

 农业科学技术理论研究丛书

天然产物：

纯化、性质与功能

TIANRANCHANWUCHUNHUAXINGZHIYUGONGNENG

谢联辉 林奇英 吴祖建 著



科学出版社
www.sciencep.com

农业科学技术理论研究丛书

天然产物：纯化、性质与功能

谢联辉 林奇英 吴祖建 著

科学出版社

北 京

内 容 简 介

本书汇集了福建农林大学植物病毒研究所有关天然产物研究的原创性论文,其中包括源自植物、菌物、海洋生物等的天然产物的纯化、性质和功能,以及拮抗微生物的筛选与利用的科研成果。

本书可供从事天然产物纯化与开发应用的科研人员、高校师生和生产一线人员参考。

图书在版编目 (CIP) 数据

天然产物:纯化、性质与功能/谢联辉等著. —北京:科学出版社,2009
(农业科学技术理论研究丛书)

ISBN 978-7-03-024609-7

I. 天… II. 谢… III. 天然有机化合物-文集 IV. 0629-53

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2009) 第 079306 号

责任编辑:甄文全 / 责任校对:张 琪

责任印制:张克忠 / 封面设计:北极光视界

科学出版社 出版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

双青印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2009 年 6 月第 一 版 开本:A4(880×1230)

2009 年 6 月第一次印刷 印张:30

印数:1—1 000 字数:880 000

定价:75.00 元

(如有印装质量问题,我社负责调换〈双青〉)

前 言

福建农林大学植物病毒研究所，其前身为福建农学院植物病毒研究室（1979～1994）、福建农业大学植物病毒研究所（1994～2000），2000 年改为现名。

本所成立 30 年来，先后获得植物病理学科的硕士学位授予点（1984）、博士学位授予点（1990）、博士后科研流动站（1994）、福建省 211 重点学科（1995）、农业部重点学科（1999）和国家重点学科（2001，2006），获准建设福建省植物病毒学重点实验室（1993）、福建省植物病毒工程研究中心（2003）、教育部生物农药与化学生物学重点实验室（2004）、财政部植物病原学特色专业实验室（2007）和农业部亚热带农业生物灾害与治理重点开放实验室（2008）。

30 年来本所以一个中心（培养高层次人才）、三个推动（科技进步、经济发展和社会文明）为宗旨，以“献身、创新、求实、协作”为所训，以“敬业乐群、达士通人”为目标，主要从事以水稻为主的植物病毒和病毒病害的研究，期间随着学科发展和生产实际的需要，拓展了植物病害和天然产物的研究，先后主持和参加这些研究的有谢联辉、林奇英、吴祖建、周仲驹、胡方平、王宗华、欧阳明安、徐学荣和王林萍等教授，参与研究的博士后有蒋继宏等 7 位（已出站 5 位）、博士研究生有周仲驹等 68 位（已毕业 51 位）、硕士研究生有陈宇航等 136 位（已毕业 94 位），发表学术论文 440 多篇，出版专著、教材 6 部，为了及时总结、便于查阅，特将论文部分汇成三集出版，即《植物病毒：病理学与分子生物学》（其中 2001 年上半年以前发表的水稻病毒论文，已于 2001 年 10 月由福建科学技术出版社出版）、《植物病害：经济学、病理学与分子生物学》和《天然产物：纯化、性质与功能》。

考虑到全书格式的一致性，将原文中的作者简介和通讯作者予以删除。在编辑出版过程中，本所何敦春、高芳銮、张宁宁、欧阳明安、徐学荣、陈启建、庄军、出泽宏、蔡丽君、胡梅群、周剑雄、祝雯、丁新伦、林白雪、郑璐平、谭庆伟等同志做了大量工作，并得到科学出版社甄文全博士的指导和支持，谨此致以衷心的感谢！

谢联辉

2009 年 4 月 16 日

目 录

前言

I 综述·评论

抗病毒蛋白抑制植物病毒的应用前景	2
小分子植物病毒抑制物质研究进展	8
天然抗烟草花叶病毒大分子物质研究进展	14
美洲商陆抗病毒蛋白研究进展	21
臭椿化学成分及生物活性研究进展	28
我国植物源农药研究进展	37
海洋细菌活性物质的研究进展	44

II 菌物源天然产物

杨树菇 (<i>Agrocybe aegerita</i>) 中一种抑制 TMV 侵染的蛋白质纯化及部分特性	50
毛头鬼伞 (<i>Coprinus comatus</i>) 中一种碱性蛋白的纯化及其活性	55
Characterization and amino acid sequence of y3, an antiviral protein from mushroom <i>Coprinus comatus</i>	60
一种食用菌提取物 y3 对烟草花叶病毒的钝化作用及其机制	69
杏鲍菇抗烟草花叶病毒蛋白的筛选	73
榆黄蘑中一种抗病毒蛋白的纯化及其抗 TMV 和 HBV 的活性	78
金针菇中蛋白质含量的变化和其中一个蛋白质的生物活性	83
灰树花中一种抗烟草花叶病毒的蛋白质的纯化及其性质	89
灵芝中一种新的脱氧核糖核酸酶的纯化及特征	94
灵芝金属硫蛋白基因的克隆及序列分析	99
杨树菇中一种脱氧核糖核酸酶的纯化及其性质	103

III 海洋生物源天然产物

珊瑚藻藻红蛋白分离纯化技术及光谱学特性	110
珊瑚藻藻红蛋白 α 亚基脱辅基蛋白基因克隆与序列分析	115
珊瑚藻藻红蛋白 β 亚基脱辅基蛋白基因克隆与序列分析	118
一种新的藻红蛋白的亚基组成分析	123
抗病虫基因新资源: 海洋绿藻孔石莼凝集素基因	127
孔石莼质体蓝素氨基酸序列分析和分子进化	129
孔石莼质体蓝素的柱色谱纯化及其 N 端氨基酸序列的分析测定	135
孔石莼凝集素蛋白基因的克隆与表达	140
海藻蛋白质提取物对香蕉炭疽菌的抑制作用	146
羊栖菜多酚氧化酶特性	150
海藻乙醇提取物抗真菌活性	155
Cloning and sequencing the γ subunit of R-phycoerythrin from <i>Corallina officinalis</i>	160

