

doi:10.11937/bfyy.20233332

潘越, 司红波, 潘宇伟, 孙永莲. 等离子体活化水对根癌土壤杆菌的抑制作用及其对樱花根癌病的防治[J]. 北方园艺, 2024(09):54-61.

# 等离子体活化水对根癌土壤杆菌的抑制作用及其对樱花根癌病的防治

潘越<sup>1</sup>, 司红波<sup>2</sup>, 潘宇伟<sup>1</sup>, 孙永莲<sup>1</sup>

(1. 南京林业大学 实验室与基地建设管理处, 江苏 南京 210037; 2. 南京林业大学 后勤管理处, 江苏 南京 210037)

**摘要:**以樱花幼苗为试材,使用低温等离子体活化水冷杀菌技术(PAW)对樱花幼苗及其病原菌进行处理,研究了PAW对樱花苗木的抗病作用,以期PAW在樱花根癌病防治中的应用提供参考依据。结果表明:等离子体活化水能有效地抑制樱花根癌病菌 *Agrobacterium tumefaciens* 的生长,其可以对 *Agrobacterium tumefaciens* 的细胞结构造成破坏。CK组樱花幼苗的根瘤发生率为100%,根瘤的平均直径为18.8 mm,处理后的幼苗发病率为56.7%,根瘤的平均直径为8.4 mm。此外,PAW可以提高樱花根系多酚氧化酶(PPO)和苯丙氨酸解氨酶(PAL)及超氧化物歧化酶(SOD)活性的表达,激活樱花植株的抗性。综上,PAW具有一定的生物防治潜力,可以防御樱花根癌病。

**关键词:**樱花;根癌病;*Agrobacterium tumefaciens*;等离子体活化水

中图分类号:S 474 文献标识码:A 文章编号:1001-0009(2024)09-0054-08

樱花(*Cerasus* spp.)是我国重要的观赏树种,因花型秀丽、花量丰满深受人们喜爱,已被广泛用于美化绿化带,如公园、学校、社区和道路,成为我国早春主要观赏花木之一。近年来,国内对樱花树苗的需求不断增加,樱花苗木产业具有广阔的商业推广前景<sup>[1]</sup>。

根癌病是由根癌土壤杆菌引起的全球性植物细菌性疾病,该病的寄主范围包括93科331属643种植物<sup>[2-3]</sup>,好发于植物幼苗,在樱花中尤为

常见。根癌土壤杆菌可导致樱花发生根瘤,并使植物叶片变黄枯萎,花朵产量和观赏价值下降,甚至导致樱花植株死亡<sup>[4]</sup>。根癌土壤杆菌可以在土壤中中长期存活,并通过伤口入侵植物,这种细菌性疾病通过土壤传播和幼苗移植传播<sup>[5]</sup>。在南京林业大学白马基地樱花苗圃早期调查中发现,樱花根癌病发病率最高可达到66%,对樱花苗圃造成毁灭性破坏。

目前,化学防治仍然是樱花病害的主要防治手段,但化学农药造成的土壤、水和空气污染已成为影响人类健康和可持续发展的重要因素。用于植物病害控制的化学制剂逐渐被要求控制使用<sup>[6]</sup>,因此,寻求绿色清洁的植物病害防治技术成为园艺工作人员的研究重点。低温等离子体活化水冷杀菌技术(PAW)作为一种新型的清洁抗菌技术,具有处理时间短、温度变化小、能耗低、抗菌效果好、无污染等特点。前人研究表明,低温等离子体不仅能有效杀灭致病微生物<sup>[7]</sup>、孢子<sup>[8]</sup>及病

**第一作者简介:**潘越(1988-),女,博士研究生,助理研究员,现主要从事苗木抗病等研究工作。E-mail:799092953@qq.com.

**责任作者:**司红波(1978-),男,硕士,副研究员,现主要从事苗木基地建设与管理等研究工作。E-mail:308491942@qq.com.

**基金项目:**国家重点研发计划资助项目(2019YFD1002300);江苏高校哲学社会科学资助项目(2023SJYB0161)。

**收稿日期:**2023-09-27

毒<sup>[9]</sup>,还能降解农药残留<sup>[10]</sup>,已被广泛应用于采后果蔬病害防控及食品保鲜领域。鉴于其显著的杀菌效果及农药降解作用,PAW 在植株生长抗病方面具有广阔的应用前景,但目前相关研究鲜有报道。该研究使用 PAW 对 *Agrobacterium tumefaciens* 进行处理并对樱花幼苗及栽培土壤进行了 PAW 喷雾处理,以确定 PAW 对 *Agrobacterium tumefaciens* 的抑制作用及作用机制,探究 PAW 对 *Agrobacterium tumefaciens* 及樱花根癌病的影响,为 PAW 在樱花根癌病防治应用中提供参考依据。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

