

植物提取物抑制烟草花叶病毒(TMV)的研究进展

韩锦峰¹, 王晓军¹, 刘华山^{1*}, 白海群², 陈秀华³

(1. 河南农业大学, 河南 郑州 450002; 2. 云南普洱市烟草分公司, 云南 普洱 665000;
3. 河南省烟草公司, 河南 郑州 450001)

摘要: 综述了国内外关于植物源活性物质抑制烟草花叶病毒(TMV)的研究进展, 内容包括 4 个方面: 具有抑制 TMV 活性物质的植物种类; 抑制 TMV 的可能机制; 具有抑制 TMV 作用的活性物质成分; 植物源活性物质抑制 TMV 的作用特点。另外, 还阐述了这一领域研究中存在的问题和开发应用前景。

关键词: 植物提取物; 活性成分; 烟草花叶病毒; 抑制效果; 抑制机制; 抑制作用特点; 开发前景
中图分类号: S435.72 **文献标志码:** A **文章编号:** 1004-3268(2012)03-0001-06

Research Advances of Plant Source Extracts Inhibiting TMV in Tobacco

HAN Jin-feng¹, WANG Xiao-jun¹, LIU Hua-shan^{1*}, BAI Hai-qun², CHEN Xiu-hua³

(1. Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China; 2. Puer Tobacco Company of Yunnan Province, Puer 665000, China; 3. Henan Tobacco Corporation, Zhengzhou 450001, China)

Abstract: Recent research advances of plant source extracts which could inhibit tobacco mosaic virus(TMV) were reviewed. This paper included four parts of contents: plants possessing active substances against TMV, possible mechanisms of inhibiting TMV by plant extracts, constituent kinds of active substances from plants, characteristics of inhibiting TMV by plant extracts. The problems and perspectives of plant source active substances inhibiting TMV were also summarized.

Key words: plant source extracts; active substances; tobacco mosaic virus(TMV); inhibition effects; inhibition mechanisms; inhibition characteristics; development prospects

由烟草花叶病毒(TMV)引起的烟草普通花叶病毒病是烟草的重要病害之一, 发生普遍而严重, 常造成烟叶品质下降, 产量降低^[1-2]。用植物提取物防治烟草花叶病毒病引起国内外学者的极大兴趣, 它具有环保、无毒害副作用的特点, 很有发展前景。为此, 对植物提取物抑制 TMV 的研究进展作一综述, 以期为进一步深入研究该问题提供参考。

1 具有抑制 TMV 作用的植物种类及其抑制效果

许多植物提取物对 TMV 均有一定的抑制作

用, 目前已对 300 多种植物^[3-10]进行了试验筛选。沈建国等^[5]试验了 78 科 162 种植物, 发现其中 160 种对病毒侵染都具有一定的抑制作用, 抑制率在 50% 以上的有 83 种, 抑制率超过 95% 的有 19 种: 麻黄、杠板归、雷公藤、莲、荔枝、木瓜、山楂、羊蹄甲、夜交藤、火炭母、辣蓼、榕树、柿、水蜈蚣、金石榴、石韦根、哥兰叶、杨梅、鼠尾粟。抑制率在 90% 以上的还有菊花、叶下珠、连翘、小藜、玉簪、菠菜、苋色藜、大蒜、板兰根、三叶鬼针草等^[8-9, 11-13]。除对单个植物研究外, 人们还研究了复合植物提取物对 TMV 的抑制效果。采用商陆、甘草、连翘等几种植物混合

收稿日期: 2011-10-26

基金项目: 河南省烟草专卖局科技攻关项目(HYJK 200820)

