

DOI: 10.13718/j.cnki.xdzk.2026.01.005

孙振琪, 李一暉, 陈美滢, 等. 芦苇提取物对几种植物病毒的抑制作用 [J]. 西南大学学报(自然科学版), 2026, 48(1): 46-58.

芦苇提取物对几种植物病毒的抑制作用

孙振琪¹, 李一暉¹, 陈美滢¹, 刘春艳¹,
孟卓¹, 王海娟¹, 赵明敏^{1,2}

1. 内蒙古农业大学 园艺与植物保护学院, 呼和浩特 010019;
2. 内蒙古农业大学 生物农药创制与资源利用内蒙古自治区高等学校重点实验室, 呼和浩特 010019

摘要: 以本氏烟(*Nicotiana benthamiana*)为试验材料, 研究芦苇提取物对马铃薯 X 病毒(potato virus X, PVX)、马铃薯 Y 病毒(potato virus Y, PVY)和芜菁花叶病毒(turnip mosaic virus, TuMV)的抑制作用。首先用芦苇提取物处理本氏烟, 6 h 后接种 PVX, 观察植株的发病情况, 并通过 RT-qPCR 对 PVX 的外壳蛋白(Coat Protein, CP)表达量进行检测。结果表明: 芦苇提取物处理后, 本氏烟发病较轻, 且 PVX CP 表达量显著降低。将芦苇提取物涂抹于本氏烟上, 6 h 后分别接种 PVYros 和 TuMV-GFP, 观察植株发病情况并通过 Western Blot 对病毒积累量进行检测, 同时检测接种病毒 12 d 后本氏烟叶片中的叶绿素和氮含量, 以及超氧化物歧化酶(SOD)和过氧化物酶(POD)活性。结果表明: 接种 PVYros 后, 芦苇提取物处理的本氏烟上未观察到 PVY 症状, 且 Western Blot 未检测到 PVY CP; 叶绿素含量和氮含量显著高于对照, SOD 和 POD 活性与对照相比, 显著降低。接种 TuMV-GFP 后, 芦苇提取物处理的本氏烟症状较轻, 且病毒积累量显著低于对照; 叶绿素含量和氮含量显著高于对照, SOD 和 POD 活性与对照相比, 显著降低。

关键词: 芦苇提取物; 植物病毒; 马铃薯 X 病毒; 马铃薯 Y 病毒; 芜菁花叶病毒

中图分类号: S432.41

文献标识码: A

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



文章编号: 1673-9868(2026)01-0046-13

Inhibitory Effects of Reed Extract on Several Plant Viruses

SUN Zhenqi¹, LI Yihui¹, CHEN Meiyang¹, LIU Chunyan¹,
MENG Zhuo¹, WANG Haijuan¹, ZHAO Mingmin^{1,2}

1. College of Horticulture and Plant Protection, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China;
2. Key Laboratory of Biopesticide Creation and Resource Utilization in Higher Education Institutions of Inner Mongolia Autonomous Region, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China

Abstract: Using *Nicotiana benthamiana* as the experimental material, this study investigated the inhibito-

收稿日期: 2025-03-25

基金项目: 财政部和农业农村部 国家现代农业产业技术体系项目(CARS-07-C-3); 中央引导地方科技发展资金项目(2024ZY0103)。

作者简介: 孙振琪, 博士研究生, 主要从事马铃薯病毒研究。

通信作者: 赵明敏, 博士, 教授。

ry effect of reed extract on potato virus X (PVX), potato virus Y (PVY) and turnip mosaic virus (TuMV). *N. benthamiana* was treated with reed extract, and PVX was inoculated 6 h later. The incidence of plants was observed and the expression of virus coat protein (CP) was detected by RT-qPCR. The results showed that after treatment with reed extract, the incidence of *N. benthamiana* was lighter and the expression of PVX CP was significantly reduced. PVY and TuMV were inoculated into *N. benthamiana* leaves 6 h after the application of Reed Extract. The incidence of the plants was observed and the virus accumulation was detected by Western Blot. Additionally, the chlorophyll and nitrogen contents, as well as the activities of superoxide dismutase (SOD) and peroxidase (POD) in the leaves of *N. benthamiana* 12 days post-inoculation, were measured. The results showed that no PVY symptoms were observed in the treated plants, and PVY CP was not detected by Western Blot. The chlorophyll content and nitrogen content were significantly higher than those of the control, and the activities of SOD and POD were significantly lower than those of the control. After inoculation with TuMV, the symptoms of *N. benthamiana* treated with reed extract were lighter, and the TuMV accumulation was significantly lower than that of the control. The chlorophyll content and nitrogen content were significantly higher than those of the control, and the activities of SOD and POD were significantly lower than those of the control.

Key words: reed extract; plant virus; PVX; PVY; TuMV

植物源农药是来源于植物体的农药,是从人工栽培或野生植物中提取的活性成分,其有效成分通常不是单一化合物,而是植物有机体中的一些、甚至大部分有机物质^[1]。它可以帮助植物应对病虫害的侵袭和不良的环境条件,是植物自我防御功能进化和演变的结果。植物源农药通常都是以比较复杂的作用途径起到杀虫、杀(抑)菌、除草等效果,与化学农药相比,因其来源于自然,更容易降解,对环境污染较小;一般情况下也不会对环境和农产品造成污染,不会在环境和人体中累积,具有低毒、低残留的特性,对环境友好,不易产生抗性等^[2]。研究表明,在植物源农药中使用最多的化合物是生物碱、黄酮类、萜类和挥发油等,且不同种类化合物的骨架结构各异^[3]。我国幅员辽阔、植物资源丰富,多种多样的植物活性物质既可用于传统药材,又可作为筛选、开发和应用植物源农药的优质资源。

植物源农药能钝化病毒,并能诱导植物产生抗药性。如对烟草花叶病毒(tobacco mosaic virus, TMV)有明显体外钝化作用且对多种植物病毒病有良好防治效果的植物源抗病毒剂 VFB,它能有效提高植物的抗病性^[4]。有研究发现蛇床子提取物对 TuMV 具有明显的钝化效果^[5]。刘学端等^[6]用商陆、甘草、连翘为原材料制成的复方制剂处理烟草,结果显示,在烟草中,POD的活性明显增强,说明植物源农药能诱导烟草的抗病效应。陈伟^[7]研究发现,植物提取物 WCT-II 能够诱导烟草 SOD、POD、多酚氧化物酶(PPO)的活性上升,诱导过氧化氢酶积累和 *PR-1* 基因上调,从而对烟草系统的抗病性产生诱导作用。林中正^[8]在 30 种植物源提取物中筛选出银杏、栀子、商陆、赤芍的提取物对 TMV 具有一定的抑制作用,经过复配,防效可达 95.23%。景炳年^[9]采用半叶枯斑法研究发现 27 个科 48 种 54 个植物粗提物对 TMV 具有良好的体外钝化活性,其中宽果红景天、糯米条、粗榧、牛心朴子草、臭椿和雷丸对 TMV 的预防和增殖具有抑制作用;雷丸提取物对植物源抗病毒剂 VBF 水剂还表现出明显的增效作用。陈启建^[10]研究发现从金鸡菊与小白菊分离的化合物对 TMV 的侵染有抑制作用,对 TMV 的增殖也有明显抑制作用;复配后可提高烟草中 PPO、POD、SOD 和苯丙氨酸解氨酶(PAL)的活性及叶绿素的含量。

