18 种入侵植物的抗烟草花叶病毒活性研究

闫晓慧[1]　唐贵华[2]　李亚婷[2]　胡世俊[1*]

([1]西南林业大学林学院 云南省森林灾害预警与控制重点实验室,云南昆明 650224; [2]中国科学院昆明植物研究所)

摘要　为了综合利用入侵植物,通过离体半叶枯斑法,对 18 种入侵植物提取物的抗烟草花叶病毒(TMV)活性进行了筛选,研究结果表明,垂序商陆、粉花月见草、三叶鬼针草、紫茎泽兰、飞机草、钻叶紫菀、苦苣菜、野茼蒿等 9 种入侵植物的提取物浓度为 10 mg/mL 对 TMV 有不同程度的抑制活性,抑制率在 59.15%~93.06%,这些具有抗病毒活性的入侵植物具有开发植物源农药的潜在价值。

关键词　入侵植物;烟草花叶病毒(TMV);抗 TMV 活性;半叶枯斑法

中图分类号　S435.72　　**文献标识码**　A　　**文章编号**　1007-5739(2013)09-0122-02

Study on Anti-TMV Activities of 18 Invasive Plants

YAN Xiao-hui[1]　TANG Gui-hua[2]　LI Ya-ting[2]　HU Shi-jun[1*]

([1] Key Laboratory of Forest Disaster Warning and Control of Yunnan Province, College of Forestry, Southwest Forestry University, Kunming Yunnan 650224; [2] Kunming Institute of Botany, Chinese Academy of Sciences)

Abstract　In order to make use of invasive plants comprehensively, the anti-tobacco mosaic virus (TMV) activities of extracts from 18 invisave plants were screened by half-leaf method in vitro. At the concentration of 10 mg/mL extracts of *Phytolacca Americana*, *Oenothera rosea*, *Oenothera stricta*, *Bidens pilosa* L., *Eupatorium adenophorum*, *Chromolaena odorata*, *Aster subulatus Michx.*, *Sonchus oleraceus* and *Crassocephalum crepidioides* showed moderate activity with the inhibition rate range of 59.15% to 93.06%, and these invasive plants have the potential to be developed into plant pesticide.

Key words　invasive plants; Tobacco mosaic virus (TMV); anti-TMV activity; half-leaf method

烟草花叶病毒(Tobacco mosaic virus, TMV)是发现最早,应用最广的模式病毒,属披盖病毒科(Togaviridae)烟草花叶病毒属(Tobamovirus)[1]。它寄主范围广,每年可造成 1 亿美元以上的经济损失[2]。TMV 在我国烟草产区中已被列为主要发生病害[3]。然而,到目前为止尚没有理想的抗烟草花叶病毒药物。国内外在植物病毒病的防治药剂方面进行了大量的研究,发现从植物中筛选抗病毒物质是开发植物病毒抑制剂的重要途径之一[4-5],研究表明植物中的病毒抑制剂具有作用方式独特[6-8]、环境兼容性好等特点,因此从植物中寻找抗 TMV 活性物质具有重要意义。

随着全球化的发展,外来入侵植物数量也日渐增多,特别是一些有毒或恶性杂草的入侵与蔓延,对当地生物多样性及经济建设造成了重大影响[9]。云南省是我国生物多样性最丰富的省区,也是我国外来入侵植物危害最严重的省区,具有 129 种外来入侵植物,其数量之多,严重威胁着云南的生物多性和生态安全[10]。然而其资源丰富,生长迅速,如能以这些入侵植物为材料开发其作为绿色农药的活性,将为其治理和综合利用奠定基础。

1　材料与方法

1.1　供试寄主与病毒

TMV 枯斑寄主心叶烟(*Nicotiana glutinosa*),TMV 系统侵染寄主普通烟 K326(*Nicotiana tabacum* CV. K326),漂盘育苗,无虫温室中培育。挑选 6~8 片叶龄,大小相似的健康植株作为试验材料。

烟草花叶病毒(Tobacco mosaic virus, TMV)普通株系 U1,由云南省农业生物技术重点实验室提供。繁殖于普通烟 K326 上,采用 Gooding et al [11]的方法提纯,并用紫外分光光度计法测定其浓度为 16 mg/mL。保存于-20 ℃冰箱中,临用时取出用 0.01 moL/L PB 缓冲液稀释 500 倍备用。

1.2　植物提取物的制备

供试的植物样品(表 1),于 2010—2011 年采自云南昆明、曲靖等地,将植物材料风干粉碎,采用甲醇回流提取 3 次,合并提取液,采用旋转蒸发仪浓缩回收溶剂,得到的植物提取物备用。提取物用少量 DMSO 溶解后,用灭菌蒸馏水稀释至所需的浓度进行活性筛选(DMSO 的浓度不超过 5%)。用相同浓度的 DMSO 无菌水溶液作对照。