作者简介: 韩锦峰(1934-), 男, 河南太康人, 教授, 博士, 博士生导师, 主要从事烟草栽培、生理生化方面的研究。

E-mail: Jinfenghan2002@126.com

* 通讯作者: 刘华山(1951-), 女, 辽宁盖州人, 教授, 博士生导师, 主要从事烟草栽培、生理生化方面的研究。

E-mail: Liuhs@sina.com

提取物进行田间小区试验,其对 TMV 的防治效果达 86.3%~88.4%^[14]。多种植物的混合提取液在大田大面积试验(约 1.3 hm²)中,防治 TMV 的效果达 71.02%~81.92%^[15]。从茎、叶、根、花和种子都可分离出有效活性物质,但植物不同,其含有效物质的部位亦不同,如板兰根含有效物质的部位是根^[13],杠板归是全草^[8],假槟榔是种子^[8],大蒜是鳞茎^[13],水蜈蚣是全株或叶^[9],麻黄是茎^[5],木瓜是果实^[5],红花是花^[8]等等。

2 植物提取物抑制 TMV 的可能机制

2.1 抑制病毒侵染

植物提取物中的有效成分有的是蛋白质,它和病毒的外壳蛋白(CP)相似,因而可以与病毒竞争寄主上的结合位点,而使病毒丧失侵染性,或者是提取物作用于结合位点,使之对病毒的敏感性降低,以致病毒无法与之结合而丧失侵染性^[11,16]。另外,有的提取物(如单宁)可与 TMV-CP 形成病毒复合体,使病毒外壳蛋白不能形成多聚体而丧失活性或降低 TMV-CP 对侵染位点的识别力,不能侵染寄主^[8,16-17]。多数植物提取物具有抑制病毒侵染的作用^[5]。

2.2 抑制病毒增殖

植物提取物可以破坏侵入寄主的病毒粒子,使之凝聚、断裂,或破坏病毒外壳蛋白亚基之间的作用,使病毒 RNA 暴露,从而失去增殖能力^[13,15,18-19]。也有人认为, TMV 感染寄主后,其 RNA 与寄主核糖体结合,合成初期蛋白,继而合成间期 RNA,再合成模板 RNA,最后合成移动蛋白(30 kD)及外壳蛋白(17.5 kD),组成新的病毒粒子进行传播^[20]。提取物则可抑制 TMV-RNA 与寄主核糖体的结合,并抑制 TMV-RNA 和病毒蛋白质的合成^[11,13,20-21],使病毒不能形成新的病毒粒子及不能进行复制^[22]。此外,植物提取物干扰病毒外壳蛋白,使其无法与病毒核酸进一步装配,因而形不成完整的病毒颗粒,其侵染活性降低^[7,23-24],且未被很好装配的病毒核酸不能有效地在寄主体内进行长距离传播^[25-26]。对寄主内 TMV 的增殖有抑制作用的植物提取物种类较少。沈建国等^[5]在 78 科 162 种植物中仅筛选出六角仙、寒草、藿香、柴胡、雍菜、龙葵、匍匐滨藜、海州常山、决明等 9 种植物,其提取物对病毒增殖具有明显的抑制作用。

2.3 诱导烟草对 TMV 产生抗性

利用物理的、化学的以及生物的方法预先处理植物,再进行挑战性接种,能使原来发生感病反应的

植物产生局部或系统抗性^[27-28]。20 世纪 60 年代,人们在烟草上首先发现了对 TMV 的获得性系统抗性^[27]。诱导植物产生抗性的机制比较复杂,它是一系列代谢活动的综合表达,有以下几方面表现:

第一,诱导寄主体内防御系统增强。研究表明,寄主与病毒互作过程中,诱导物可使苯丙氨酸裂解酶、几丁质酶、过氧化氢酶、多酚氧化酶活性大大增强^[13,16,28-30],这些酶活性提高可增强寄主对病毒的抵抗力。喷施落葵提取液能明显提高感染 TMV 的烟株中超氧化物歧化酶(SOD)、过氧化氢酶(CAT)、过氧化物酶(POD)和多酚氧化酶(PPO)等酶的活性,因而增强了对因 TMV 侵染而产生的超氧阴离子自由基和羟自由基的清除能力^[31-33],减轻了膜的氧化,从而减轻了 TMV 对烟株的危害。