芦苇(*Phragmites australis*)是多年水生或湿生的高大禾草,属于禾本科芦苇属,是湿地环境中生长的主要植物之一,分布广,在世界各地均有生长,其抗性强,是重要的药用植物,芦叶、芦花、芦茎、芦根、芦

笋均可入药^[11]。研究表明,芦苇提取物对细菌和霉菌具有一定的抑制作用^[12]。芦苇提取物对番茄早疫病菌、小麦赤霉病菌和瓜类枯萎病菌等的抑制率可达 85%^[13]。芦苇提取物中的黄酮类物质还具有抗氧化作用,因此研究芦苇提取物抗病毒作用具有重要的现实意义。在我国的植物源农药中,植物病毒抑制剂的研发速度远不及杀虫剂、杀菌剂和除草剂,其主要原因在于植物源提取物抗病毒机制尚不明确,并且植物源抗病毒抑制剂的筛选还存在着盲目、重复等问题,为此,应加大对植物源产物的筛选力度,完善其抗病毒体系。本研究以本氏烟为试验材料研究芦苇提取物对马铃薯 X 病毒(PVX)、马铃薯 Y 病毒(PVY)和芜菁花叶病毒(TuMV)的抑制作用,旨在为植物源病毒抑制剂的筛选和研发提供数据支持。

1 材料与方法

1.1 试验材料

供试植物:本氏烟在 22 °C 的温室中,光照 16 h 和黑暗 8 h 条件下进行培养,选取 3~5 叶期、长势均一的植株进行试验。

植物源提取物:90%芦苇提取物、98%鱼腥草提取物、95%芦荟多糖,西安金润生物科技有限公司;宁南霉素,德强生物股份有限公司。

供试病毒:PVX、TuMV 的侵染性克隆和 PVY 的毒源均由内蒙古农业大学生物农药创制与资源利用内蒙古自治区高等学校重点实验室提供,其中 TuMV 中融合了 GFP 基因,命名为 TuMV-GFP;PVY 中融合了 Roseal 基因,命名为 PVYros。

主要仪器及试剂:ransScript® One-Step gDNA Removal and cDNA Synthesis Super Mix 试剂盒,TransGen Biotech;TB Green® Premix Ex Taq™ II 试剂盒,TARAKA;SOD、PPO 和 POD 酶活性检测试剂盒,北京盒子生工科技有限公司;化学发光成像系统(Odyssey® Fc),美国莱科公司;便携式植物营养测定仪,杭州绿博仪器有限公司。

1.2 试验方法

1.2.1 病毒毒源的制备

将 PVX 和 TuMV-GFP 的侵染性克隆通过液氮冻融法转化到农杆菌 C58C1 中,并通过农杆菌浸润法接种到本氏烟植株上;PVYros 通过摩擦接种法接种到本氏烟植株上。待植株发病后,采集症状明显的系统叶片在液氮中研磨成粉,作为毒源置于一 80 °C 超低温冰箱内保存备用。

1.2.2 芦苇提取物对 PVX 的抑制作用

鱼腥草提取物、芦苇提取物和芦荟多糖的质量浓度均为 5 mg/mL,以无菌水作为对照。先将其均匀涂抹在本氏烟的第 3、4 片叶上,在温室中培养 6 h 后,将 PVX 接种在涂抹了植物源提取物的叶片上,每个处理接种 6 株本氏烟,观察并记录发病情况。

1.2.3 芦苇提取物对 PVY 和 TuMV 的抑制作用

将 200 mg/mL 的芦苇提取物涂抹在本氏烟第 3、4 片叶上,以宁南霉素水剂和无菌水为对照,6 h 后分别接种 PVYros 和 TuMV-GFP;接种后的植株继续在温室中培养,每个处理接种 6 株本氏烟,观察并记录发病情况。

1.2.4 病情分级标准及防效计算

病情分级标准为^[14]:0 级:全株无病;1 级:心叶脉明或轻微花叶,或上部 1/3 叶片花叶,但不变形,植株无明显矮化;2 级:1/3 至 1/2 叶片花叶,或少数叶片变形,或主脉变黑,植株矮化为正常株高的 2/3 以上;3 级:1/2 至 2/3 叶片花叶,主侧脉坏死或变形,植株矮化为正常株高的 1/2 至 2/3;4 级:整株叶片花叶,严重变形或坏死,病株矮化为正常株高的 1/3 至 1/2。病情指数(D)及相对防效(E)计算公式为^[15]:

$$D = \sum (S \times L) / (T \times M) \times 100 \quad (1)$$

式中: S 为各级病株数; L 为相应级别; T 为调查总株数; M 为最大级别。

$$E = (D_{\text{CK}} - D_{\text{h}}) / D_{\text{CK}} \times 100 \quad (2)$$

式中: D_{CK} 为空白对照病情指数; D_{h} 为处理病情指数。

1.2.5 RT-qPCR 检测 PVX 表达量

通过 RT-qPCR 对 PVX CP 的表达量进行检测。采集接种 PVX 后 8 d 各处理本氏烟的系统叶, 在液氮中研磨成粉后通过 TRNzol 法提取总 RNA, 并进行逆转录, 获得 cDNA。根据 PVX CP 序列设计特异性引物, 由生工生物工程(上海)股份有限公司合成。上游引物为 PVX CP (e1)-F(5'-CACAGCCCATAGGGT-CAACT-3'), 下游引物为 PVX CP (e1)-R(5'-GCCTCAATCTTGCTGAGGTC-3')。以 *NtUB1* 基因作为内参^[16], 上游引物为 *NtUB1*-F(5'-TCCAGGACAAGGAGGGTATCC-3'), 下游引物为 *NtUB1*-R(5'-GT-CAGCCAAGGTCCTTCCATCC-3'), 用于 qPCR 检测, 采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 方法计算 PVX CP 的相对表达量^[17]。

1.2.6 Western Blot 检测 PVY 和 TuMV 的积累量

在接种 PVYros 和 TuMV-GFP 后 12 d 采集各处理系统叶片, 在液氮中研磨成粉后提取总蛋白进行 Western Blot 检测^[16]。PVYros 和 TuMV-GFP 分别对 PVY CP 和 GFP 进行检测以确定病毒积累量。提取的总蛋白经 12% SDS-PAGE 电泳后, 转至 PVDF 膜并进行封闭; 分别用 PVY CP(一抗 1:1 000, 二抗 1:5 000)和 GFP(一抗 1:500, 二抗 1:5 000)特异性抗体进行孵育后, 加入适量 ECL 化学发光液显色, 并进行信号检测。