1.3　提取物抗 TMV 活性测定

挑选健康合适的心叶烟,暗室放置一夜。每株烟挑选大小相似的 3 片叶,摩擦接种 TMV 6 h 后将叶片剪下,沿中脉将叶片剪成 2 个半叶,分别放入提取物的溶液中作为处理;另一个半叶放入相应浓度的 DMSO 水溶液中作为对照。将叶片放入培养皿中在 28 ℃光照培养箱中培养。48 h 后,待枯斑症状明显,统计试验结果,计算抑制率,每个处理重复 3 次。计算公式如下:

抑制率(%)=(对照枯斑数-处理枯斑数)/对照枯斑数×100

2　结果与分析

采用离体半叶枯斑法对 18 种入侵植物的甲醇回流提取物进行抗烟草花叶病毒活性筛选,试验结果见表 2。在提取物浓度为 10 mg/mL 时,垂序商陆表现出最好的抗 TMV 活性,抑制率可达 93.06%,其次为柳叶菜科的粉花月见草,抑制率可达 82.81%,测试的几种菊科植物均表现出较好的活性,抑制率均在 50%以上;茄科的黄果茄和曼陀罗,旋花科的园叶牵牛和裂叶牵牛,以及落葵科的落葵薯,马鞭草科的马缨丹,也显示了一定的抗病毒活性,抑制率在 26.25%~47.22%。说明以上入侵植物中可能含有抗 TMV 的活性物质,有必要进一步研究其抗病毒的活性成分。而空心莲子草、土荆介、牛膝菊、北美车前等4 种植物的处理组叶片出现

基金项目　国家自然科学基金(No.31200265);云南省教育厅重点项目(No.50117015);西南林业大学校重点基金(No.111123)。

作者简介　闫晓慧(1980-),女,辽宁朝阳人,博士,讲师,从事植物源农药的研究工作。

*通讯作者

收稿日期　2013-04-07

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

表 1 入侵植物名称及提取部位

科名	植物名称	采集地点	提取部位
苋科	空心莲子草(*Alternanthera philoxeroides*)	云南 昆明	全草
藜科	土荆芥(*Chenopdiumam brosioides*)	云南 昆明	地上部分
柳叶菜科	粉花月见草(*Oenothera rosea*)	云南 昆明	全草
茄科	曼陀罗(*Datura stramonium* L.)	云南 昆明	果
	黄果茄(*Solanum khasianum*)	云南 昆明	茎叶及果实
菊科	三叶鬼针草(*Bidens pilosa* L.)	云南 昆明	全草
	紫茎泽兰(*Eupatorium adenophorum*)	云南 昆明	全草
	飞机草(*Chromolaena odorata*)	云南 红河	全草
	牛膝菊(*Galinsoga parviflora* Cav.)	云南 曲靖	全草
	野茼蒿(*Crassocephalum crepidioides*)	云南 曲靖	全草
	钻叶紫菀(*Aster subulatus* Michx.)	云南 曲靖	地上部分
	苦苣菜(*Sonchus oleraceus*)	云南 曲靖	全草
车前科	北美车前(*Plantago virginica*)	云南 昆明	全草
商陆科	垂序商陆(*Phytolacca americana*)	云南 昆明	地上部分
旋花科	裂叶牵牛(*Pharbitis nil*)	云南 昆明	茎叶
	圆叶牵牛(*Pharbitis purpurea* L)	云南 昆明	茎叶
落葵科	落葵薯(*Anredera cordifolia*)	云南 昆明	茎叶
马鞭草科	马缨丹(*Lantana camara*)	云南 昆明	枝叶

表 2 入侵植物提取物抗 TMV 活性结果

植物	处理枯斑数//个	对照枯斑数//个	抑制率//%
空心莲子草	叶片黄烂	55	–
土荆芥	叶片黄烂	69	–
粉花月见草	11	64	82.81
曼陀罗	43	65	33.85
黄果茄	38	72	47.22
三叶鬼针草	14	54	74.07
紫茎泽兰	21	57	63.15
飞机草	24	63	61.90
牛膝菊	叶片黄烂	78	–
野茼蒿	29	71	59.15
钻叶紫菀	25	64	60.94
苦苣菜	27	79	65.82
北美车前	不明显	73	–
垂序商陆	5	72	93.06
裂叶牵牛	40	67	40.29
圆叶牵牛	41	71	42.25
落葵薯	41	75	45.33
马缨丹	59	80	26.25