根癌土壤杆菌(*Agrobacterium tumefaciens*)购自上海保藏生物技术中心(SHBCC D17885)。试验用土取自南京林业大学白马基地樱花苗圃,土壤类型为黄壤。将土样筛除石头、枯草等杂物后装入直径为 30 cm、高为 20 cm 的育苗容器中。供试植物为一年生樱花幼苗,购自江苏常州。

### 1.2 试验方法

#### 1.2.1 PAW 的制备

采用低温等离子体射流制备 PAW。电压:5 kV;功率:600 W;空气流速:30 L·min<sup>-1</sup>。

#### 1.2.2 菌悬液的制备

将购得的 *Agrobacterium tumefaciens* 转移至新鲜 LB 琼脂培养基中,划线传代得到单菌落,用接种环挑取单菌落于液体培养基中(TSB),摇床培养 12 h(37 °C,150 r·min<sup>-1</sup>),菌液过滤清洗后重悬于 0.9% 生理盐水中,菌液浓度调整为 10<sup>6</sup> CFU·mL<sup>-1</sup>。

#### 1.2.3 PAW 处理

分别用不同放电时间制备的 PAW(30、60、90 s)处理菌液 3 min,不同时间制备的 PAW 分别记为 PAW<sub>30</sub>、PAW<sub>60</sub>和 PAW<sub>90</sub>。将处理后的菌液进行梯度稀释涂板,置于 37 °C 培养箱中培养 24 h 后进行菌落计数。

#### 1.2.4 菌体细胞大小测定

使用流式细胞仪检测细菌细胞大小分布情况<sup>[11]</sup>。洗涤后,将无菌磷酸盐缓冲盐水加入菌悬液中。然后加入碘化丙啶,对死细胞中的核酸进

行染色。用 488 nm 蓝光激发和荧光通道对染色的细菌悬浮液进行流式细胞仪分析,检测碘化丙啶的荧光强度。样品流速约为 100 个细胞·s<sup>-1</sup>,在分析过程中从每个样品中收集了 8 000 ~ 10 000 个细胞。使用 FACSTM 1.0.0.650 软件进一步进行数据分析,并绘制前向散射(FSC)和侧散射(SSC)点图。

#### 1.2.5 细胞微观形态观察

将处理后的菌悬液离心 10 min(4 °C,8 500 r·min<sup>-1</sup>),弃上清液,洗涤后加入 2.5% 戊二醛固定液于 4 °C 固定 12 h,离心 2 min(4 °C,14 000 r·min<sup>-1</sup>),弃上清液,使用 PBS 洗涤 2 次,用 10%、30%、50%、70%、80%、90%、100% (v/v)的乙醇溶液分别对菌液逐级洗脱,最终用乙酸异戊酯置换乙醇 2 次后离心,去上清液,吸取少量菌体过夜烘干。使用扫描电子显微镜观察处理后 *Agrobacterium tumefaciens* 的细胞微观形态<sup>[12]</sup>。

#### 1.2.6 细菌 DNA 损伤测定

使用 PAW 处理后,将菌悬液进行离心并洗涤,使用 DNA 提取试剂盒提取细菌总 DNA。通过在 1% 琼脂糖凝胶上电泳(120 V,100 mA)15 min 来检测和观察细菌的 DNA 损伤情况。

#### 1.2.7 温室生防试验

试验在南京林业大学白马基地温室开展。将购买的樱花幼苗移栽至花盆中,待其生长稳定后接种病原菌根癌土壤杆菌。处理使用 PAW<sub>60</sub>对樱花幼苗及土壤进行喷雾处理,对照(CK)使用普通灌溉水进行喷雾处理,每 5 d 处理 1 次,持续 30 d。每个试验组各 12 株樱花幼苗。

#### 1.2.8 樱花生长情况测定

使用卷尺和游标卡尺对各组樱花株高与胸径进行测量。株高净增长量=落叶后株高一试验前株高;胸径净增长量=落叶后胸径-试验前胸径。

#### 1.2.9 樱花发病状况测定

在樱花落叶后进行防治效果测定,统计樱花根癌病发病状况,计算发病率并统计根瘤数量及大小。

#### 1.2.10 樱花防御相关酶活性检测

收集不同试验处理后第 30 天的樱花根系,每组取 3 株,用蒸馏水洗净后研磨,采用试剂盒测定樱花根部超氧化物歧化酶(SOD)、多酚氧化酶(PPO)和苯丙氨酸解氨酶(PAL)的活性<sup>[13]</sup>。

### 1.3 数据分析

各处理3次重复,试验数据以平均值表示。使用SPSS 20.0软件分析数据,使用Duncan氏新复极差法多范围检验评估差异的显著性, $P < 0.05$ 表示显著差异;使用OriginPro 2021软件绘图。

## 2 结果与分析

### 2.1 PAW对 *Agrobacterium tumefaciens* 的杀菌效果

由图1可知,与CK相比,经PAW处理后, *Agrobacterium tumefaciens* 的存活数量显著下降( $P < 0.05$ ),放电30、90、90 s制备的PAW处