1.2.7 接种病毒后本氏烟植株生理指标测定

叶绿素含量和氮含量测定: 在本氏烟接种 PVYros 和 TuMV-GFP 12 d 后, 使用便携式植物营养测定仪对本氏烟叶片叶绿素(以 SPAD 值表示)和氮含量进行检测, 测定时间为上午 9—11 时, 检测每株第 3 系统叶片, 每叶片检测 3 次后求平均值^[18]。在本氏烟接种 PVYros 和 TuMV-GFP 12 d 后, 采集系统叶并在液氮中研磨成粉后用于植物抗病相关酶 SOD、PPO 和 POD 活性的检测, 具体检测方法见试剂盒说明书。

1.2.8 芦苇提取物化学成分分析

采用圆形滤纸层析法^[19]检测芦苇提取物中是否含有酚类、生物碱、黄酮、强心苷及有机酸^[20]。

2 结果与分析

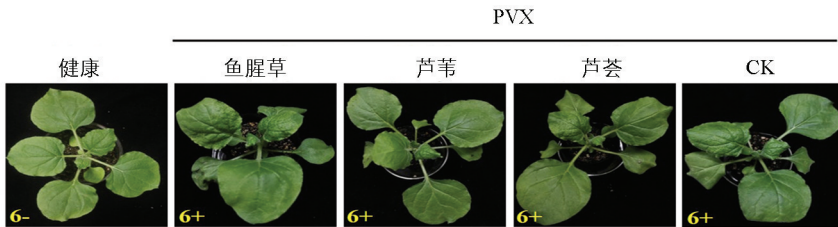
2.1 芦苇提取物对 PVX 的抑制作用

将芦苇提取物涂抹于本氏烟上, 6 h 后接种 PVX, 研究芦苇提取物对 PVX 的抑制作用。结果表明, 接种 PVX 6 d, 各处理植株开始出现 PVX 的症状, 其中芦苇提取物处理的本氏烟发病最轻, 接种的 6 株本氏烟中有 4 株出现症状, 且病情指数最低, 平均病情指数为 25.00, 相对防效达到了 50.00%; 其次是鱼腥草提取物, 与无菌水处理(CK)一样, 处理的 6 株本氏烟中均有 5 株出现症状, 但其平均病情指数为 33.33, 相对防效为 33.34%, 无菌水处理的 6 株本氏烟平均病情指数为 50.00; 芦荟提取物处理的 6 株本氏烟全部出现症状, 且平均病情指数为 54.17。随着接种时间的增加, 各处理的发病株数和病情指数逐渐增加, 相对防效逐渐降低, 但芦苇提取物的病情指数始终低于其他处理, 同时, 相对防效始终高于其他处理(表 1)。接种 PVX 8 d, 各处理植株全部出现症状(图 1a), 芦苇提取物处理的本氏烟的平均病情指数为 62.50, 相对防效为 16.67%; 而鱼腥草提取物和芦荟提取物对 PVX 均无防效。对接种 PVX 8 d 各处理本氏烟进行 RT-qPCR 检测, 结果显示, 与无菌水处理相比, 经芦苇提取物处理的本氏烟中 PVX CP 相对表达量显著降低(图 1b)。

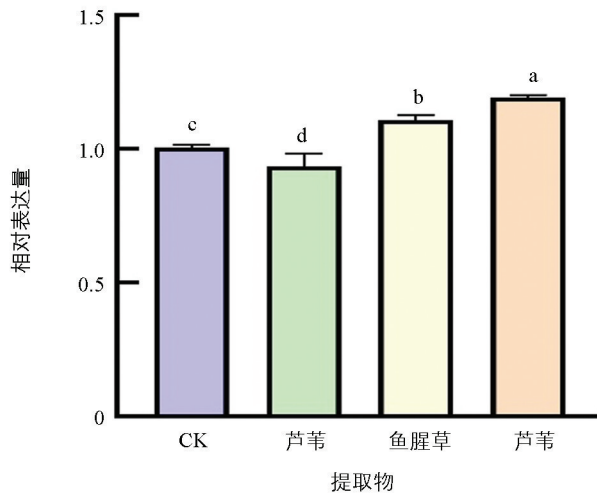
表 1 提取物对 PVX 的防治效果

提取物	指标	PVX 接种天数/d		
		6	7	8
鱼腥草	发病株数/株	5/6	6/6	6/6
	平均病情指数	33.33	54.17	75.00
	相对防效/%	33.34	13.33	0
芦苇	发病株数/株	4/6	5/6	6/6
	平均病情指数	25.00	41.67	62.50
	相对防效/%	50.00	33.33	16.67
芦荟	发病株数/株	6/6	6/6	6/6
	平均病情指数	54.17	66.67	91.67
	相对防效/%	-8.34	-6.67	-22.23
CK	发病株数/株	5/6	6/6	6/6
	平均病情指数	50.00	62.50	75.00

注：“发病株数”中“ $x/6$ ”表示接种的 6 株本氏烟中有 x 株发病，下同。



a. 本氏烟接种 PVX 的症状



b. PVX CP 表达量的 RT-qPCR 检测

图 a 中数字代表植株数，“+”表示有典型的病毒侵染症状，“-”表示无病毒侵染症状；图 b 中小写字母不同表示 $p < 0.05$ ，差异有统计学意义。

图 1 芦苇提取物对 PVX 侵染的抑制作用

2.2 芦苇提取物化学成分预试结果

采用圆形滤纸法对芦苇提取物中的化学成分进行检测, 酸性成分检测包括酚类和生物碱, 结果均呈阳性(+). 此外, pH 试纸测定显示芦苇提取物的 pH 值为 7.5~9.0, 表明其整体呈弱碱性, 可能与生物碱的富集有关. 黄酮及强心苷检测均呈阳性. 有机酸通过 pH 试纸间接验证, 表明芦苇提取物中酸性成分与碱性成分共存. 结果表明, 芦苇提取物中所含有的化学成分包括酚类、生物碱、黄酮、强心苷和有机酸(表 2).

表 2 芦苇提取物中化学成分预试结果

检测项目	检测方法	结果
酚类	圆形滤纸法	+
生物碱	圆形滤纸法	+
黄酮	圆形滤纸法	+
强心苷	圆形滤纸法	+
有机酸	pH 试纸	7.5~9.0

注: 表中“+”表示阳性反应, “-”表示阴性反应。

2.3 芦苇提取物对 PVY 的抑制作用

将芦苇提取物涂抹于本氏烟上, 6 h 后接种 PVY_{ros}, 研究芦苇提取物对 PVY 的抑制作用, 对各处理本氏烟的症状进行观察并统计病情指数. 结果表明, 接种 PVY_{ros} 8 d, 无菌水处理(CK)的本氏烟开始出现 PVY 的症状, 接种的 6 株本氏烟中有 3 株发病, 其平均病情指数为 12.50; 芦苇提取物和宁南霉素处理的本氏烟均未发病. 随着接种时间的增加, 无菌水处理的本氏烟的发病株数和病情指数逐渐增加. 接种 PVY_{ros} 10 d, 无菌水处理的 6 株本氏烟全部发病, 其平均病情指数为 50.00; 接种 PVY_{ros} 11~12 d, 无菌水处理的本氏烟症状逐渐加重, 平均病情指数分别为 79.17 和 87.50(表 3). 芦苇提取物和宁南霉素处理的本氏烟始终未出现 PVY 的症状(图 2a), 与无菌水处理相比, 芦苇提取物对 PVY_{ros} 的侵染具有较好的抑制作用, 且相对防效能够达到 100%. 在接种 PVY_{ros} 12 d 时, 通过 Western Blot 对各处理 PVY_{ros} 积累量进行检测, 无菌水处理的本氏烟中检测到了 PVY CP, 而宁南霉素和芦苇提取物处理均未检测到 PVY_{ros} 的积累(图 2b).