注:表中数据均为 3 次重复的平均值;"–"表示没有活性。

了不同程度的黄烂现象,极有可能是这些植物的提取物中含有对烟叶有毒的成分造成的,可通过进一步降低提取物浓度测定活性进行验证。

3 结论与讨论

对 18 种入侵植物的提取物进行了抗 TMV 活性研究,结果表明,垂序商陆、粉花月见草、三叶鬼针草、紫茎泽兰、飞机草、苦苣菜、钻叶紫菀、野茼蒿等 8 种入侵植物的提取物有显著的抗病毒活性,抑制率在 59.15%~93.06%。此外,黄果茄、曼陀罗、园叶牵牛、裂叶牵牛、落葵薯、马缨丹等 6 种植物,也显示了一定的抗病毒活性,抑制率在 26.25%~47.22%,因此这些入侵植物具有开发植物源农药的潜力,具有进一步研究的价值。目前,国内外对入侵植物的研究报道主要集中在入侵机制的阐明以及防治方法的研究,但对入侵植物的开发利用却相对较少。而入侵植物具有生物量大,生长迅速等优势,如能加以利用将具有明显的优势。从综合利用的角度去寻求更加经济有效的治理方法,具有一定的现实意义与广阔的前景。本文研究入侵植物的抗烟草花叶病毒活性为其综合利用提供更广的思路和途径,对今后有效利用和综合治理入侵植物将起到积极的推动和指导作用。

4 致谢

感谢云南省农业科学院张仲凯课题组在 TMV 病毒提纯方面给予的帮助。

5 参考文献

[1] 张仲凯,李毅.云南植物病毒[M].北京:科学出版社,2001:33–36.
[2] BOS L. Crop losses caused by viruses[J].Crop Prot,1982(1):263–282.
[3] 陈瑞泰,朱贤朝.全国 16 个主要烟省(区)烟草侵染性病害调查研究报告[J].中国烟草科学,1997(4):1–7.
[4] DIXON R A. Natural products and plant disease resistance [J]. Nature, 2001,411(14):843–847
[5] 耿召良,商胜华,陈兴江,等.植物源抗烟草花叶病毒天然产物研究进展[J].中国烟草科学,2011,32(1):84–91.
[6] LI Yan–mei,ZHANG Zhong–kai,HAO Xiao–jiang,et al.3–Acetony–3–hydroxyoxindole:a new inducer of syetemic acquired resistance in plants [J]. Plant Biotech,2008(6):301–308.
[7] LI Yan –mei,WANG Li –hua,HAO Xiao –jiang,et al.Seco –pregnane steroids target the subgenomic PNA of alphavirus–like RNA viruses[J]. Proc Natl Acad Sci,2007(104):8083–8088.
[8] CHEN Jia,YAN Xiao–hui,HAO Xiao–jiang,et al.Tobacco mosaic virus (TMV)inhibitors from Picrasma quassioides Benn[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry,2009(57):6590–6595.
[9] 李振宇,解炎.中国外来入侵种[M].北京:中国林业出版社,2002.
[10] 丁莉,杜凡,张大才.云南外来入侵植物研究[J].西部林业科学,2006,35(4):98–103.
[11] GOODING G V,HEBERTTT.A Simple Technique for Purification of Tobacco Mosaic Virus in Large Quanities[J].Phytopathology,1967,57 (11):1285–1289.

(上接第 121 页)

验结果表明:阿米妙收(32.5%苯甲·嘧菌酯悬浮剂)、满仓(30%己唑·噻呋酰胺悬浮剂)对水稻纹枯病防效好,在早稻上使用 1 次就能取得很好的效果。世苗对纹枯病的防效也较好,早稻上高剂量使用 1 次世苗或者低剂量使用 2 次也能取得较好的防治效果。欧博(12.5%氟环唑悬浮剂)和拿敌稳防效一般,其中拿敌稳防效不理想可能与其用量不足有关。

3 结论与讨论

本试验通过选用世苗、欧博、拿敌稳、满仓、阿米妙收等药剂对水稻纹枯病进行防治,结果表明,阿米妙收、满仓对水稻纹枯病的防效优于其他药剂,早稻上使用 1 次就能收到良好的效果,早稻上世苗高剂量使用 1 次也能取得较好的防效,欧博对纹枯病防效一般。各参试药剂对水稻生长安全,对天敌及有益生物未见明显不良影响。

4 参考文献

[1] 陈思宏,马学文,倪运东,等.不同药剂防治水稻纹枯病田间药效试验[J].现代农业科技,2013(3):133–134.
[2] 陈伟,钱建,程枫叶.几种药剂防治水稻纹枯病的初步研究[J].上海农业科技,2012(4):120–121.
[3] 张英林.防治水稻纹枯病药剂筛选试验[J].农业科技通讯,2012(5):66–67.
[4] 黄海明,陈江彬,仇智灵,等.咪锰·己唑醇防治水稻纹枯病的药效试验[J].浙江农业科学,2011(3):683–684.
[5] 袁庆,张建军,陈恩会.不同药剂处理对水稻纹枯病防治效果的研究[J].金陵科技学院学报,2010(2):43–45.
[6] 赖开平,叶一强,方峰,等.50%丙环唑·左旋松油醇乳油对水稻纹枯病的田间防治效果[J].安徽农业科学,2009,37(31):15297–15298.

© 1994-2013 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net