第二,诱导寄主植物的保卫反应增强。病毒感染后,寄主的侵染点周围迅速木质化,形成木质素、软木质和胼胝质,其作为病毒进一步侵染的一种结构屏障和化学屏障^[34-35]起作用。用壳聚糖处理感染 TMV 的烟株,在细胞间隙和液泡内发现有大量颗粒状电子致密物,可能是胼胝质类物质^[19],其能限制病毒侵染,阻止病毒在细胞间的转运,抑制 TMV 的长距离移动^[36-38]。

第三,增强寄主体内植保素的产生与积累。喷施植物源病毒抑制剂 VFB 能提高烟株体内黄酮类物质如豌豆素、菜豆素等的含量^[29],在黄酮代谢途径中的关键酶苯丙氨酸裂解酶活性也因喷施植物提取物而得到提高^[32],从而提高了烟草对普通花叶病毒病的抗性。而且还有试验证明,在植物抗病作用中可能 SOD 和 POD 在前期起主要作用,PPO 和苯丙氨酸解氨酶(PAL)在后期起主要作用^[32]。

2.4 诱导产生病程相关蛋白

自 Gianinazzi 和 Van 在烟草中首次发现病程相关蛋白(PR)以来,病程相关蛋白与烟草花叶病毒病抗性的关系引起了人们很大兴趣,已有许多研究^[39-45]表明,植物提取物能诱导健康株中产生之前没有的 PR,从而使烟草对 TMV 的抗性提高。但不同植物提取物诱导产生的 PR 的数量和大小不同^[41,44],多种成分的药剂诱导的 PR 蛋白种类和含量比单一成分诱导的多^[41],诱导出的蛋白有酸溶性蛋白和碱溶性蛋白^[44]。PR 提高植株对 TMV 抗性的可能机制,一是其参与病毒在寄主体内的局限化过程^[39-40];二是诱导寄主产生抗病毒的蛋白,阻止病毒的侵入^[43];三是 PR 蛋白中含有能抑制病毒复制的因子(IVF)^[16],它一方面抵抗侵染点内病毒的增殖,另一方面使未受侵染的组织 and 细胞也获得抗

性^[46];四是有的PR蛋白具有几丁质酶^[47]和葡聚糖酶^[48]的活性,参与了受害寄主机械屏障防卫能力的增强过程。

3 植物提取物中具有抑制 TMV 作用的有效成分

自 Dugger 和 Armstrong(1925)首次报道商陆蛋白具有抑制 TMV 侵染作用以来,不少研究者都在研究和寻找防治 TMV 病害的植物提取物的有效成分。

3.1 蛋白质类

目前提取纯的植物源抗 TMV 物质多为蛋白质。自 Kassamis 等^[49]和 Wyatt 等^[50]先后从十蕊商陆中分离出抑制 TMV 活性的糖蛋白和 13 kD 蛋白以来,人们又从菠菜、紫茉莉、黄细心等多种植物^[32,43,51]中分离出了抗 TMV 的蛋白质,它们从功能上分为可抑制病毒蛋白质合成的核糖体失活蛋白^[16](ribosome-inactivating proteins, RIPs)和诱导寄主产生系统抗性的系统抗性诱导蛋白(systemic resistance inducers, SRIs)。核糖体失活蛋白分为 2 种类型, I 型为单链蛋白,属碱性蛋白,分子量为 26~32 kD; II 型为异源双链蛋白^[52],它们均能抑制外壳蛋白形成。诱导系统抗性的蛋白是由 Verma 等^[43,53]从黄细心(*Boerhaavia diffusa*)的根和大青叶(*Clerodendrum aculeatum*)中提取出来的,该蛋白是糖蛋白,分子量为 16~20 kD。此外, Mozes 等^[54]从感染 TMV 的心叶烟中分离出一种能抑制病毒的含磷糖蛋白,分子量为 22 kD,称为抗病毒因子(antiviral factor, AFV); Baranwal 等^[55]从鸡冠花中也提取出一种糖蛋白,分子量为 21 kD,这 2 种糖蛋白都可抑制 TMV 的侵染与复制。