Cloning and sequence analysis of the full-length cDNAs encoding <i>rpeA</i> and <i>rpeB</i> of R-phycoerythrin from <i>Corallina officinalis</i>	167
Molecular characterization of a new lectin from the marine algae <i>Ulva pertusa</i>	175
Purification and characterization of an anti-TMV protein from a marin algae <i>Ulva pertusa</i>	182
产碱性蛋白酶海洋细菌的筛选与鉴定	188
海洋氧化短杆菌 15E 碱性蛋白酶的酶学性质	193
海洋氧化短杆菌 15E 产碱性蛋白酶的发酵条件	198
A simple and rapid method for the differentiation and identification of thermophilic bacteria	203
Characterization of a recombinant maltogenic amylase from deep sea thermophilic <i>Bacillus</i> sp. WPD616	210

IV 植物源天然产物

15 种植物的单宁提取物对烟草花叶病毒 (TMV) 的抑制作用	220
植物单宁对烟草花叶病毒 (TMV) 的抑制活性	226
丹皮酚对烟草花叶病毒 (TMV) 的抑制作用	231
几种植物提取物对 4 种植物病原真菌的抑制作用	236
26 种植物提取物抗烟草花叶病毒的活性	241
三叶鬼针草中黄酮甙对烟草花叶病毒的抑制作用	246
大蒜精油对烟草花叶病毒的抑制作用	250
大蒜挥发油抗烟草花叶病毒机理	255
银胶菊 (<i>Parthenium hysterophorus</i>) 中抗 TMV 活性成分的分离及活性测定	259
药用植物提取物抗烟草花叶病毒活性的研究	264
杨梅叶提取物抗烟草花叶病毒活性及其化学成分初步研究	268
一种植物提取物对 CMV、PVY ^N 及其昆虫介体的作用	272
臭椿抗烟草花叶病毒活性物质的提取及其初步分离	277
臭椿和鸦胆子抗烟草花叶病毒作用研究	282
核桃叶抑菌成分的提取及其抑菌活性	286
核桃叶提取物对杨毒蛾生物活性的研究	290
鸦胆子素 D 对烟草抗烟草花叶病毒的诱导抗性和保护作用	294
Neolignan and lignan glycosides from branch bark of <i>Davidia involucrata</i>	302
New caffeoyl derivatives from the leaves of <i>Davidia involucrata</i>	307
Antiphytoviral activity of bruceine D from <i>Brucea javanica</i> seeds	312
Two new phenolic water-soluble constituents from branch bark of <i>Davidia involucrata</i>	320
Six new triterpenoid saponins from the leaves of <i>Ilex oblonga</i> and their inhibitory activities against TMV replication	325
Anti-Tobacco mosaic virus (TMV) triterpenoid saponins from the leaves of <i>Ilex oblonga</i>	336
Structure-activity relationship of tireterpenes and triterpenoid glycosides against tobacco mosaic virus	346
绞股蓝核糖体失活蛋白的分离、克隆与表达	354
绞股蓝抗 TMV 蛋白的分离及编码基因的序列分析	357
绞股蓝核糖体失活蛋白的信号肽和上游非编码区	363
快速获得葫芦科核糖体失活蛋白新基因	367
利用核糖体失活蛋白控制植物病虫害	372
抗病虫基因新资源：绞股蓝核糖体失活蛋白基因	377

绞股蓝 RIP 基因双子叶植物表达载体的构建及其对烟草叶盘的转化	379
绞股蓝核糖体失活蛋白家族编码基因的 5 个 cDNA 及其下游非编码区	383
Water-soluble phenylpropanoid constituents from aerial roots of <i>Ficus microcarpa</i>	388
Water-soluble constituents from the leaves of <i>Ilex oblonga</i>	393
Two new cerebrosides and anthraquinone derivatives from the marine fungus <i>Aspergillus niger</i>	399
甘草乙醇浸提液诱导肝癌 SMMC-7721 细胞凋亡的研究	408
New asperxanthone and asperbiphenyl from the marine fungus <i>Aspergillus niger</i>	412
Constituents from the seeds of <i>Brucea javanica</i> with inhibitory activity of <i>Tobacco mosaic virus</i>	421

V 陆生拮抗菌微生物

防治烟草赤星病拮抗根际芽孢杆菌的筛选	428
烟草赤星病拮抗菌株 B75 产生抗菌物质的条件	435
芽孢杆菌三种抗菌素基因的杂交检测	439
线虫寄生菌巴斯德杆菌遗传多样性分析	445
附录	452

I 综述·评论

自然界中存在许多化学结构新颖、生理活性显著和作用机理独特的天然活性物质。近年来，福建农林大学植物病毒研究所先后在大型真菌、植物、海洋微生物中的蛋白质和多糖等大分子活性物质以及植物中小分子活性物质的分离纯化、理化特性、抗病毒抗肿瘤活性等方面进行了研究。作者们分别就各自研究相关领域的国内外研究现状、研究热点、研究进展及存在的问题进行了综述，并对其发展前景进行了评述和展望。主要包括：①蛋白质对植物病毒的抑制作用；②小分子物质对植物病毒的抑制；③天然大分子物质抗烟草花叶病毒；④我国植物源农药研究；⑤海洋细菌活性物质。这些文献综述对准确把握该研究领域的研究动态、瞄准科学前沿、选定研究内容及后人从事该领域的研究均会有很大的帮助。

抗病毒蛋白抑制植物病毒的应用前景

付鸣佳^{1,2}, 谢荔岩¹, 吴祖建¹, 林奇英¹, 谢联辉¹

(1 福建农林大学植物病毒研究所, 福建福州 350002; 2 江西师范大学生命科学学院, 江西南昌 330027)

摘要: 探索应用外源性抗植物病毒蛋白进行植物病毒病的防治, 已经取得了一定的成效; 但不同来源的抗植物病毒蛋白, 它们的作用机理是不完全一样的。根据近年的研究结果, 对这类蛋白的抗病毒作用的机理进行了综述, 并对抗病毒蛋白的应用前景进行了展望。

关键词: 植物病毒; 抗病毒蛋白; 抗植物病毒蛋白的来源; 抗病毒机理

中图分类号: Q939.46 **文献标识码:** A **文章编号:** 1007-7847 (2005) 01-0001-05

Application and prospect of antiviral protein on inhibiting plant virus

FU Ming-jia^{1,2}, XIE Li-yan¹, WU Zu-jian¹, LIN Qi-ying¹, XIE Lian-hui¹

(1 Institute of Plant Virology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002;

2 College of Life Sciences, Jiangxi Normal University, Nanchang 330027)

Abstract: Some methods of successful controlling plant viral disease has been achieved because of the application of foreign antiphytoviral protein, Different sources of proteins have different antiviral mechanism. Based on recent process, the active mechanism, present application and future prospect of foreign antiphytoviral protein are reviewed.