理菌悬液5 min后,菌落数分别减少了4.97、5.86 lg CFU · mL<sup>-1</sup>和6.02 lg CFU · mL<sup>-1</sup>,在一定范围内随着放电时间的延长,杀菌效果增强(表1)。前人研究发现随着等离子体放电时间的增加,等离子体活化水中的ROS等活性物质随之增加,这些活性物质可能是导致细菌失活的重要因素<sup>[14]</sup>。另一方面,PAW具有较低的pH,可能是因为酸碱度的变化改变了微生物的生长环境,从而导致部分细菌无法适应而死亡。考虑到放电时间延长会增加能耗并提高活化水温度,因此后续试验选用PAW<sub>60</sub>处理 *Agrobacterium tumefaciens* 及樱花幼苗。

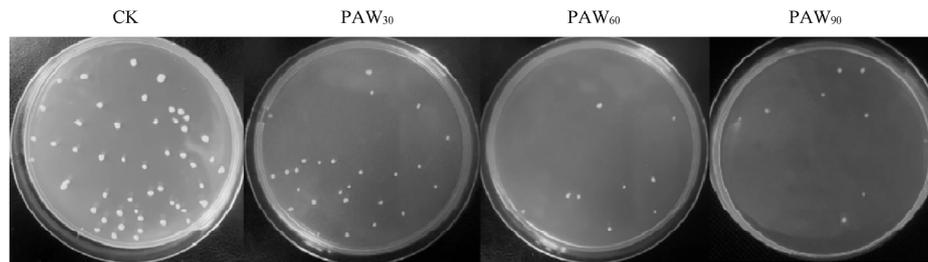


图1 不同放电时间的PAW对 *Agrobacterium tumefaciens* 菌落数的影响

Fig. 1 Effects of PAW with different discharge time on the colony number of *Agrobacterium tumefaciens* bacteria

表1 PAW对 *Agrobacterium tumefaciens* 菌落数的影响

Table 1 Effects of PAW on the number of *Agrobacterium tumefaciens* colonies

样品 Sample	菌落数 Colony /(lg CFU · mL <sup>-1</sup> )	菌落半径增长率 Growth of colony radius /(cm · d <sup>-1</sup> )
CK	10.20 ± 0.65a	0.28 ± 0.05a
PAW <sub>30</sub>	5.23 ± 0.31b	0.25 ± 0.09a
PAW <sub>60</sub>	4.34 ± 0.28c	0.24 ± 0.11a
PAW <sub>90</sub>	4.18 ± 0.37c	0.21 ± 0.06a

注:PAW<sub>30</sub>、PAW<sub>60</sub>和PAW<sub>90</sub>分别表示30、60、90 s放电时间制备的PAW。不同小写字母表示差异显著( $P < 0.05$ )。下同。

Note: PAW<sub>30</sub>, PAW<sub>60</sub> and PAW<sub>90</sub> represent PAW prepared with discharge times of 30 seconds, 60 seconds, and 90 seconds, respectively. Different lowercase letters indicate significant differences ( $P < 0.05$ ). The same as below.

### 2.2 细菌微观形态观察

由图2可知,CK *Agrobacterium tumefaciens* 呈长椭圆形状,表面光滑,形态完整;处理组的细菌细胞表面出现皱缩和形态变化,并出现明显的内物质泄露。XIANG等<sup>[15]</sup>发现PAW处理

破坏了假单胞菌的细胞形态。结果表明,PAW处理会导致细菌细胞形态发生变化,并使其内容物泄露,从而抑制细菌生长。

试验进一步用透射电镜观察了PAW处理后细菌细胞膜和细胞质的变化。由图2可知,未处理的细菌细胞质是平衡的,细胞膜完整光滑,结构紧凑。相比之下,许多PAW处理的细菌细胞膜变得模糊,甚至完全溶解。此外,可见PAW处理后细胞质存在渗漏的情况,并且可以观察到一些不完整和破碎的细胞,表明细胞发生了裂解。PAW处理后细菌的细胞核还发生了明显变形。先前的研究表明,冷等离子体可以通过破坏微生物的DNA来抑制微生物生长<sup>[16]</sup>。在等离子体活化水中存在许多活性物质,如过氧化物、OH<sup>-</sup>等,会影响微生物的细胞膜脂质和遗传物质。这些活性氧和活性氮物种是在等离子体处理中发挥抗菌作用的主要因素<sup>[17-18]</sup>。根据TEM分析,可以推测PAW处理可能通过破坏细菌的细胞膜和细胞核来灭杀细胞。