表 3 芦苇提取物对 PVY 的防治效果

组别	指标	接种 PVY _{ros} 天数/d				
		8	9	10	11	12
宁南霉素	发病株数/株	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
	平均病情指数	0	0	0	0	0
	相对防效/%	100	100	100	100	100
芦苇	发病株数/株	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
	平均病情指数	0	0	0	0	0
	相对防效/%	100	100	100	100	100
CK	发病株数/株	3/6	4/6	6/6	6/6	6/6
	平均病情指数	12.50	29.17	50.00	79.17	87.50

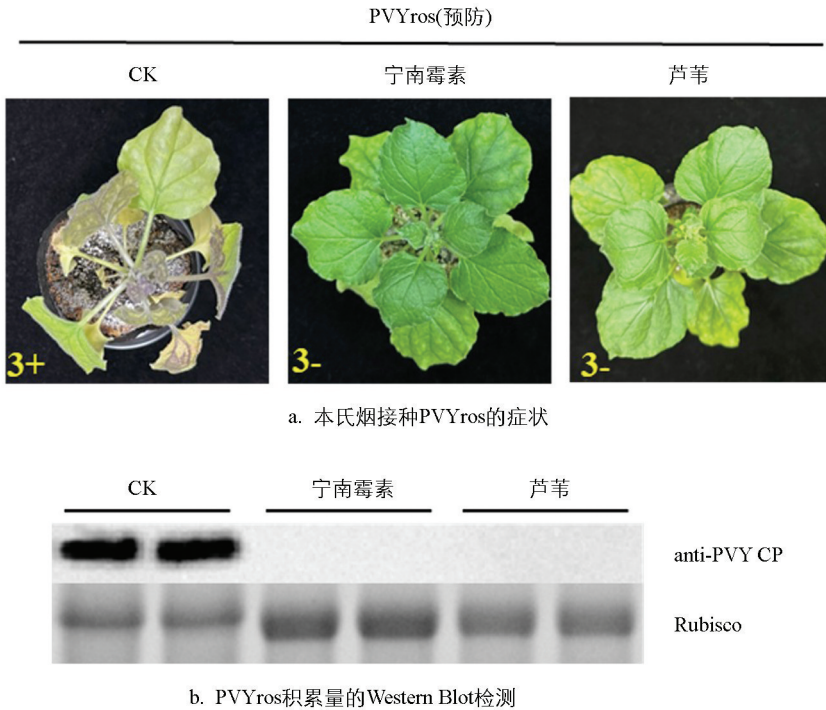


图 a 中数字代表植株数,“+”表示有典型的病毒侵染症状,“-”表示无病毒侵染症状;图 b 中以 Rubisco 蛋白条带作为上样对照。

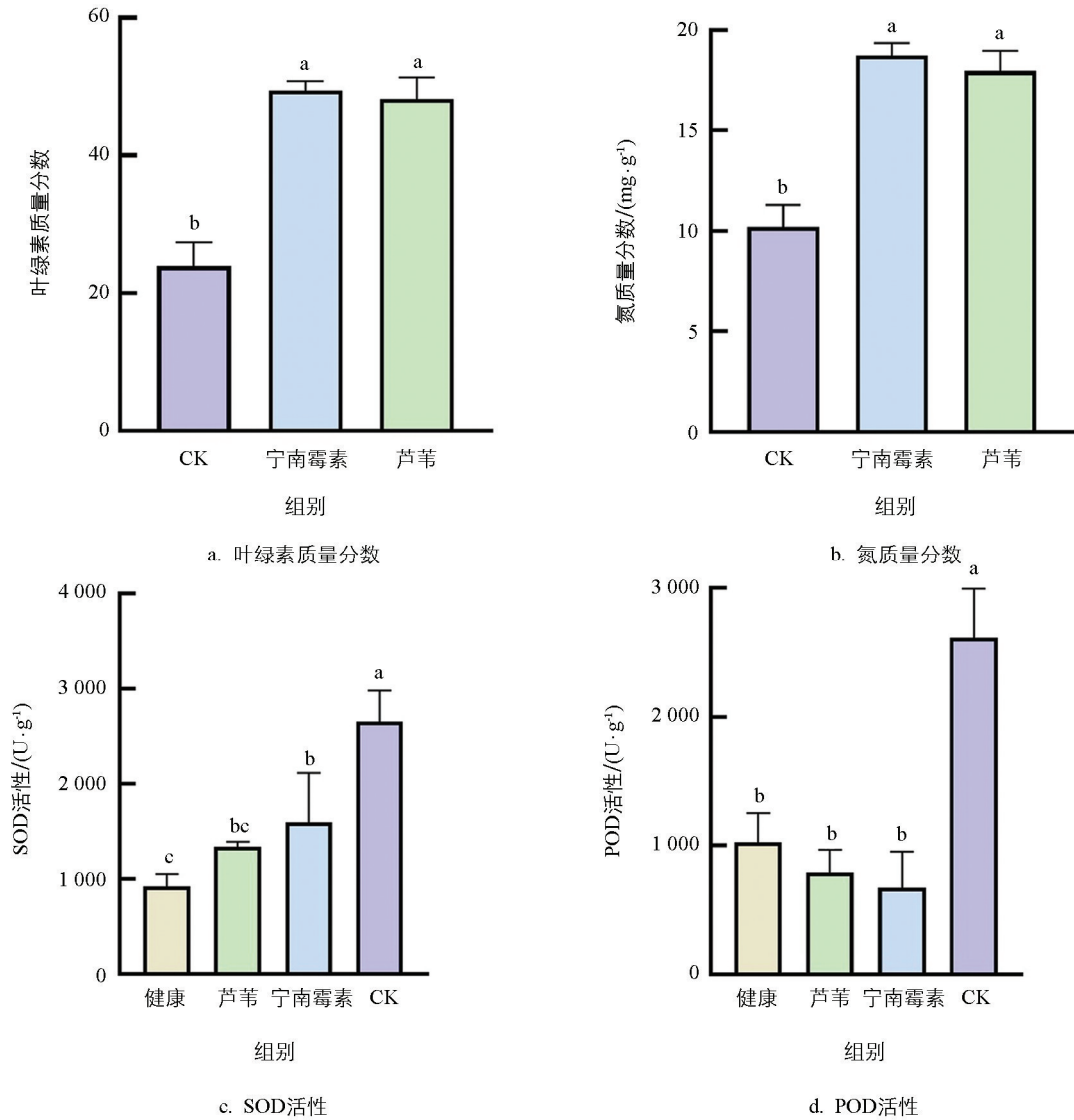
图 2 芦苇提取物对 PVYros 侵染的预防作用

2.4 接种 PVYros 后不同处理本氏烟中叶绿素、氮含量及抗性相关酶 SOD 和 POD 活性检测

对接种 PVYros 12 d 的本氏烟中叶绿素、氮含量及抗性相关酶 SOD 和 POD 活性进行检测,结果表明,芦苇提取物和宁南霉素处理本氏烟叶片的平均叶绿素质量分数(分别为 48.22 和 49.45)显著高于无菌水处理(23.92, $p < 0.05$)(图 3a)。芦苇提取物和宁南霉素处理的本氏烟叶片的平均氮质量分数(分别为 17.96 mg/g 和 18.73 mg/g)也显著高于无菌水处理(10.21 mg/g, $p < 0.05$),其变化趋势与叶绿素基本一致(图 3b)。芦苇提取物处理的本氏烟中 SOD 活性(1 338.36 U/g)较无菌水处理(2 652.93 U/g)显著降低($p < 0.05$),但与健康植株和宁南霉素处理(分别为 925.77 U/g 和 1 595.64 U/g)相比,差异无统计学意义(图 3c)。芦苇提取物处理的本氏烟中 POD 活性(793.33 U/g)较无菌水处理(2 613.33 U/g)显著降低($p < 0.05$),但与健康植株和宁南霉素处理(分别为 1 026.67 U/g 和 673.33 U/g)相比,差异无统计学意义(图 3d)。

2.5 芦苇提取物对 TuMV 的抑制作用