Key words: plant virus; antivirus protein; source of antiphytovirus protein; antiviral mechanism

植物病毒病是农作物的主要病害, 可对多种作物造成不同程度的危害, 对农业生产构成了严重的威胁, 目前大约 1000 多种植物病毒病已被世人所认识。从经济角度来看, 这类病害的重要性仅次于真菌病害。由于引起作物的严重经济损失, 植物病毒病的防治早已是研究者关注和研究的对象。对于这类病害的防治, 已经发展了多种防治策略来控制这类病害。由于病毒在植物细胞中绝对寄生, 其复制所需的物质、能量和场所完全依赖寄主, 且植物没有完整的免疫代谢系统, 因此迄今为止, 几

乎没有能有效地从感染病毒的植株上完全除去病毒的化学药剂。此外, 采用切断病毒的感染途径、组织脱毒和抗病毒育种等传统方法都无法从根本上减轻病毒病的危害。近 20 年发展起来的抗病毒转基因植物, 在农业生产方面应用前景广阔; 其主要的是将病毒的外壳蛋白基因、复制酶基因、蛋白酶基因、移动蛋白基因等导入植物体中, 对植株产生不同程度的保护作用; 但应用病毒基因组来源的抗病毒转基因植物存在一定环境风险。

来自植物和其他生物的多种蛋白质在防治植

物病毒病的研究方面已经取得了有益的进展。应用这类蛋白质,可直接抑制植物病毒的增殖,而以这类蛋白质的基因转入植物中,在植物体中表达可抑制病毒的侵入和增殖。应用这类蛋白质的基因转化植株,不仅仅是获得了不同来源的基因,而且有植物病毒本身的基因转化植株所获得的抗病毒植株所无法取代的优点,那就是存在的环境风险要小,在环境中无病毒和所转基因的重组,显然这是一个非常值得研究和探索的抗植物病毒途径。

1 抗植物病毒蛋白的来源

植物来源的抗病毒蛋白是十分丰富的,已经从多种科属的植物中发现了抗病毒蛋白。从不同季节和植株的不同部位的美洲商陆(*Phytolacca americana*)上可分离到数种抗病毒蛋白,即春叶上合成的 PAP (phytolacca antiviral protein, PAP)^[1],夏叶上产生的 PAP II^[2],以及从种子^[3]和根部^[4]分别可获得 PAP-S 和 PAP-R。从紫茉莉(*Mirabilis jalapa*)上可分离到一种抗病毒蛋白 MAP (mirabilis antiviral protein, MAP)^[5]。此外从康乃馨(*Dianthus caryophyllus*)、*Dianthus barbatus*^[6]、苋色藜(*Chenopodium amaranticolor*)^[7]、*Celosia cristata*^[8,9]和苦郎树(*Clerodendrum inerme*)^[10]等植物上都发现有抗植物病毒蛋白质。Hajj 等^[11]检测了 15 种豆类植物汁液,结果都有抗植物病毒侵染的作用,推测这类抑制物是与凝集素有关的高分子蛋白类物质。这类蛋白从目前的报道来看,大都集中来源于数种植物。

在其他生物中也发现有限的数种抗植物病毒蛋白质,如在大型真菌子实体中^[1,12-14]以及在蜂毒中均发现有这类蛋白质^[15]。但这并不意味着这类蛋白质在其他生物中存在不多或有限,原因是在其他生物中也发现有难以计数的多种活性蛋白质。

2 抗病毒机理

2.1 抗病毒蛋白使核糖体脱嘌呤,抑制蛋白质合成,从而达到抗病毒的效果

目前研究较为详细的抗病毒机理是在美洲商陆抗病毒蛋白上。PAP 作为一类从商陆中提取的抗病毒蛋白,实际上是一类同工酶,它们可使真核细胞核糖体活性丧失,和蓖麻毒素 A 一样属核糖体失活蛋白(ribosome inactivating protein,

PIP)。PIP 显示 N-糖苷酶活性,可特异地水解去除 28S RNA 中一个保守环上特异位点(4324 位)的腺嘌呤,使核蛋白无法结合延伸因子 2(EF-2)^[16],因此抑制蛋白质的合成。Watanabe 等^[17]加 0.33mmol/L 的 PAP 到接种有烟草花叶病毒(*Tobacco mosaic virus*, TMV)的原生质体中,引起对 TMV 的完全抑制;同样的 PAP 浓度可抑制感染病毒的原生质体中蛋白质合成,并杀死细胞,但不影响未感染的原生质体;浓度依赖的 PAP 抑制蛋白质的合成与抑制病毒增殖有关。Ready 等^[18]用电子显微镜研究了 PAP 抗体在美洲商陆细胞壁间的定位,表明细胞壁和细胞膜的渗漏和破裂可让 PAP 这种酶进入细胞质,并可能抑制蛋白质的合成,损伤细胞。Bonness 等^[19]证明 PAP 可使美洲商陆核糖体失活,对美洲商陆细胞有潜在的毒性,因此以原位自杀模式(local suicide model)作为美洲商陆中 PAP 的抗病毒机制,同时强调了 PAP 和细胞中核糖体在空间上的分离。在对 MAP 的研究时也有类似的情况出现,当内源 MAP 通过细胞的破裂进入细胞质中时,就能关闭自身细胞的蛋白质的合成。因此推测 MAP 是通过细胞的自杀行为来诱导对病毒抗性^[20]。Taylor 等^[21]通过比较包括 PAP 在内的几个 RIP,推断 RIP 抗病毒活性正是通过核糖体失活起作用。Chen 等^[22]的研究结果也表明寄主核糖体的脱嘌呤和核糖体失活是 PAP 抑制病毒侵染的原因。

2.2 抗病毒蛋白直接作用于病毒的核酸上,导致脱嘌呤,使病毒不能正常复制

有学者研究后认为病毒中的核酸也可受到抗病毒蛋白的破坏。Rajamohan 等^[23]采用定量高效液相色谱分析,认为 PAPI (来自春叶)、PAPII (来自早夏叶)和 PAPIII (来自晚夏叶)能引起人 HIV- I (*Human immunodeficiency virus I*)和植物 TMV 的基因组 RNA 的脱嘌呤;在抑制外周单核血细胞中 HIV- I 的复制时,它们的 IC₅₀分别为 17nmol/L、25nmol/L 和 16nmol/L。由这一结果表明 PAP 的抗病毒活性也包括对病毒本身 RNA 的脱嘌呤作用。