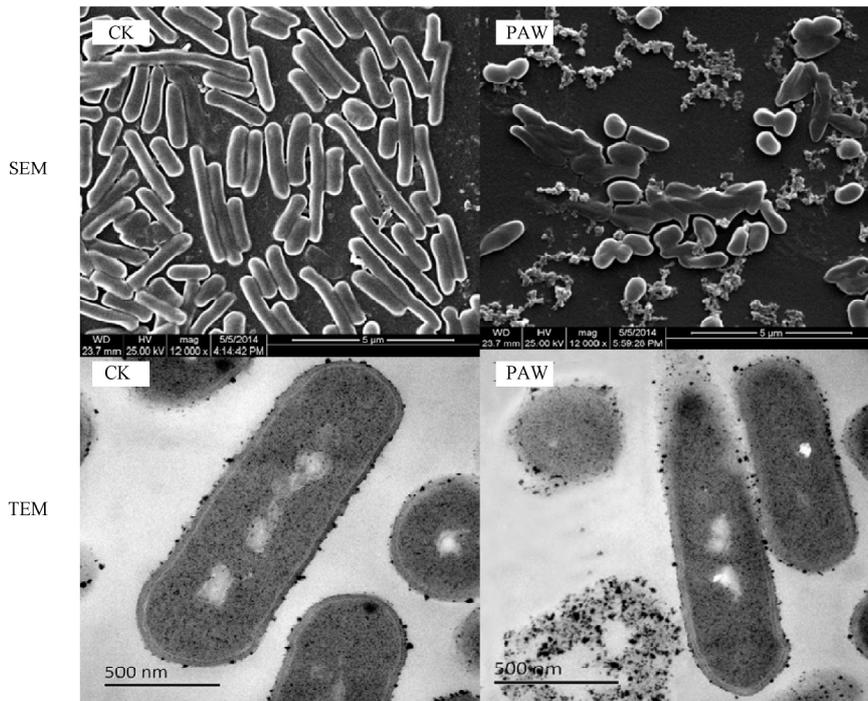


图 2 PAW 处理前后 *Agrobacterium tumefaciens* 的微观形态

Fig 2 Micromorphology of *Agrobacterium tumefaciens* before and after PAW treatment

### 2.3 PAW 对 *Agrobacterium tumefaciens* 细胞大小的影响

由图 3 可知,经 PAW 处理后 FSC 和 SSC 参数发生了变化 ( $P < 0.05$ )。用 PAW<sub>60</sub> 处理的 *Agrobacterium tumefaciens* FSC 值 ( $1.35 \times 10^4$ ) 显著低于 CK ( $1.69 \times 10^4$ ), SSC 值同样变小。已有研究证实, FSC 和 SSC 的强度反映了孢子大小和细胞内密度; 该值越高, 孢子大小越大, 细胞内密度越高<sup>[19]</sup>。因此, 试验数据表明, PAW 处理可以使细菌细胞变小, 并降低了其细胞密度。这一

结果与 SEM 观察结果一致, 进一步证实了 PAW 处理对细菌细胞形态的影响。

### 2.4 细菌 DNA 损伤情况

为了进一步验证 PAW 处理对 *Agrobacterium tumefaciens* 细胞 DNA 的损伤, 对处理前后 *Agrobacterium tumefaciens* 的基因组 DNA 进行了提取和分析。由图 4 可知, 在 PAW 处理后, 电泳带的宽度变得更小和更暗, 表示细胞基因组总 DNA 的浓度降低, 即基因组 DNA 被降解而稀

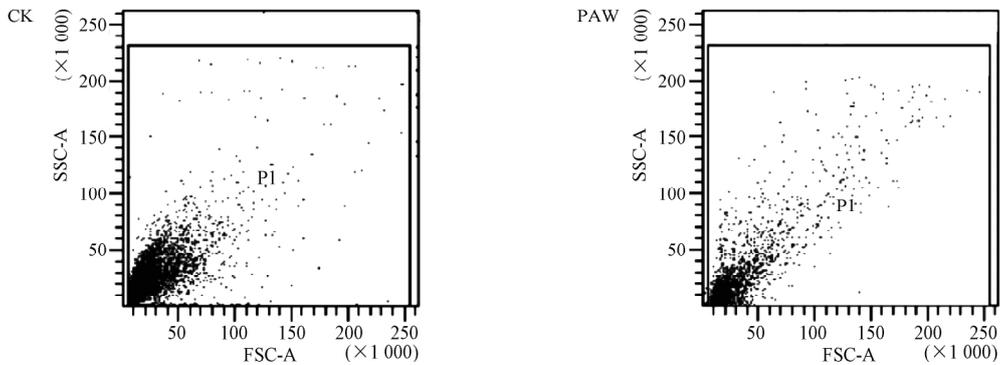


图 3 PAW 处理前后 *Agrobacterium tumefaciens* 的 FSC 与 SSC 点图

Fig 3 FSC and SSC dot plots of *Agrobacterium tumefaciens* before and after PAW treatment