将芦苇提取物涂抹于本氏烟上,6 h 后接种 TuMV-GFP,研究芦苇提取物对 TuMV 的抑制作用。结果表明,接种 TuMV-GFP 5 d,无菌水处理(CK)的本氏烟开始出现 TuMV 的症状,在紫外灯下可以观察到荧光;接种的 6 株本氏烟中有 3 株发病,其平均病情指数为 16.67;而芦苇提取物和宁南霉素处理的本氏烟均未发病。接种 TuMV-GFP 7 d,芦苇提取物处理的本氏烟开始出现 TuMV 的症状,接种的 6 株本氏烟中有 4 株发病,其平均病情指数为 16.67;此时,无菌水处理的本氏烟平均病情指数为 54.17。随着接种时间的增加,无菌水和芦苇提取物处理的本氏烟发病株数和病情指数逐渐增加,芦苇提取物的防效逐渐降低。接种 TuMV-GFP 11 d,芦苇提取物处理的 6 株本氏烟全部发病,其平均病情指数为 54.17,相对防效为 31.58%;接种 TuMV-GFP 12 d,其平均病情指数增加到 62.50,相对防效降低到 28.57%(表 4)。



小写字母不同表示 $p < 0.05$, 差异有统计学意义, 下同。

图 3 本氏烟接种 PVYros 后叶绿素、氮含量(质量分数)及抗性相关酶活性

表 4 芦苇提取物对 TuMV 的防治效果

组别	指标	接种 TuMV-GFP 天数/d							
		5	6	7	8	9	10	11	12
宁南霉素	发病株数/株	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6	0/6
	平均病情指数	0	0	0	0	0	0	0	0
	相对防效/%	100	100	100	100	100	100	100	100
芦苇	发病株数/株	0/6	0/6	4/6	4/6	5/6	5/6	6/6	6/6
	平均病情指数	0	0	16.67	29.17	37.50	41.67	54.17	62.50
	相对防效/%	100	100	69.23	49.99	40.00	44.44	31.58	28.57
CK	发病株数/株	3/6	5/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6	6/6
	平均病情指数	16.67	37.50	54.17	58.33	62.50	75.00	79.17	87.50

由图 4a 可知, 宁南霉素处理的本氏烟始终未见症状。在 12 d 时, 通过 Western Blot 对各处理 TuMV-GFP 积累量进行检测, 结果表明, 芦苇提取物和宁南霉素处理的本氏烟中 TuMV-GFP 积累量显著低于无菌水处理(图 4b, 4c)。

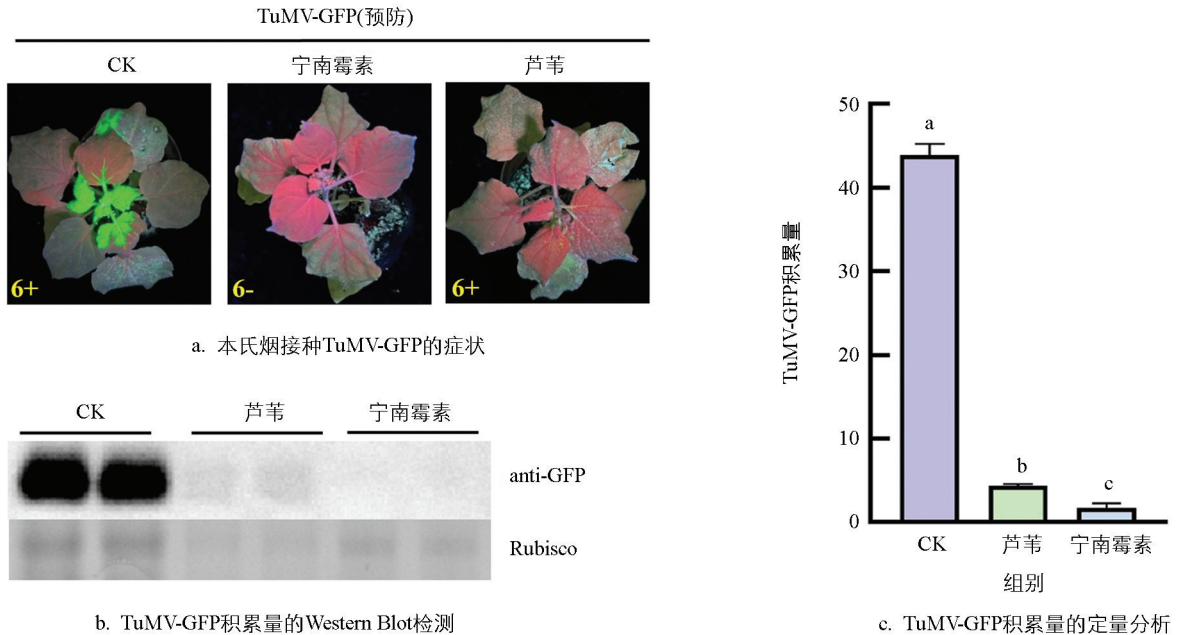


图 a 中数字代表植株数, “+”表示有典型的病毒侵染症状, “-”表示无病毒侵染症状; 图 b 中以 Rubisco 蛋白条带作为上样对照; 图 c 中小写字母不同表示 $p < 0.05$, 差异有统计学意义。