2.3 抗病毒蛋白识别加帽 RNA 并特异地使之脱嘌呤,导致病毒核基因信息不能正常翻译

PAP 据知是通过去除大 rRNA 上 sarcin/ricin

(S/R) 环的一个特异腺嘌呤而使核糖体失活，因此抑制翻译。除了以前已确定的腺嘌呤 (A4324) 以外，PAP 还去除真核细胞大 rRNA 的另一个腺嘌呤 (A4321) 和一个鸟嘌呤 (G4323)。最近的结果表明 PAP 的抗病毒活性可能并非是由于寄主核糖体的脱嘌呤。使用不会导致烟草 rRNA 和网织红细胞 (reticulocyte lysate) rRNA 脱嘌呤的 PAP 突变体，证明 PAP 在没有脱嘌呤的情况下，可抑制雀麦花叶病毒 (*Brome mosaic virus*, BMV) 和马铃薯 X 病毒 RNA 的翻译。此外，只有在加帽的翻译上，如荧光素酶 (luciferase) 的转录本就可受到 PAP 的抑制，而不加帽的翻译却并非如此。这证明 PAP 和 PAP 的突变体能够识别加帽和不加帽的转录。在预先提高帽的类似物 m⁷GpppG 的浓度的情况下，可克服 PAP 对 BMV RNA 翻译的抑制，而 GpppG 和 GTP 无此效果，表明 PAP 可识别帽结构。MV RNA 或者加帽的荧光素酶转录本同 PAP 共同孵育也可导致 RNA 脱嘌呤。相应地，相同浓度的 PAP 在同未加帽的荧光素酶转录本孵育以后，未脱嘌呤。这些结果证明 PAP 抑制翻译的主要机制是识别帽结构，并使加帽 RNA 特异地脱嘌呤，而非使核糖体脱嘌呤^[24]。

2.4 抗病毒蛋白诱导植物病程相关蛋白的表达

Zoubenko 等^[25]在研究 PAP 及它的突变体转基因时，发现转基因植物中 I 类和 II 类异构体病程相关蛋白 (pathogenesis related protein, PR) 过表达。在表达 PAP 确转基因系中，也有 PR1 的构成性表达^[26]。此外，也有学者通过研究 PAP 的一个突变体 PAP-v，发现 PAP-v 在转基因植物中诱导表达病程相关蛋白的合成和水杨酸的微弱提高^[27]。

2.5 抗病毒蛋白诱导其他蛋白或物质的产生，使植株产生系统抗性

在研究其他抗病毒蛋白时，也有学者发现这些蛋白可诱导寄主的系统抗性。当 MAP 用在基部叶片上，而后将 TMV 接种在上一叶时，烟草可抗 TMV，表明 MAP 可诱导系统抗性^[5]。在黄细心^[28]中所获得的抗病毒蛋白也属系统诱导抗性。在黄细心中的诱导与聚丙烯酸诱导的抗性相同，可被放线菌素-D (actinomycin-D) 抑制。将 *Celosia-*

cristata 中获得的一种抗病毒蛋白与放线菌素-D 一起应用在心叶烟叶表面上，其抑制活性是不可逆的；而这种抗病毒蛋白与 TMV 一起混合，再通过超离心的方法，TMV 可恢复侵染活性，而离心的悬浮液却无像 TMV 一样的侵染活性，因此这种抗病毒蛋白的作用机制是干扰病毒在寄主中的重建^[8,9]。至于在黄细心和 *Clerodendrum aculeatum* 上所获得的抗病毒蛋白据认为是诱导植物合成抗病毒蛋白，而本身并不具有抗病毒活性，因此这类蛋白质也称为系统抗性诱导者 (systemic resistance inducer, SRI)^[29]。

2.6 抗病毒蛋白作为酶抑制剂，可特异地抑制与病毒复制相关的蛋白酶，从而抑制病毒复制

Gutierrez-Campos 等^[30]根据马铃薯 Y 病毒属 (*Potyvirus*) 的作用机制都涉及巯基蛋白酶这一特点，将一水稻巯基蛋白酶抑制剂基因导入烟草中进行构成性表达，结果发现不同的烟品种中表达这一基因时可对烟草蚀纹病毒 (*Tobacco etch virus*, TEV) 和马铃薯 Y 病毒有抗性，但对 TMV 无抗性，这是因为 TMV 的侵染过程不涉及巯基蛋白酶，这一结果表明巯基蛋白酶抑制剂对马铃薯 Y 病毒属病毒有抗性，对其他复制时涉及巯基蛋白酶的病毒也可能有抗性。

3 抗病毒蛋白在植物上的抗病毒谱

Duggar 等在 1925 年报道了美洲商陆汁液抑制黄瓜花叶病毒 (*Cucumber mosaic virus*, CMV) 和烟草花叶病毒 (*Tobacco mosaic virus*, TMV)。从目前的报道来看，PAP 属于广谱性抗植物病毒蛋白。Holling (1959) 研究了商陆汁液在一些寄主上对 TMV、烟草坏死病毒 (*Tobacco necrosis virus*, TNV) 和苜蓿花叶病毒 (*Alfalfa mosaic virus*, AIMV) 的抑制作用。Wyatt 等 (1969) 指出 PAP 抗南方菜豆花叶病毒 (*Southern bean mosaic virus*, SBMV)。Tomlinson 等 (1974) 研究了 PAP 抗 CMV。Chen 等^[31]报道，纯化自商陆叶片中的 PAP 用枯斑寄主测试时，抗 5 种 RNA 植物病毒，即 TMV、CMV、AIMV、马铃薯 X 病毒 (*Potato virus X*, PVX) 和马铃薯 Y 病毒 (*Potato virus Y*, PVY)；用系统寄主测试时，花椰菜花叶病毒 (*Cauliflower mosaic virus*, CaMV) 和一种单链 DNA (ssDNA) 病毒非洲木薯花叶病