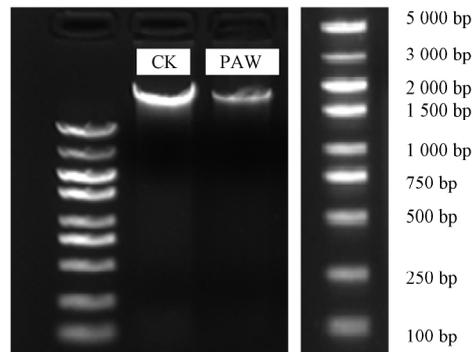


图4 *Agrobacterium tumefaciens* 总 DNA 电泳图

Fig. 4 Electrophoresis of DNA from *Agrobacterium tumefaciens*

释<sup>[20]</sup>。电泳图上没有发现低分子带,可能是因为降解的片段太小或浓度太低而无法检测,也可能是降解后的 DNA 片段通过损坏的细胞膜泄漏到了胞外。DNA 提取试验证实,PAW 处理会破坏 *Agrobacterium tumefaciens* 的基因组 DNA。因此,DNA 损伤可能是 PAW 处理导致细菌失活的主要原因之一。

## 2.5 PAW 处理前后樱花苗木生长情况

PAW 处理后的樱花苗木株高和胸径均有一定增高(表 2)。处理组的樱花株高增长量平均为 10.20 cm,而 CK 仅为 7.60 cm;胸径测定显示,CK 的胸径增长同样明显低于处理组,处理组增长量比 CK 平均高 3 mm 左右。试验说明使用 PAW 喷雾樱花幼苗有利于植物生长发育。这可能与其对樱花病原菌 *Agrobacterium tumefaciens* 的抑制作用有关。

表 2 PAW 处理前后樱花株高与地径净增长量情况

Table 2 Net growth of cherry blossom plant height and ground diameter after PAW treatment cm

样品 Sample	株高增长量 Plant height growth	胸径增长量 Increase in chest diameter
CK	7.60±2.28b	0.16±0.08b
PAW <sub>60</sub>	10.20±1.35a	0.48±0.12a

## 2.6 PAW 处理对樱花苗木根癌病的防治效果

由表 3 可知,CK 的樱花苗木肿瘤较大,处理组樱花苗木的根瘤小于 CK 苗木根瘤。且处理组樱花根癌病发生率为 56.7%,明显低于 CK 的根

癌病发生率(100%),且 CK 的根瘤直径均显著大于处理组。这些结果说明使用 PAW 处理樱花及其培育土壤有利于控制樱花根癌病。

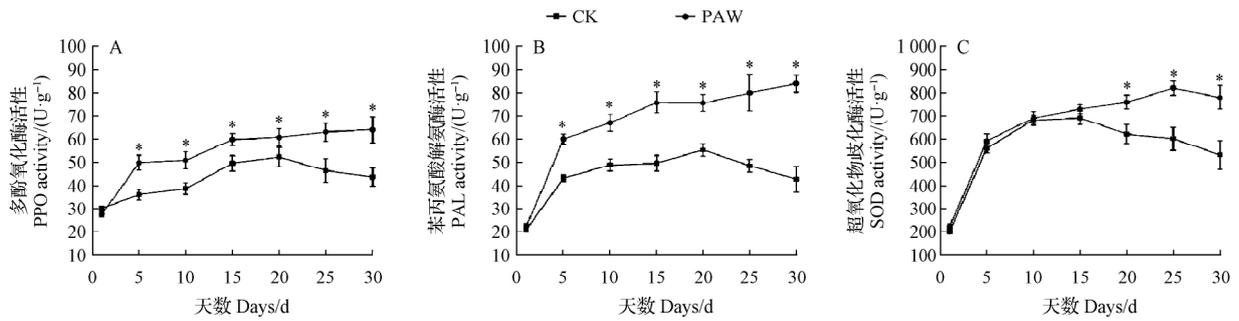
表 3 PAW 处理前后樱花根癌病发病率及根瘤直径

Table 3 *Cerasus* crown gall incidence rate and root nodule diameter of cherry blossom before and after PAW treatment

样品 Sample	发病率 Incidence rate/%	根瘤直径 Root nodule diameter/mm
CK	100.0	18.8±3.2a
PAW <sub>60</sub>	56.7	8.4±1.3b

## 2.7 PAW 处理后樱花苗木根系相关防御酶表达变化情况

在接种根癌农杆菌后苗木培育期间,处理组和 CK 樱花苗木的主要防御酶(PPO、PAL 和 SOD)活性基本均呈现逐渐上升的形势。使用 PAW 对樱花苗木进行处理后,3 种酶均与 CK 出现不同的表达情况。处理组樱花幼苗根系的 PPO 和 PAL 在第 1 次处理与 CK 无显著差异,至苗木培育第 5 天第 2 次处理后,PPO 和 PAL 活性均呈现显著提升的趋势(图 5A~B);而处理组的 SOD 活性在苗木接种后培育前期均与 CK 无明显差别(图 5C);在培育后期,3 种防御酶的活性均迅速上升并显著高于 CK。值得注意的是:处理组 3 种酶的活性在苗木培育期间始终保持上升,而 CK 虽在前期活性均上升,但后期 3 种酶的活性均呈现不同程度的下降,这可能与后期 CK 的苗木病变情况严重有关。该试验说明 PAW 处理可以激活樱花防御酶 PPO、PAL 和 SOD 的活



注:同一时间点标注\*代表显著性差异( $P < 0.05$ )。

Note: Marking \* at the same time point represents significant differences ( $P < 0.05$ ).