3.2 生物碱类

从牛心扑子草(*Cynanchum komorovii*)中分离出的 7-脱甲氧基娃儿藤碱和 N-氧代-7-脱甲氧基娃儿藤碱^[56-57],从三尖杉(*Cephalotaxus fortunei* Hook. f.)中提取的苯丙氨酸三尖杉酯碱^[58],从植物苦豆子(*Sophora alopecuroides*)中分离出的苦豆子碱和槐果碱^[59]对 TMV 都有很强的体外钝化和抑制作用。

3.3 黄酮类

许多黄酮类物质如槲皮素、桑色素、阿亚黄素等都具有抗 TMV 活性^[18,60],不同黄酮类物质的活性不同,其中槲皮素>山奈酚>芦丁>金丝桃苷^[61]。黄酮的作用有两方面,一是通过减弱病毒外壳蛋白亚基间的互作,使病毒 RNA 暴露^[18],降低其活性;

二是占据寄主植物叶片上的侵染位点,从而阻止病毒侵入^[62]。

3.4 其他

从紫草(*Lithospermum erythrorhizon*)中分离出的萘醌类化合物——丙酰紫草素可与 TMV 病毒颗粒结合,形成病毒/化合物复合体,抑制 TMV 的侵染^[62]。从大蒜中提取的挥发油和精油,其成分多是含硫化合物^[13],以及从杠板归(*Polygonum perfoliatum*)与假槟榔(*Archontophoenix alexandrae*)中提取的单宁对 TMV 都有明显的抑制作用^[8]。丹皮酚则会因其与 TMV-CP 结合破坏病毒颗粒或影响 TMV-CP 在烟株中的聚合而起到抑制病毒作用^[23]。脂肪酸类物质也有抑制 TMV 的作用^[63]。

4 植物提取物抑制 TMV 的作用特点

4.1 提取方法不同抑制效果不同

目前提取抗 TMV 物质的方法有蒸汽馏法^[23]、水粗提取后用硫酸铵沉淀制备法^[11]、水浸提法^[9]、甲醇提取法^[9]、先用水浸提而后煎煮法^[31],也有用氯仿萃取的^[8],多数是用乙醇提取^[5,8-9,13]。抗病毒物质的活性因提取溶剂和提取方法不同而异,对 TMV 的抑制率为乙醇提取>甲醇提取>水提取^[9]。还有研究证明,水提取物对 TMV 的抑制效果优于氯仿提取物,也优于甲醇提取物,表明抑制物质可能位于水提取物中,因此,先用水浸提而后煎煮得到的提取物对 TMV 的抑制率优于乙醇提取物^[31]。用莲叶进行试验的结果表明,水浸提物的抑制率为 73.00%^[9],而先用水浸提后煎煮得到的提取物达 85.19%^[15],这可能是煎煮提取比仅用水浸提获得的有效物质较多的结果。

4.2 施用时间不同抑制效果有异

在先施植物(菠菜)提取物后接种 TMV 时,施提取物后如果立即接种对 TMV 的抑制率在 90%以上,随着接种时间延迟,抑制率下降,施用 3 h 后接种抑制率仅为 69.2%。先接种 TMV 后施用植物提取物对 TMV 的抑制效果要差^[11,31,33],其中接种后 24 h 施用时抑制率仅为 3.9%^[11]。这表明植物提取物对 TMV 的作用效果为防大于治^[11,31,33]。

4.3 抑制作用具有可传导性

成巨龙^[11]在心叶烟上部叶或下部叶涂施菠菜提取物 24 h 后,分别在下部叶或上部叶都发现其有一定的抗病毒效果,离涂施提取物越近的叶片对 TMV 的抑制率越高。安德荣等^[46]也发现,获得性抗性可分别通过胞间液和维管束系统进行短距离或长距离运输,使未受侵染的组织也获得抗性。这表