毒 (*African cassava mosaic virus*, ACMV)。此外,采用基因工程获得的转 PAP 基因植物,所抗病毒的种类有芜菁花叶病毒 (*Turnip mosaic virus*, TuMV)^[32]、PVX、PVY 和 CMV^[33]。在紫茉莉上也存在属于 RIP (ribosome inactivating protein) 的抗病毒蛋白 MAP,对机械传播的病毒如 TMV、PVY、黄瓜绿斑驳病毒 (*Cucumber green mottle virus*) 和芜菁花叶病毒^[5]有极高的抗性。在 TMV 接种前 24h MAP 的用量达 0.8mg/L 时,几乎可完全抑制接种在 Xanthine 烟叶表面上的 TMV。而当 MAP 用量达 10mg/L 并接种在叶下表面时,抑制率可达 50%。Stevens 等^[34]检测了 *Momordica charantia* inhibitor (MCI)、gelonin (来自 *Gelonium multiflorum*) 和另外 3 种毒素,即 ricin、abrin 和 modeccin (分别来自 *Ricinus communis* 的种子、*Abrus precatorius* 的种子和 *Adenia digitata* 的根)的抗 TMV 活性,表明或多或少对 TMV 有一定的抗性。此外,两种植物,即 *Bryonia dioica* 种子和康乃馨叶片的汁液可以 100% 地抑制 TMV 的侵染。在康乃馨叶片上也分离到两个蛋白质 Dianthin30 和 Dianthin32,当它们和 TMV 共接种在心叶烟上时,抑制率达 100%^[35]。Cho 等^[36]检测了 6 种植物,即菠菜 (*Spinacia oleracea*)、*Amaranthus lividus*、*Dianthus superbus*、*Dianthus sinensis*、*Celosia cristata*、*Oenanthestolonifera* 的粗蛋白质在心叶烟上抗 TMV 的活性,结果表明这 5 种植物的粗蛋白质对病毒抑制率在 70%~90%。这些结果表明,植物中的抗病毒蛋白形式多样,都具有非常好的抗病毒活性,且许多这类蛋白质抗病毒谱都很广。

4 问题和展望

对于作物上植物病毒的危害,目前还没有更多特别有效的防治方法。由于植物病毒生物学功能的特殊性,带给抗病毒的研究许多困难。从目前获得的小分子类抗植物病毒剂来看,还没有非常特效的制剂。同时这些小分子抗病毒药剂的持续能力也是有限的,必须多次给药,缺陷是不言而喻的。而应用病毒来源的基因转入植株,所产生的转基因抗病毒植物,可以说突破了传统的一些筛选抗病毒基因的方法,在短期内可获得抗病毒转基因作物。但这种方法也存在不少问题,一方面抗性范围比较窄;另一方面存在一定的环境风险,导致病毒间基因的重组等情况,新的有害生物的产生

也会给农业生产带来更严重的问题。这为我们寻找新的可用于转基因的抗病毒蛋白提出了更高的要求。

关于植物抗病毒的研究,许多学者在多方面进行了有益的尝试和探索,这为我们从多方面和多角度的寻求抗植物病毒途径展开了更为丰富的思路。应用抗植物病毒蛋白进行植物病毒病的防治,通过一些学者的努力已经有所突破。从所发现的这类蛋白质来看,大部分都具有酶的活性,或者作为酶的抑制剂;也有的蛋白质在进入植物体以后可以诱导其他抗性物质的产生,显然这类蛋白质是基因的调控者,这种结果也间接告诉我们,植物当中本身就存在抗病毒基因,一旦有合适的诱导蛋白存在就可导致抗生物物质的产生。因此,我们可以针对这类作物来寻找其中的抗性基因的诱导者。

根据某些抗病毒蛋白的作用机理,已经获得了数种抗植物病毒转基因作物^[32,33],但无论是应用还是理论研究,这是远远不够的。从目前来看,国外这方面的研究明显处于研究的前沿。无论从抗病毒蛋白的发现和纯化到抗病毒蛋白的分子生物学研究,国外都做了较为系统而细致的工作,而且这些工作许多都得到了延伸而进入了其他领域。例如,美洲商陆抗病毒蛋白的研究,最初的发现仅是抗植物病毒活性,但目前已经知道该蛋白质是一个核糖体失活蛋白,具有多种生物活性,因此在农业和医学方面都有应用。但抗病毒蛋白在实际应用方面还不够普遍。除了个别抗病毒蛋白的应用取得了一定的成功外,许多蛋白质的研究还处于理论的研究状态。因此,要对这类蛋白质做出一个恰如其分的评价,还不容易做到。但是应用这类蛋白质作为转基因工程植株的材料,无论从环境、生物的多样性以及基因资源的开发利用来看,肯定会带来良好的前景。

参考文献

- [1] Irvin JD. Purification and partial characterization of the antiviral protein from *Phytolacca americana* which inhibits eukaryotic protein synthesis. Arch Biochem Biophys, 1975, 169: 522-528
- [2] Irvin JD, Kelly T, Robertus JD. Purification and properties of a second antiviral protein from *Phytolacca americana* which inactivates eukaryotic ribosomes. Arch Biochem Biophys, 1980, 200: 418-425
- [3] Barbieri L, Arong M, Irvin JD, et al. Purification and partial characterization of another form of the antiviral protein from the