图 4 芦苇提取物对 TuMV-GFP 侵染的预防作用

2.6 接种 TuMV-GFP 后不同处理本氏烟中叶绿素、氮含量及抗性相关酶 SOD 和 POD 活性检测

对接种 TuMV-GFP 12 d 的本氏烟叶绿素、氮含量及抗性相关酶 SOD 和 POD 活性进行检测, 结果表明, 芦苇提取物处理的本氏烟叶片的平均叶绿素质量分数(31.89)显著高于无菌水处理(27.01, $p < 0.05$), 显著低于宁南霉素处理(44.18, $p < 0.05$, 图 5a)。芦苇提取物处理的本氏烟叶片的平均氮质量分数(12.62 mg/g)也显著高于无菌水处理(11.06 mg/g, $p < 0.05$), 同时显著低于宁南霉素处理(16.59 mg/g, $p < 0.05$), 其变化趋势与叶绿素基本一致(图 5b)。芦苇提取物处理的本氏烟中 SOD 活性(1 138.85 U/g)较无菌水处理(1 389.76 U/g)显著降低($p < 0.05$), 同时显著高于健康植株(925.77 U/g, $p < 0.05$), 与宁南霉素处理(1 113.75 U/g)相比, 差异无统计学意义(图 5c)。芦苇提取物处理的本氏烟中 POD 活性(603.92 U/g)较无菌水处理(1 932.55 U/g)显著降低($p < 0.05$), 同时显著低于健康植株(1 026.67 U/g, $p < 0.05$), 与宁南霉素处理(503.27 U/g)相比, 差异无统计学意义(图 5d)。

3 讨论与结论

3.1 讨论

随着化学病毒抑制剂安全问题的逐渐显现, 社会各界对具有低毒、高效、广谱等性质的植物源农药的关注也越来越多^[21]。结构独特、环境友好的天然抗病毒物质已成为绿色农药开发领域的重要研究对象。植物中抗病毒活性物质含量丰富、种类繁多, 其结构独特, 且相互之间存在着极其复杂的互作关系, 无论是用无机溶剂还是有机溶剂提取又或者是植物精油, 都表现出对目标以外的生物毒副作用小、不会造成环境