明植物提取物诱导的抗性是可以传导的, 然而抑制物直接传导至其他叶片, 还是提取物诱导寄主产生的抗性物质运输到其他叶片而导致产生抗性, 还需要进一步研究。

4.4 提取物的有效剂量不同

每种植物提取物因其效果和提取方法不同, 都有一个最佳剂量范围。陈启建等^[64]研究表明, 三叶鬼针草的提取物——黄酮苷质量浓度为 20 mg/mL 时抑制 TMV 的作用最强, 达 97.52%, 高于或低于 20 mg/mL 时抑制 TMV 的效果都降低。大蒜精油质量浓度为 2 mg/mL 时抑制 TMV 的效果最好, MH-114 复配剂稀释 200 倍以内效果都可以, 稀释 500 倍时防效急剧下降^[65]。

5 存在的问题

利用植物源活性物质防治 TMV 的研究, 国内外已进行了几十年, 证明许多植物的提取物对 TMV 都有较好的抑制作用, 但除从油菜中提取的混合脂肪酸制备的“83-增抗剂”已开发为产品外, 植物源抗 TMV 制剂的研制与开发没有实际性突破, 至今还没有一种理想的植物源制剂用于防治 TMV, 原因在于:

第一, 具有有效防治 TMV 的活性物质的资源不清楚。虽然已经试验了不少植物, 各研究者做了效果报道, 但那些植物具有什么有效成分可以用来开发, 还不清楚。

第二, 植物源有效成分不明。对于已经研究的植物, 多是提取出一种有效成分进行试验, 未分离多种成分以便确定真正有效成分。

第三, 抑制 TMV 的机制不清。虽然这方面有些探讨, 但植物源活性物质抑制 TMV 的机制, 特别是 TMV、抑制物和烟草寄主三者的关系不清楚, 因此, 对于植物源活性物质的筛选没有可靠的理论基础。

第四, 提取方法不完善。各研究者采用的提取方法不同, 各不同方法提取有效成分的种类、含量和效果没有对比, 所以目前尚未找出完整、快捷、简便的最佳提取方法。

第五, 开发目标不确定。目前多是用一种植物提取物做试验, 因此, 有的认为植物提取物仅有预防侵染的作用, 有的认为有抑制病毒增殖的作用, 虽然也有几种或多种提取物复合配伍研究, 但并不是明确的有效成分的互补。已有证明, 多种成分药剂诱导的 PR 蛋白含量都高于单一药剂, 因此, 发挥中草

药配伍理论的指导作用, 使多种植物提取物互补以最大发挥作用才是方向。

6 展望

中草药是医学国宝, 既对人的疾病有良好的防治效果, 对 TMV 也具有防治作用, 而且不会造成环境污染与残留毒性, 能为卷烟工业提供优质的无污染无毒害的烟叶原料, 是真正的无公害和绿色农药。开发植物源抗 TMV 的制剂为抗病毒开辟了一条崭新途径, 具有重要的现实意义和发展市场。

植物界可供开发利用的植物种类十分丰富, 其有效成分多种多样, 在这方面已有可贵的室内、盆栽和大田初步试验结果, 只要针对目前存在的问题, 在摸清单一植物的有效成分及其作用(是抑制侵染或是抑制病毒增殖, 还是阻止病毒运输)的基础上, 运用中医学理论开发出多种植物配伍即多种有效成分互补的复合制剂, 以快速、有效的防治 TMV 是有广阔前景的。

参考文献:

