Morales, J.B., *et al.* (2021) Agricultural Pesticide Residues in Water from a Karstic Aquifer in Yucatan, Mexico, Pose a Risk to Children's Health. *International Journal of Environmental Health Research*, **32**, 2218-2232. <https://doi.org/10.1080/09603123.2021.1950652>
- [10] Negatu, B., Dugassa, S. and Mekonnen, Y. (2021) Environmental and Health Risks of Pesticide Use in Ethiopia. *Journal of Health and Pollution*, **11**, Article ID: 210601. <https://doi.org/10.5696/2156-9614-11.30.210601>
- [11] 平原野, 席伟, 宋宗余, 等. 绿色转型下的河南烟草经济: 挑战与机遇[J]. 内蒙古科技与经济, 2024(17): 41-43, 48.
- [12] 谢晶, 覃子倚, 潘家丽, 等. 基于主成分分析的硝普钠处理对采后荔枝活性氧代谢的影响[J]. 食品科学, 2022, 43(9): 192-198.
- [13] 李琳, 方爱华, 亢亚超, 等. 硝普钠-酸铝互作对红锥幼苗生长的影响及其综合评价[J]. 广西林业科学, 2020, 49(2): 186-191.
- [14] 张凯伦, 陈寿明, 殷红, 等. 外源一氧化氮对盐胁迫下烟草幼苗生理及抗氧化性的影响[J]. 作物杂志, 2018(3): 123-128.
- [15] 武茜, 张世芳, 王馨茹, 等. 硝普钠对谷子烯禾啉药害的缓解效应[J]. 植物保护, 2024, 50(2): 137-143.
- [16] 石金鑫. 硝普钠调控葡萄果实抗两种致病真菌的研究[D]: [硕士学位论文]. 石河子: 石河子大学, 2022.
- [17] 陈延儒, 葛永红, 魏美林, 等. 硝普钠对粉红单端孢的离体抑菌作用[J]. 食品科技, 2018, 43(11): 19-24.

- [18] 谭才邓, 朱美娟, 杜淑霞, 等. 抑菌试验中抑菌圈法的比较研究[J]. 食品工业, 2016, 37(11): 122-125.
- [19] 杨小琼, 余君, 周文, 等. 邻苯二甲酸二丁酯降解菌对烟草青枯病的抑制作用[J]. 烟草科技, 2020, 53(4): 20-28.
- [20] 王巧玉, 甄明哲, 张年洁, 等. 槲皮素对沙门菌生物被膜形成的抑制作用研究[J]. 中国畜牧兽医, 2024, 51(11): 5043-5050.
- [21] 皮静, 严培文, 杜博兴, 等. 青枯雷尔氏菌运动性相关研究进展[J]. 植物医生, 2020, 33(5): 18-21.
- [22] 史惠聪, 王思怡, 刘梦圆, 等. 桑树根系分泌物鉴定及其主要活性物质对桑树青枯菌生长的影响研究[J]. 植物生理学报, 2024, 60(9): 1475-1485.
- [23] 杨姗姗, 孙柏欣, 王铁霖, 等. 西瓜嗜酸菌趋化性的初步研究[J]. 植物保护, 2016, 42(3): 161-164, 189.
- [24] 胡珊. 烟碱对贝莱斯芽胞杆菌在烟草根部定殖调控机制研究[D]: [硕士学位论文]. 贵阳: 贵州大学, 2023.
- [25] 施春兰, 吴国星, 赵长飞, 等. 球孢白僵菌和爪哇虫草菌对烟草青枯病的防治效果[J]. 微生物学通报, 2024, 51(8): 2974-2985.
- [26] 席超越, 陈丽妃. 番茄青枯病原菌生物学特性及致病机制研究进展[J]. 现代农业科技, 2024(17): 94-100.