- seeds of *Phytolacca americana* L. (pokeweed). *Biochem J*, 1982, 203(1): 55-62
- [4] Bolognesi A, Barbieri L, Abbondanza A, et al. Purification and properties of new ribosome inactivating proteins with RNA N-glycosidase activity. *Biochem Biophys Acta*, 1990, 1087: 293-302
- [5] Kubo S, Ikeda T, Imaizumi S, et al. A potent plant virus inhibitor found in *Mirabilis jalapa* L. *Ann Phytopath Soc Japan*, 1990, 56: 481-487
- [6] Taniguchi T. Inhibition of plant virus infection by extracts from seeds of *Dianthus barbatus* L. *Ann Phytopath Soc Japan*, 1980, 46: 628-633
- [7] Taniguchi T, Goto T. Purification of an inhibitor of plant virus infection occurring in the leaves of *Chenopodium amaranticolor*. *Ann Phytopath Soc Japan*, 1976, 42: 42-45
- [8] Baranwal VK, Verma HN. Localized resistance against virus infection by leaf extract of *Celosia cristata*. *Plant Pathology*, 1992, 41: 633-638
- [9] Baranwal VK, Verma HN. Characteristics of a virus inhibitor from the leaf extract of *Celosia cristata*. *Plant Pathology*, 1997, 46: 523-529
- [10] Prasad V, Srivastava S, Verma HN. Two basic proteins isolated from *Clerodendrum inerme* Gaertn. are inducers of systemic antiviral resistance in susceptible plants? *Plant Science*, 1995, 110: 73-82
- [11] Haj JB, Stevens WA. The effects of legume seed extracts of plant virus infection. *Experientia*, 1979, 35(11): 1460-1462
- [12] Hiramatsu A, Hiramatsu A, Akatsuka A. Purification and chemical properties of an inhibitor of plant virus infection from fruiting bodies of *Lentinus edodes*. *Agric Biol Chem*, 1987, 51(3): 883-890
- [13] Hiramatsu A, Kobayashi N, Naofumi O. Properties of two inhibitors of plant virus infection from fruiting bodies of *Lentinus edodes* and from leaves of *Yucca recurvifolia* Slisb. *Agr Biol Chem*, 1987, 51(3): 897-904
- [14] 孙慧, 吴祖建, 谢联辉等. 杨树菇(*Agrocybe aegerita*)中一种抑制 TMV 侵染的蛋白质纯化及部分特性. *生物化学与生物物理学报*, 2001, 33(3): 351-354
- [15] Perez-Paya E, Houghten RA, Blondell SE. The role of amphipathicity in the folding, self-association and biological activity of multiple subunit small proteins. *J Biol Chem*, 1995, 270: 1048-1056
- [16] Gessner SL, Irvin KD. Inhibition of elongation factor-dependent translocation by the pokeweed antiviral protein and ricin. *J Biol Chem*, 1980, 255: 3251-3253
- [17] Watanabe K, Kawasaki T, Sako N, et al. Actions of pokeweed antiviral protein on virus-infected protoplasts. *Biosei Biotechnol Biochem*, 1997, 61(6): 994-997
- [18] Ready MP, Brown D, Roberts JD. Extracellular localization of pokeweed antiviral protein. *PNAS*, 1986, 84: 5053-5056
- [19] Bonness MS, Ready MP, Irvin JD, et al. Pokeweed antiviral protein inactivates pokeweed ribosomes implications for the antiviral mechanism. *Plant J*, 1994, 5(2): 173-183
- [20] Kataoka J, Habuka N, Miyano M, et al. Adenine depurination and inactivation of plant ribosomes by an antiviral protein of *Mirabilis jalapa* (MAP). *Plant Mol Biol*, 1992, 20: 1111-1119
- [21] Taylor S, Massiah A, Lomonosoff G, et al. Correlation between the activities of five ribosome-inactivating proteins in depurination of tobacco ribosomes and inhibition of *Tobacco mosaic virus* infection. *The Plant Journal*, 1994, 5(6): 827-835
- [22] Chen ZC, Antoniow JF, Lin Q, et al. A possible mechanism for the antiviral activity of pokeweed antiviral protein. *Physiol Mol Plant Pathol*, 1993, 42(4): 249-258
- [23] Rajamohan F, Venkatachalam TK, Irvin JD, et al. Pokeweed antiviral protein isoforms PAP-I, PAP-II, and PAP-III depurinate RNA of *Human immunodeficiency virus* (HIV)-1. *Biochem Biophys Res Commun*, 1999, 260(2): 453-458
- [24] Hudak KA, Wang P, Tumer NE. A novel mechanism for inhibition of translation by pokeweed antiviral protein: depurination of the capped RNA template. *RNA*, 2000, 6(3): 369-380
- [25] Zoubenko O, Uckun F, Hur Y, et al. Plant resistance to fungal infection induced by nontoxic pokeweed antiviral protein mutants. *Nature Biotechnology*, 1997, 15(10): 992-996
- [26] Wang P, Zoubenko O, Tumer NE. Reduced toxicity and broad spectrum resistance to viral and fungal infection of transgenic plants expressing pokeweed antiviral protein II. *Plant Molecular Biology*, 1998, 38: 957-964
- [27] Smirnov S, Shulaev V, Tumer NE. Expressing of pokeweed antiviral protein of transgenic plants induced virus resistance in grafted wild-type plants independently of salicylic acid accumulation and pathogenesis-related protein synthesis. *Plant Physiology Lancaster Pa*, 1997, 114(3): 1113-1121
- [28] Verma HN, Awasthi LP, Saxena KC. Isolation of the virus inhibitor from root extract of *Boerhaavia diffusa* inducing systemic resistance in plants. *Can J Bot*, 1979, 57: 1214-1217
- [29] Verma HN, Baranwal VK, Srivastava S. Antiviral substance of plant origin. In: Hadidi A, Khtarpal RK, Koganezawa H. *Plant virus disease control*. St Paul, Minnesota: The American Phytopathological Society, 1998, 684
- [30] Gutierrez-Campos R, Torres-Acosta JA, Sauce-Do-Arias LJS, et al. The use of cysteine proteinase inhibitors to engineer resistance against potyviruses in transgenic tobacco plants. *Nature Biotechnology*, 1999, 17: 1223-1226
- [31] Chen ZC, White RF, Antoniow JF, et al. Effect of pokeweed antiviral protein on the infection of plant viruses. *Plant Pathol*, 1991, 40: 612-620
- [32] 张海燕, 田颖川, 周奕华等. 将商陆抗病毒蛋白(PAP)cDNA导入油菜获得抗病毒转基因植株. *科学通报*, 1998, 43(23): 2534-2537
- [33] Lodge JK, Kaniewski WK, Tumer NE. Broad-spectrum virus resistance in transgenic plants expressing pokeweed antiviral protein. *PNAS*, 1993, 90: 7089-7093
- [34] Stevens WA, Spurdon C, Ongon LJ, et al. Effect of inhibitors

- of protein synthesis from plants of *Tobacco mosaic virus* infection. *Experientia*, 1981, 37: 257-259
- [35] Stirpe F, Wiluams DG, Onyon LJ, et al. Dianthins, ribosome-damaging proteins with antiviral properties from *Dianthus caryophyllus* L. (carnation). *Biochem J*, 1981, 195 (2): 399-405
- [36] Cho HJ, Lee SJ, Kim S, et al. Isolation and characterization of cDNAs encoding ribosome inactivating protein from *Dianthus sinensis* L. *Mol Cells*, 2000, 10(2): 135-141

小分子植物病毒抑制物质研究进展*

孙慧, 吴祖建, 林奇英, 谢联辉

(福建农林大学植物病毒研究所, 福建福州 350002)

摘要: 论述了小分子病毒抑制物的结构及对病毒的抑制机理, 讨论了植物病毒抑制剂研究中存在的问题及研究前景。

关键词: 小分子植物病毒抑制物质; 结构; 抑制机理

中图分类号: S432 **文献标识码:** A **文章编号:** 1006-7817 (2002) 03-0311-06

Advances in study on low molecular mass phytoviral inhibitors

SUN Hui, WU Zu-jian, LIN Qi-ying, XIE Lian-hui

(Institute of Plant Virology, Fujian Agriculture and Forestry University, Fuzhou 350002)

Abstract: The structures and inhibiting virus mechanisms of low molecular mass phytoviral inhibitors were reviewed, and the problems and perspective of the study were discussed.