图 5 PAW 处理前后樱花根部防御酶活性的变化

Fig 5 Changes in defense enzyme activity in cherry blossom roots before and after PAW treatment

性,从而增强苗木抗病能力。

### 3 讨论与结论

PAW 中具有多种的活性物质(如活性氧(ROS)、活性氮(RNS)、一氧化氮(NO)、二氧化氮(NO<sub>2</sub>)和羟基自由基( $\cdot$ OH)等),这些物质可以破坏微生物的细胞膜及遗传物质,导致形态崩溃和生理功能障碍,从而致使细胞凋亡<sup>[21-22]</sup>。该研究验证了 PAW 对樱花根癌农杆菌病原菌 *Agrobacterium tumefaciens* 的灭杀作用及灭活机制。结果表明,PAW 处理通过破坏 *Agrobacterium tumefaciens* 的细胞膜和细胞核、改变其细胞形态而使其生长受到抑制。一些研究也证明了 PAW 在降低植物表面微生物负荷方面的潜在应用。如 PAW 处理使蘑菇表面的细菌和真菌种群分别减少了 1.5、0.5 lg CFU · g<sup>-1</sup><sup>[23]</sup>。将新鲜的芹菜浸泡在 PAW 中,李斯特菌和大肠杆菌分别减少了 2.5、3.7 lg CFU · cm<sup>-1</sup><sup>[24]</sup>。这些研究表明,PAW 在降低植物表面的微生物负荷和抑制病原微生物生长方面具有潜在的应用价值。

等离子体活化水中存在大量的活性氧和氮物种(ROS 和 RNS),这些活性物质可以在胁迫条件下改善植物生长并部分替代肥料的使用,同时可以促使植物对潜在的危险做出更快更强的反应。该研究中发现,PAW 处理后,樱花幼苗的根癌病发病率大幅降低,且其株高及胸径发育状况均高于 CK。先前也有研究描述 PAW 可以作为化学、生物防治剂的替代品在植物胚胎早期发育中发挥作

用并改善植物生长状况。BAFOIL 等<sup>[25]</sup>测试了 PAW 对模式植物拟南芥的影响,并证实了 PAW 处理后拟南芥的各项生长参数显著增加。MANIRUZZAMAN 等<sup>[26]</sup>使用 PAW 处理小麦幼苗 28 d 后,幼苗的生物量比 CK 高 87%。TAKAHATA 等<sup>[27]</sup>使用 PAW 处理卷心菜,结果显示 PAW-10(活化时间 10 min 的 PAW)和 PAW-20(活化时间 20 min 的 PAW)组的单个蔬菜质量平均增加了 0.044 g 和 0.076 g,分别是 CK 的 3.9 倍和 6.6 倍。

该研究证实,经 PAW 处理后的樱花幼苗根部的防御酶活性显著增强。根部防御酶活性对于植物的生长发育至关重要,因为根系通常是植物与潜在土壤危害源的第 1 次接触<sup>[28-29]</sup>。当植物受到病原菌侵染时,植物细胞内抗病相关的重要酶活的变化通常是衡量植物抗性强弱的重要指标<sup>[30]</sup>。苯丙氨酸解氨酶(PAL)是苯丙烷类代谢途径中的关键酶和限速酶,其参与水杨酸、木质素、植保素等多种化合物的合成,是最典型的防御酶之一<sup>[30]</sup>。多酚氧化酶(PPO)可以促进植物产生木质素及其他酚类氧化产物,这些物质在抵抗病原菌入侵的过程中发挥重要作用,并且可以直接抑制细菌繁殖<sup>[31]</sup>。超氧化物歧化酶(SOD)是一种重要的抗氧化酶,可避免植物细胞遭受一些外来的损伤,并抵消植物生长过程中产生的压力,进而增加细胞活力及幼苗抗性<sup>[32]</sup>。该研究中发现,在樱花被病原菌侵染后的一段时间内,植物根系的 PAL、PPO 和 SOD 活性会迅速上升,这与赵亚楠等<sup>[33]</sup>研究樱花苗面对根癌菌侵染时 POD 和 SOD