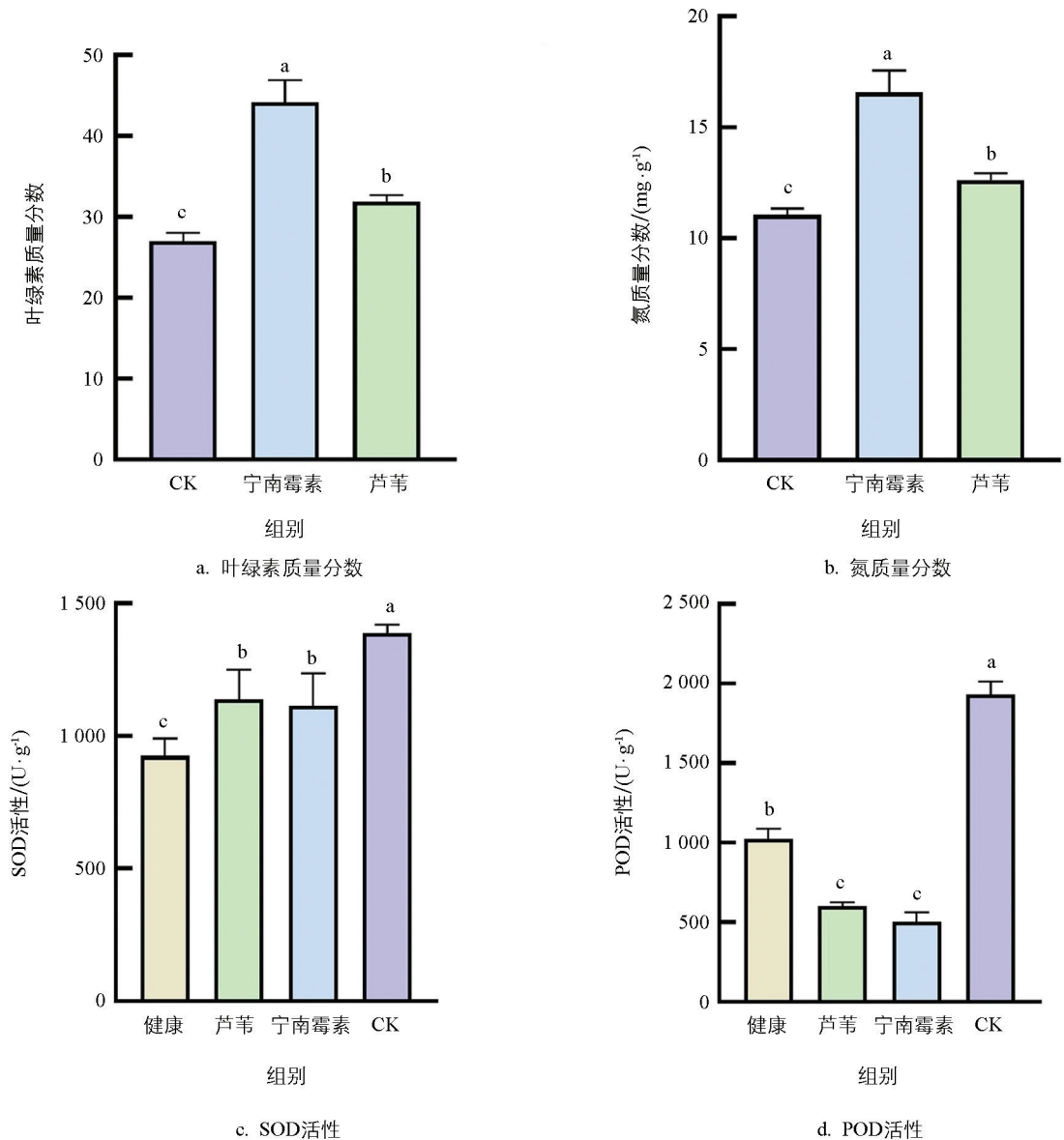


图 5 本氏烟接种 TuMV-GFP 后叶绿素、氮含量(质量分数)及抗性相关酶活性

污染等优点^[22], 因此, 植物界是发现低毒、低残留、高效及环境和谐的新抗病毒剂和新抗病毒化合物最好的自然资源宝库。从首次在商陆中发现能够有效抑制 TMV 活性的物质^[23]以来, 人们逐渐将注意力集中于从植物中寻找天然抗病毒的活性物质。20 世纪 80 年代后, 越来越多的人选择使用低残留、对人畜无害、对环境污染小的植物农药^[24]。如植物源抗病毒剂 VFB 可以预防、治疗和钝化多种植物病毒, 并且可以提高作物的抗病性、刺激其生长、提高产量^[4]。杜春梅等^[25]研究发现, 在 591 种对真菌或细菌具有拮抗作用的植物源提取物中, 有 173 种具有抗病毒活性, 其中金钟柏提取物能够显著抑制西瓜花叶病毒(watermelon mosaic virus, WMV)的侵染, 使 WMV 的 CP 表达量受到抑制^[26]。有研究发现, WCT-II 不仅对 TMV 线粒体具有体外钝化作用, 还能诱导植物产生病程相关蛋白, 提高烟草抵抗 TMV 侵染的能力^[27]。芦苇作为多年生禾草, 全株都有药用作用, 其提取物可在一定程度上抑制细菌和霉菌, 并且具有明显的抗氧化作用^[12]。芦苇中的活性物质可以抑制铜绿微囊藻细胞的增加^[28]。芦苇丙酮粗提物可以在一定程度上抑制小麦赤霉病菌、番茄灰霉病菌和苹果炭疽病菌^[29]。本研究发现芦苇提取物对 PVX、PVY 和 TuMV 的侵染均有一定的抑制作用。

本研究对接种 PVY_{ros} 和 TuMV-GFP 的本氏烟叶片中的叶绿素和氮含量进行了检测,结果表明,芦苇提取物处理的本氏烟在接种 PVY_{ros} 和 TuMV-GFP 后,其叶绿素和氮含量显著高于无菌水处理。植物叶片叶绿素含量和氮含量是衡量植物健康状况及其光合作用和生理代谢的重要指标,与植物抗病性密切相关^[30-31]。氮是构成叶绿素的主要元素之一,氮含量直接影响光合作用的效率和光合产物的形成。植物叶片叶绿素和氮含量越高,通常表明植物的光合作用能力越强,生长发育越好,如丁香酚可通过促进叶绿素的合成,增强烟草体内抗性基因的转录^[32]。有研究发现,百合无症病毒(lily symptomless virus, LSV)侵染可以抑制百合 PS II 的光化学活性^[33]。抗病毒化合物 2005196 可以诱导植株叶绿素含量的增加,提高植株的抗病性^[34]。芦苇提取物在一定程度上提高了植株叶片的氮含量并保护植株叶绿体不被破坏,从而增强了植株对 PVY 和 TuMV 的抵抗能力。

SOD 和 POD 在生物体内扮演着重要的角色,发挥着抗氧化和防御作用,帮助生物体应对各种内外部的压力和挑战,是植物抗病反应的重要指标。烟草喷施抗 TMV 的混配提取物后,其体内 PPO、POD、PAL 和 SOD 的活性均有不同程度的提高^[10]。植物源病毒抑制剂 VBF 可提高烟草中 SOD、CAT 等细胞防御的酶活性,从而增强寄主植物的抗病性^[4]。丁香酚能够激发烟草叶片中活性氧的产生,提高 PAL、POD 和 SOD 的活性,诱导系统获得抗性从而抗 TMV^[31]。本研究对接种 PVY_{ros} 和 TuMV-GFP 的本氏烟叶片中的抗性相关酶 SOD 和 POD 的活性进行了检测,发现芦苇提取物处理后接种 PVY_{ros} 和 TuMV-GFP 12 d,本氏烟叶片中的 SOD 和 POD 活性显著低于无菌水处理,推测其可能与测定时间在病毒发病后期有关。有研究表明,植物抗病相关酶在植物体内的活性经不同处理诱导呈现出不同的变化趋势。林中正^[8]研究发现商陆、银杏和栀子提取物复配与 TMV 混合接种烟草,其叶片内的 POD 活性变化趋势为先上升后下降,最高值在 48 h 时出现;只接种 TMV 时,POD 活性变化趋势则为先下降后上升;对照在 6~72 h 内 POD 活性无明显变化。

此外,本研究还对芦苇提取物中化学成分进行了检测,初步检测到芦苇提取物中含有酚类、生物碱、黄酮、强心苷、有机酸。有研究表明,黄酮类化合物和多糖类化合物作为芦苇中的主要有效成分具有多种生理活性^[35]。应用高效液相色谱法,戴军等^[36]将 9 种黄酮类化合物从芦苇中成功分离出来。叶小齐等^[37]利用 GC-MS 方法对芦苇正丁醇萃取物进行分析,发现糖类、醇类、有机酸类、酮类、酰胺类和脂类这些主要成分均可抑制小麦幼苗生长。赵小霞^[38]从芦苇石油醚萃取物、乙酸乙酯萃取物和正丁醇萃取物中分离鉴定出了 β -谷甾醇、对羟基苯甲醛、麦黄酮、麦黄酮 7-O- β -吡喃葡萄糖苷和单棕榈酸甘油酯等化合物,这些化合物部分对血管紧张素 I 转换酶具有抑制活性。从中药天仙子中发现的天仙子新碱能够激发植物自身产生免疫应答反应,具有良好的免疫诱抗活性并兼具植物生长调节功能^[39]。这些成分多与抗病毒作用相关,从芦苇的化学成分中筛选具有抗病毒活性的物质,为植物源抗病毒制剂的开发与利用奠定了基础,但芦苇中的活性成分及其作用机理还有待进一步研究。

3.2 结论

本研究以本氏烟为试验材料,分别接种 PVX、PVY_{ros} 和 TuMV-GFP,在接种后观察发病情况并记录病情指数,检测 PVX CP 表达量和 PVY_{ros}、TuMV-GFP 积累量,并对接种 PVY_{ros} 和 TuMV-GFP 各处理下本氏烟的叶绿素、氮含量,抗性相关酶 SOD 和 POD 活性进行了检测,结果表明:1) 芦苇提取物对 PVX、PVY_{ros} 和 TuMV-GFP 的侵染均有一定的抑制作用。芦苇提取物处理本氏烟后,接种 PVX、PVY_{ros} 和 TuMV-GFP 的病情指数较无菌水处理均显著降低,且本氏烟中的 PVX CP 表达量、PVY_{ros} 和

TuMV-GFP 的积累量均显著低于处理。2) 芦苇提取物处理本氏烟可使植株中叶绿素和氮含量升高。对接种 PVY_{ros} 和 TuMV-GFP 的本氏烟叶片中的叶绿素和氮含量进行检测,结果表明,芦苇提取物处理的本氏烟在接种 PVY_{ros} 和 TuMV-GFP 后,其叶片中叶绿素和氮含量显著高于无菌水处理。3) 芦苇提取物可诱导本氏烟中抗性相关酶的变化。对接种 PVY_{ros} 和 TuMV-GFP 的本氏烟叶片中的抗性相关酶 SOD 和 POD 的活性进行检测,发现芦苇提取物处理后接种 PVY_{ros} 和 TuMV-GFP 12 d,本氏烟叶片中的 SOD 和 POD 活性显著低于无菌水处理。4) 对芦苇提取物中化学成分进行检测,初步检测到芦苇提取物中含有酚类、生物碱、黄酮、强心苷和有机酸。