Key words: low molecular weight phytoviral inhibitor; structure; inhibiting mechanism

植物病毒病害每年都给农业生产造成巨大损失, 如全世界每年因烟草花叶病毒 (TMV) 危害就造成 1 亿多美元的损失^[1]。但由于植物病毒的绝对寄生性, 其生命周期需要寄主细胞能量与酶系统的参与; 因此, 植物病毒病的防治一直是植物病毒学研究中的难点和热点问题。一些能防治植物病毒病的保护剂、治疗剂和可以诱导植物抗病性药剂已开始投入使用。植物病毒抑制物质按其分子质量可划分为化学小分子和生物大分子物质两大类, 其中小分子的抗病毒物质按其来源可归纳为人工合成的化学物质和天然活性物质。本文就小分子抗病毒物质作一简要综述。

1 化学合成类小分子植物病毒抑制剂

1.1 有机酸类

有机酸类主要包括羧酸类和磺酸类。羧酸类中十二烷基氨基乙酸、阿司匹林、乙酰水杨酸和聚丙烯酸 (PA) 对 TMV 都有较好的抑制作用^[2]。它们的抗病毒机理是诱导植物获得系统抗病性, 产生病程相关蛋白 (pathogenesis-related protein, PR-P)。

此外, 多种氨基酸的衍生物具有较好的抑制病毒效果。Schuster 把乙基硫氨酸施用于三生烟 (*Nicotiana tabacum* Samsun) 叶片上, 能显著抑制马铃薯 X 病毒 (PVX) 的复制, 对-氟苯丙氨酸和 5-甲基-DL-色氨酸具有同样的作用^[3]。日本学

者 Hirki 等报道了一系列甘氨酸衍生物能很好地防止 TMV 和马铃薯病毒的传染^[4]。刘润玺开发出的菌毒清 [N-(二辛胺乙基) 甘氨酸] 可用于防治大白菜、番茄、瓜类、水稻和花生等作物的多种病毒病。

1978~1979 年, 日本的 Shigematsu 等报道了多种磺酸类化合物具有抗 TMV 和黄瓜花叶病毒 (CMV) 活性^[3]。20 世纪 90 年代初, 德国的 Hoferek 等把磺酸基引入到二苯乙烯 (炔) 类化合物中, 后来又引入到三嗪杂环^[3]中。这些化合物可有效地抑制 TMV 对烟草的侵染^[3]。

1.2 具有杂环结构的植物病毒抑制剂

这类病毒抑制剂的研究主要集中在嘌呤和嘧啶类物质。多种嘌呤和嘧啶类物质及其衍生物对植物病毒有较强的抑制作用, 一直是植物病毒抑制剂筛选的重点目标。20 世纪 70 年代 Meyer 等发现 2-硫尿嘧啶对 TMV、CMV 和苜蓿花叶病毒 (AMV) 有一定的抑制效果, 但药害严重; 并认为它会抑制三生烟 TMV-RNA 中磷的掺入, 以³²P 掺入 25S 的核糖体, 掺入量越多, 对 TMV-RNA 的抑制作用越强; 同时证明 TMV-RNA 在染病叶组织中的积累减少, 二氮杂嘧啶的作用与之相似^[2]。Kluge 合成了硫代尿嘧啶类化合物, 作为植物病毒抑制剂它能使豌豆植株上的红三叶草病毒明显减少^[5]。

Willam 等检测了 10 种碱基或核酸类似物 (共 131 种) 对叶圆片中的 TMV、豇豆褪绿斑驳病毒 (CCMV) 的抑制效果, 发现糖基修饰以及稀有基团修饰的类型大多具有较高的抗病毒活性; 并鉴定了 8 种新的高效植物病毒复制抑制物即 6-氨基胞嘧啶 (6-aminocytosin, 6-AC)、6-乙基巯基嘌呤 (6-ethylmercap-topurine, 6Emp)、异戊烯基腺苷 (isopentenyladenosine)、2-硫代嘧啶 (2-thiopyrimidine)、2,4-二硫嘧啶 (2,4-dithiopyrimidine)、melamine、5'-碘代-5'-脱氧腺苷 (5'-iodo-5'-deoxyadenosine) 和 5'-甲基-5'-硫代脱氧腺苷 (5'-methyl-5'-deoxythioadenosine)^[6]。

Huber 等研究了 17 种嘌呤和嘧啶衍生物, 发现 8-氮杂鸟嘌呤、8-氮杂腺嘌呤和 6-丙基-2-硫代尿嘧啶在对叶圆片没有药害的浓度下对 PVX 有抑制活性^[7]; 6-氮杂尿嘧啶和 8-氮杂鸟嘌呤在病毒复制时期起作用; 8-氮杂腺嘌呤和 6-丙基-2-硫代尿嘧啶在病毒复制晚期起作用; 8-氮杂鸟嘌呤对黄瓜、心叶烟、普通烟上的 TMV、CMV 和 AMV

有很强的抑制作用, 甚至可完全抑制发病; 8-氮杂鸟嘌呤进入豌豆后, 很快转化为 8-氮杂黄嘌呤、紫色荧光物质和蓝色荧光物质。故推测后 2 种物质可能与抗病毒作用有关。在感病的番茄品种中施用 8-氮杂鸟嘌呤可使番茄中与病毒复制有关的高分子蛋白质的合成受抑制^[2]。

Sapanekar 等^[8]发现, 在接种前后喷施体积分数为 50×10^{-6} 的 6-氮杂尿嘧啶 (6-azauracil) 和 5-硝基尿嘧啶 (5-nitouracil), 对番茄斑萎病毒 (TSWV) 有较好的抑制效果。

Schuster 等^[9]发现激动素 Kinetin (6-糠胺基嘌呤) 是较好的核苷酸衍生物, 对病毒的专一性较强, 而对寄主的药害较弱; 1994 年又发现 6-氨基尿嘧啶、6-氨基胸腺嘧啶和 9-(2,3-二羟基丙基) 腺嘌呤能够抑制 TMV 和 PVX 的复制酶活性, 抑制病毒复制。

Yordanova 等^[10]发现: DD13 [1-morpholino methyl-tetrahydro-2(1H)-pyrimidinone] 是一种对病毒可特异抑制、对植株没有药害的病毒抑制剂; 对原生质体、活体组织和温室植株上的病毒侵染都有抑制作用, 在体外对病毒的抑制率为 96%; 对感染番茄花叶病毒 (ToMV) 和 CMV 的植株保护率为 97%~100%; 它对病毒的抑制机理可能是抑制了病毒 RNA 的合成。