活性增强的结果一致,表明樱花根系在受到外界刺激时其内在抗病能力会被激活。但 PAW 处理的樱花幼苗其根系防御酶活性升高更多,表示 PAW 可以进一步增强樱花苗木在逆境中的抗病性。LUKACOVA 等<sup>[34]</sup>使用 PAW 处理玉米种子也有过类似的发现,处理后的玉米抗氧化酶活性显著增强,从而使萌发后的玉米幼苗生长得到显著改善。

该研究明确了 PAW 处理对 *Agrobacterium tumefaciens* 具有抑制作用,初步揭示了 PAW 对 *Agrobacterium tumefaciens* 的作用机制,并证实了 PAW 对樱花幼苗根癌病的控制作用,为进一步掌握 PAW 对该病害的作用机理及综合防控提供了参考依据。

### 参考文献

- [1] 孙泽硕,李永华,柳新红,等. 四十一份樱花品种资源表型性状遗传多样性分析[J]. 北方园艺,2022(22):57-66.
- [2] KERR A,PANAGOPOULOS C G. Biotypes of *Agrobacterium radiobacter* var. *tumefaciens* and their biological control[J]. Journal of Phytopathology,1977,90(2):172-179.
- [3] TOLBA I H,SOLIMAN M A. Efficacy of native antagonistic bacterial isolates in biological control of crown gall disease in Egypt[J]. Annals of Agricultural Sciences,2013,58(1):43-49.
- [4] 罗贵斌,张建军,陈晓东,等. 起垄与药剂组合对樱花根癌病防效及生长的影响[J]. 北方园艺,2017(3):121-126.
- [5] GUPTA A K,KHOSLA K,BHARDWAJ S S,et al. Biological control of crown gall on peach and cherry rootstock colt by native *Agrobacterium radiobacter* Isolates[J]. The Open Horticulture Journal,2010,3(1):1-10.
- [6] AEINI M,MIRZAEI H,TAGHAVI S M,et al. Occurrence of crown gall disease on *Ficus benjamina* in Fars and Isfahan Provinces of Iran[J]. Archives of Phytopathology and Plant Protection,2014,47(18):2257-2262.
- [7] NIEMIRA B A. Cold plasma decontamination of foods[J]. Annual Review of Food Science and Technology,2012,3:125-142.
- [8] LEE S Y,PARK H H,MIN S C. Pulsed light plasma treatment for the inactivation of *Aspergillus flavus* spores, *Bacillus pumilus* spores, and *Escherichia coli* O157:H7 in red pepper flakes[J]. Food Control,2020,118:107401.
- [9] AHMED H,MAUNULA L,KORHONEN J. Reduction of norovirus in foods by nonthermal treatments: A review[J]. Journal of Food Protection,2020,83(12):2053-2073.
- [10] SARANGAPANI C,O'TOOLE G,CULLEN P J,et al. Atmospheric cold plasma dissipation efficiency of agrochemicals on blueberries[J]. Innovative Food Science & Emerging Technologies,2017,44:235-241.
- [11] XU H,ZHU Y,DU M,et al. Subcellular mechanism of microbial inactivation during water disinfection by cold atmospheric pressure plasma[J]. Water Research,2021,188:116513.
- [12] MAY,XIONG S,YOU J,et al. Effects of vacuum chopping on physicochemical and gelation properties of myofibrillar proteins from silver carp (*Hypophthalmichthys molitrix*) [J]. Food Chemistry,2018,245:557-563.
- [13] 张锡唐. 芽孢杆菌 JK-XZ8 的种类鉴定及其对樱花根癌病的防治[D]. 南京:南京林业大学,2020.
- [14] GUO J,HUANG K,WANG X,et al. Inactivation of yeast on grapes by plasma-activated water and its effects on quality attributes[J]. Journal of Food Protection,2017,80(2):225-230.
- [15] XIANG Q,KANG C,NIU L,et al. Antibacterial activity and a membrane damage mechanism of plasma-activated water against *Pseudomonas deceptionensis* CM2 [J]. LWT,2018,96:395-401.
- [16] KANG M H,HONG Y J,ATTRI P,et al. Analysis of the antimicrobial effects of nonthermal plasma on fungal spores in ionic solutions[J]. Free Radical Biology and Medicine,2014,72:191-199.
- [17] GRAVES D B. The emerging role of reactive oxygen and nitrogen species in redox biology and some implications for plasma applications to medicine and biology[J]. Journal of Physics D: Applied Physics,2012,45(26):263001.
- [18] PANNGOM K,LEE S H,PARK D H,et al. Non-thermal plasma treatment diminishes fungal viability and up-regulates resistance genes in a plant host [J]. PLoS One,2014,9(6):e99300.
- [19] COMBARROS R G, COLLADO S, DÍAZ M. Toxicity of titanium dioxide nanoparticles on *Pseudomonas putida* [J]. Water Research,2016,90:378-386.
- [20] ŠIMONČICOVÁ J,KALIŇÁKOVÁ B,KOVÁČIK D,et al. Cold plasma treatment triggers antioxidative defense system and induces changes in hyphal surface and subcellular structures of *Aspergillus flavus* [J]. Applied Microbiology and Biotechnology,2018,102(15):6647-6658.
- [21] MIR S A,SIDDIQUI M W,DAR B N,et al. Promising applications of cold plasma for microbial safety, chemical decontamination and quality enhancement in fruits [J]. Journal of Applied Microbiology,2020,129(3):474-485.
- [22] THIRUMDAS R,KOTHAKOTA A,ANNAPURE U,et al. Plasma activated water (PAW): Chemistry, physico-chemical properties, applications in food and agriculture [J]. Trends in Food Science & Technology,2018,77:21-31.
- [23] XU Y,TIAN Y,MA R,et al. Effect of plasma activated water on the postharvest quality of button mushrooms, *Agaricus bisporus* [J]. Food Chemistry,2016,197:436-444.
- [24] BERARDINELLI A,PASQUALI F,CEVOLI C,et al. Sanitisation of fresh-cut celery and radicchio by gas plasma treatments in water medium [J]. Postharvest Biology and Technology,2016,