参考文献:

- [1] 张兴,马志卿,冯俊涛,等. 植物源农药研究进展 [J]. 中国生物防治学报, 2015, 31(5): 685-698.
- [2] 谭海军. 中国生物农药的概述与展望 [J]. 世界农药, 2022, 44(4): 16-27, 54.
- [3] 于忻滢,张国良,范松,等. 植物源农药研究进展 [J]. 黑龙江农业科学, 2021(7): 123-129.
- [4] 李威. 植物源农药 VFB 配方优化及其抗 TMV 活性研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2009.
- [5] 高倩,孙振琪,赵凯,等. 植物源提取物对 TuMV 和 PVY 的抗病毒作用 [J]. 安徽农业科学, 2023, 51(7): 154-159.
- [6] 刘学端,肖启明. 植物源农药防治烟草花叶病机理初探 [J]. 中国生物防治, 1997, 13(3): 128-131.
- [7] 陈伟. 烟草四种主要病毒分子变异及植物提取物 WCT-II 抗 TMV 作用机理研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2015.
- [8] 林中正. 植物源抗烟草花叶病毒活性物质的筛选和作用机理初探 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2012.
- [9] 景炳年. 植物源病毒抑制剂 VFB 活性成分研究及抗 TMV 植物样品筛选 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2012.
- [10] 陈启建. 金鸡菊 (*Coreopsis drummondii*) 和小白菊 (*Parthenium hysterophorus*) 抗烟草花叶病毒活性研究 [D]. 福州: 福建农林大学, 2007.
- [11] 张卓亿,谢晓方,王霞,等. 芦苇、南荻在食用菌栽培中的基质化利用研究进展 [J]. 北方园艺, 2024(24): 113-121.
- [12] 余晓红,许伟,邵荣,等. 富含黄酮的芦苇提取物的抑菌性和抗氧化性研究 [J]. 食品科学, 2009, 30(23): 185-188.
- [13] 杨从军,牛新威,吴锦淑. 芦苇茎叶水提液农药生物活性初测 [J]. 安徽农学通报, 2007, 13(14): 166-167.
- [14] 赵城钢. 3种植物病毒抑制剂的药效评价及对 PVX 变异影响研究 [D]. 重庆: 西南大学, 2015.
- [15] 张洪波. 湖南省烟草病毒病的检测及防治研究 [D]. 长沙: 湖南农业大学, 2007.
- [16] SUN Z Q, LIU D Y, LI B, et al. 3'UTR of Tobacco Vein Mottling Virus Regulates Downstream GFP Expression and Changes in Host Gene Expression [J]. *Frontiers in Microbiology*, 2024, 15: 1477074.
- [17] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of Relative Gene Expression Data Using Real-Time Quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta Ct}$ Method [J]. *Methods*, 2001, 25(4): 402-408.
- [18] 刘琦. 不同 NaCl 浓度对番茄苗期生长及生理生化指标的影响 [D]. 呼和浩特: 内蒙古农业大学, 2018.
- [19] 龚宁,马养民,傅建熙. 蝙蝠葛茎叶中化学成分的研究 [J]. 陕西林业科技, 2001, 29(3): 8-10.
- [20] 梁红艳. 木瓜 (*Chaenomeles sinensis* Koehne) 抗烟草花叶病毒 (TMV) 活性研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2012.
- [21] 李云,吴金钟. 常见商用植物源农药在烟草害虫防控中的研究现状 [J]. 植物医学, 2023, 2(3): 73-77.
- [22] 杜甜甜,张晨宁,诸卫平,等. 中药材提取物抑制植物病原菌研究进展 [J]. 生态科学, 2024, 43(1): 265-272.
- [23] HODGSON R A J, BEACHY R N, PAKRASI H B. Selective Inhibition of Photosystem II in Spinach by Tobacco Mosaic Virus: An Effect of the Viral Coat Protein [J]. *FEBS Letters*, 1989, 245(1-2): 267-270.
- [24] 杨欣蕊,廖艳凤,赵鹏飞,等. 植物源农药及其开发利用研究进展 [J]. 南方农业, 2022, 16(11): 33-36.

- [25] 杜春梅, 吴元华, 赵秀香, 等. 天然抗植物病毒物质的研究进展 [J]. 中国烟草学报, 2004, 10(1): 34-40.
- [26] ELBESHEHY E K F, METWALI E M R, ALMAGHRABI O A. Antiviral Activity of Thuja Orientalis Extracts Against Watermelon Mosaic Virus (WMV) on *Citrullus lanatus* [J]. Saudi Journal of Biological Sciences, 2015, 22(2): 211-219.
- [27] 车海彦, 吴云锋, 杨英, 等. 植物源病毒抑制剂 WCT-II 控制烟草花叶病毒 (TMV) 的作用机理初探 [J]. 西北农业学报, 2004, 13(4): 45-49.
- [28] 郭欢. 芦苇中活性物质对有毒藻类抑制作用的研究 [J]. 现代农业科技, 2009(9): 234-235.
- [29] 冯俊涛, 石勇强, 张兴, 等. 56 种植物抑菌活性筛选试验 [J]. 西北农林科技大学学报(自然科学版), 2001, 29(2): 65-68.
- [30] 郝雅娟. 基于多角度光谱反射信息估算植物叶片氮含量 [D]. 长春: 东北师范大学, 2021.
- [31] 郭泽西, 韦淑梅, 李旭东, 等. 圆叶葡萄和欧亚种葡萄叶片提取物对葡萄霜霉病的防治作用 [J]. 中国南方果树, 2024, 53(3): 185-195.
- [32] 苏杭. 植物源天然化合物丁香酚抗烟草花叶病毒病机理初探 [D]. 南京: 南京农业大学, 2012.
- [33] 孙冰轮. 百合无症病毒在百合叶绿体中的检测 [D]. 大连: 大连理工大学, 2014.
- [34] 严凯. 新型抗烟草花叶病毒的药物筛选及作用机理初步研究 [D]. 贵阳: 贵州大学, 2008.
- [35] 高浩学, 丁安伟, 唐于平, 等. 苇茎的化学成分、药理作用与临床应用研究进展 [J]. 现代中药研究与实践, 2009, 23(3): 75-78.
- [36] 戴军, 王洪新, 华春雷. HPLC 分析芦苇叶中天然抗氧化成分黄酮类化合物 [J]. 无锡轻工业学院学报, 1994, 13(1): 34-37.
- [37] 叶小齐, 吴明, 邵学新, 等. 芦苇叶水提物的化感活性分析及潜在化感成分的筛选 [J]. 植物资源与环境学报, 2016, 25(2): 41-47.
- [38] 赵小霞. 小球藻多糖的制备及芦苇生物活性成分的研究 [D]. 大连: 大连海洋大学, 2014.
- [39] 田向荣, 陈劲宇, 阮班录, 等. 基于中医农业理论创制新型生物农药的实践探索 [J]. 植物医学, 2024, 3(1): 1-7.

责任编辑 周仁惠