在对含三唑杂环的植物病毒抑制剂的研究中, 对病毒唑的研究最为深入。病毒唑 (Ribavirinor Virazole, 1-B-D-呋喃糖苷-1,2,4-三唑-3-氨基甲酸酯) 是一种羟基酰胺, 最初是作为人和动物体内病毒抑制剂被研究开发的, 后来发现它可以抗多种植物病毒, 如对 PVX、TMV、豇豆花叶病毒 (CoMV)、CMV、马铃薯 Y 病毒 (PVY)、芜菁黄花叶病毒 (TuMV)、雀麦花叶病毒 (BMV)、马铃薯 M 病毒 (PVM)、苹果花叶病毒 (ApMV)、烟草坏死病毒 (TNV) 及柑橘裂皮病毒 (CEV) 等十种植物病毒都有不同程度的防治效果 (大田防效为 30%~60%)^[11]; DHT 和 DA·DHT 对 PVX 有特殊功效, 同时对 PVY、马铃薯 A 病毒 (PVA)、马铃薯 S 病毒 (PVS)、PVM、TMV、甜菜坏死黄脉病毒 (BNYVV)、黄瓜绿斑驳花叶病毒 (CGMMV)、西瓜花叶病毒 (WMV)、CMV、马铃薯卷叶病毒 (PLRV)、烟草脆裂病毒 (TRV) 和紫色坏死斑病毒 (PNRV)、草莓皱缩病毒 (SCrV)、草莓斑驳病毒 (SmoV) 等许多植物病毒也都有不同程度的治疗效果^[12-14]。它们不

仅可以有效地抑制 PVX 的增殖,还有一定的增产作用,若与病毒唑混合使用,可显著提高其防效。中国武汉大学化学学院进行 DHT 衍生物的合成及其抗病毒作用的研究,并取得了一定的进展^[15,16]。日本的 Noguchi 最早报道噻二唑衍生物具有抗病毒活性^[3]。Walter 等发现苯并(1,2,3)噻二唑-7-羧酸衍生物 [benzo(1,2,3) thiasiazole-7-carbothioic acid S-methylester, BTH] 对 PVY 有较好的抑制效果。BTH 能激发植物获得系统抗病性,提高植株对病毒病害、真菌病害和细菌病害的抗性,应用于多种作物的大田生产中以抵抗广谱病原菌的侵染^[17]。另外,还有许多研究报道含有咪唑环、吡啶环和噻唑环的化合物可作为植物病毒抑制剂^[13]。

1.3 (硫)脲类植物病毒抑制剂

早在 20 世纪 70 年代,人们知道硫脲类化合物对植物病毒有一定的抑制作用,如硫半缩二氨基脲(TSC)的衍生物对菽麻花叶病毒(SHMV)和千日红花叶病毒(SMV)有抑制作用,但有寄主专一性^[2]。德国的 Schuster 等^[9]对硫脲类化合物进行了较详细的研究,报道了某些脲和硫脲衍生物存在 *N,N'*位取代和 S 取代,具有较强的抑制病毒活性作用。Davarski 等^[18]发现二硫脲金属复合物(bis-tiourea metal complex)也具有抑制植物病毒的能力。二硫脲与 Cu^{2+} 、 Ni^{2+} 和 Co^{2+} 等结合可以极大地增强其抗病毒活性,而 Fe^{2+} 和 Cd^{2+} 则对抗病毒活性没什么影响,但它们的光谱特性相似。故可推测二硫脲与金属离子之间互作竞争细胞上的阳离子结合位点有关。

2 天然小分子植物病毒抑制剂

对天然小分子植物病毒抑制剂的研究远不如对人工合成制剂那么广泛和深入,目前主要研究的是激素类和植物中天然活性物质。

2.1 植物激素类

植物激素类包括 2,4-D、赤霉素、抗病毒醚、胞激素和激动素等,它们可刺激寄主生长,其中一些激素也可抑制病毒的增殖。2,4-D 对 PVX 和 PVY 有疗效,可使马铃薯卷叶病症状潜隐;萘乙酸可抑制 TMV 的增殖;赤霉素(GA)可用来恢复 PVX、PVY 混合侵染引起的马铃薯矮化;在患有伪桃病的桃树上连续 2 个夏季喷施体积分数为

264×10^{-6} 的 GA,可使病枝恢复正常生长^[19]。以质量浓度为 $25 \mu\text{g/mL}$ 的激动素(kinetin)施在曼陀罗上,可显著减少 TMV 产生的枯斑数,同时也能抑制 TMV 在叶片中的积累。胞激素不能抑制 TMV 的增殖,但可使对 TMV 过敏的烟草获得抗病性;吲哚-3-乙酸和吲哚丁酸可抑制 TMV 的增殖^[12]。植物激素常常作为其他病毒抑制剂的辅助药剂使用,如与病毒唑混合使用以减轻药害;与某些药剂混合使用,可以刺激植物生长,减轻症状。

2.2 植物中的抗植物病毒物质

多种植物的粗提液对植物病毒有较强的抑制作用,如石竹科和藜科等植物、苔藓和蕨类植物及多种中草药植物。此外,昆虫和微生物粗提液对植物病毒也有较好的抑制作用^[4]。对类黄酮抑制植物病毒的活性方面的研究较为深入,类黄酮是具有生物活性的物质,在植物中广泛存在,可以抗动物病毒和植物病毒^[20],如 3-O-甲基槲皮黄酮对脊髓灰质炎病毒(*Poliomyelitis virus*)有抑制作用^[21];槲木素(ayanin)可抑制 TMV 对心叶烟的侵染;槲皮素(quercetin, 3, 5, 7, 3', 4'-pentahydroxyflavone)、桑色素(morin, 3, 5, 7, 2', 3'-pentahydroxyflavone)和 3-O-高姜良素(3-O-methylgalangin)可使 PVX 在昆诺藜(*chenopodium quinoa*)上形成的枯斑数减少^[22]。

Christopher 等研究了类黄酮的构效关系^[23]:甲基化的槲皮黄酮如 3-O-甲基、5-O-甲基和 7-O-甲基的修饰使类黄酮降低了抑制效果;对 6 位羟基化的万寿菊黄素(quercetagatin)有活性;槲皮素上 2 苯基苯并吡喃环(flavylium)的 ^4C 位饱和度使抑制活性降低。植物中研究过的抗植物病毒成分还有单宁、酚类和蒽醌类物质^[24]。

3 植物病毒抑制剂的抗病毒机理

3.1 抑制侵染

植物病毒抑制剂的作用原理是在病毒进入寄主体内之前,能够有效地阻止病毒进入寄主细胞。钝化病毒与植物病毒外壳蛋白或核酸作用,或占据病毒在寄主上的结合位点,是抑制侵染的重要途径。植物病毒的外壳蛋白在整个生命过程中起着重要作用。病毒的外壳蛋白与寄主的受体作用,导致过敏反应或系统侵染^[25]。有些植物病毒核酸的侵染活性只有装配完整的病毒粒体的 0.1%~1%;未被