111:297-304.

[25] BAFOIL M, JEMMAT A, MARTINEZ Y, et al. Effects of low temperature plasmas and plasma activated waters on *Arabidopsis thaliana* germination and growth[J]. PLoS One, 2018, 13(4):e0195512.

[26] MANIRUZZAMAN M, SINCLAIR A J, CAHILL D M, et al. Nitrate and hydrogen peroxide generated in water by electrical discharges stimulate wheat seedling growth[J]. Plasma Chemistry and Plasma Processing, 2017, 37(5):1393-1404.

[27] TAKAHATA J, TAKAKI K, SATTA N, et al. Improvement of growth rate of plants by bubble discharge in water[J]. Japanese Journal of Applied Physics, 2015, 54(1S):01AG07.

[28] LUX A, LUKAČOVÁ Z, VACULÍK M, et al. Silicification of root tissues[J]. Plants, 2020, 9(1):111.

[29] VACULÍK M, LUKAČOVÁ Z, BOKOR B, et al. Alleviation

mechanisms of metal(loid) stress in plants by silicon: A review [J]. Journal of Experimental Botany, 2020, 71(21):6744-6757.

[30] 于威, 郝天龙. 几种防御性酶在植物抗病方面的研究进展[J]. 北京农业, 2014(36):133-134.

[31] 王曼玲, 胡中立, 周明全, 等. 植物多酚氧化酶的研究进展[J]. 植物学通报, 2005, 40(2):215-222.

[32] CORONA-CARRILLO J I, FLORES-PONCE M, CHÁVEZ-NÁJERA G, et al. Peroxidase activity in scutella of maize in association with anatomical changes during germination and grain storage[J]. SpringerPlus, 2014, 3:399.

[33] 赵亚楠, 文晓鹏. 樱桃砧木实生苗对根癌菌侵染的抗性及其生理响应[J]. 西北植物学报, 2012, 32(7):1390-1394.

[34] LUKACOVA Z, SVUBOVA R, SELVEKOVA P, et al. The effect of plasma activated water on maize (*Zea mays* L.) under arsenic stress[J]. Plants, 2021, 10(9):1899.

## Inhibitory Effect of Plasma Activated Water on *Agrobacterium tumefaciens* and Its Prevention and Treatment of *Cerasus* Crown Gall

PAN Yue<sup>1</sup>, SI Hongbo<sup>2</sup>, PAN Yuwei<sup>1</sup>, SUN Yonglian<sup>1</sup>

(1. Laboratory and Base Construction Management Department, Nanjing Forestry University, Nanjing, Jiangsu 210037;

2. Logistics Management Division, Nanjing Forestry University, Nanjing, Jiangsu 210037)

**Abstract:** Taking cherry blossom seedlings as the test material, PAW was used to treat cherry blossom seedlings and their pathogens, and the anti disease effect of PAW on cherry blossom seedlings was studied, in order to provide reference for the application of PAW in the prevention and control of *Cerasus* crown gall. The results showed that plasma activated water can effectively inhibit the growth of cherry blossom root cancer pathogen *Agrobacterium tumefaciens*, which could cause damage to the cellular structure of *Agrobacterium tumefaciens*. The incidence of root nodules of cherry seedlings in the control group was 100%, the average diameter of root nodules was 18.8 mm, the incidence rate of treated seedlings was 56.7%, and the average diameter of root nodules was 8.4 mm. In addition, PAW could increase the expression of PPO, PAL and SOD activities in cherry blossom roots, activating the resistance of cherry blossom plants. In summary, PAW had certain biological control potential and could defend against *Cerasus* crown gall.

**Keywords:** *Cerasus* spp.; crown gall; *Agrobacterium tumefaciens*; plasma activated water