- [1] 谈文, 刘骏, 蒋士君, 等. 烟草病理学[M]. 郑州: 河南科学技术出版社, 1989.
- [2] 谢联辉, 林莫奇. 植物病毒学[M]. 2 版. 北京: 中国农业出版社, 2004: 203-205.
- [3] Facuot G. Role of cytokines in acquired resistance of *Chenopodium amaranticolor* towards an infection of TMV[J]. Phytopathology, 1984, 23: 15-22.
- [4] Viravilis J M, Taniguehi T. Properties of two ribosome inactivating protein from *Mirabilis expansa*[J]. Phytopathology, 1998, 88: 133.
- [5] 沈建国, 谢荔岩, 吴祖建, 等. 药用植物提取物抗烟草花叶病毒活性的研究[J]. 中草药, 2006, 37(2): 259-261.
- [6] Sadastivam S, Rajamaheswari S, Jyaranjan R. Inhibition of certain plants viruses by plant extracts[J]. Journal of Ecobiology, 1991, 3(1): 53-57.
- [7] 林存鉴, 裘维蕃. 一些植物提取液对植物病毒病的治疗作用[J]. 植物保护学报, 1987, 14(4): 92-95.
- [8] 刘国坤, 谢联辉, 林奇英, 等. 15 种植物的单宁提取物对烟草花叶病毒(TMV)的抑制作用[J]. 植物病理学报, 2003, 3(3): 279-283.
- [9] 翟梅枝, 高芳銮, 沈建国, 等. 抗 TMV 的植物筛选及提取条件对抗病毒物质活性的影响[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2004, 32(7): 45-49.
- [10] 陈启建, 刘国坤. 26 种植物提取物抗烟草花叶病毒活性[J]. 福建农林大学学报, 2004, 33(3): 300-303.
- [11] 成巨龙. 藜科植物对烟草花叶病毒(TMV)抑制物特性

- 的研究[C]//中国烟草学会第三届理事扩大会议文件汇编暨中国科协第三届青年学术年会烟草卫星会议论文集,1998:199-211.
- [12] 陈启建,刘国坤,吴祖建,等.大蒜精油抗烟草花叶病毒机理[J].福建农业学报,2006,21(1):24-27.
- [13] 王启燕,王先彬.抗TMV病毒物质——板兰根[J].华北农学报,1988,3(4):92-95.
- [14] 刘学端,朱宏志,何昆,等.植物源农药防治烟草花叶病毒病试验[J].湖南农业大学学报,2000,26(3):193-195.
- [15] 刘华山,白海群,韩锦峰,等.几种植物提取液对TMV体外活性及烟草叶片超微结构的影响[J].中国农业科学,2010,43(5):957-964.
- [16] 易克,彭冠云,周清明.植物病毒天然产物开发利用的研究[J].湖南农业科学,2009(2):42-45.
- [17] 江山,郭雪柳,韩熹莱.一些抗植物病毒剂对烟草花叶病毒衣壳蛋白体外壳聚合过程的影响[J].中国病毒学,1996,11(1):77-80.
- [18] French C J, Elder M, Leggette F, *et al.* Flavonoids inhibit infectivity of tobacco mosaic virus [J]. *Can J Plant Pathology*, 1991, 13: 1-8.
- [19] 商文静,吴云峰,赵小明,等.壳聚糖诱导烟草抗花叶病毒病的超微结构研究[J].植物病理学报,2007,37(1):56-61.
- [20] 平井笃造.植物ウイルス学[M].东京:养贤堂出版社,1998.
- [21] 侯玉霞,李重九,马立新,等.中草药中抗植物病毒TMV活性物质PZI作用机理研究[J].中国农业大学学报,2000,5(1):21-24.
- [22] Grasso A, Menardo G, Campo N, *et al.* Hepatitis G virus and HCV related extrahepatic disease[J]. *American Journal of Gastroenterology*, 1999, 94(4): 1120-1125.
- [23] 刘国坤,陈启建,吴祖建,等.丹皮酚对烟草花叶病毒的抑制作用[J].福建农林大学学报:自然科学版,2006,35(1):17-20.
- [24] Fukuda M, Okada Y, Otsuki Y, *et al.* Infectivity of partially encapsidated tobacco mosaic virus RNA[J]. *Virology*, 1979, 95: 232-234.
- [25] Siekel A, Zatlín M, Sehgal O P. The isolation of defective tobacco mosaic virus strains[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1962, 48: 1845-1851.
- [26] Dawson W O, Bubric P, Grantham G L. Modifications of the tobacco mosaic virus coat protein gene affecting replication, movement and symptomatology[J]. *Phytopathology*, 1988, 78: 783-789.
- [27] Yarwood C E. Localized acquired resistance to tobacco mosaic virus[J]. *Phytopathology*, 1960, 50: 741-744.
- [28] Ross A F. Localized acquired resistance to plant virus infection in hypersensitive hosts[J]. *Virology*, 1961, 4: 329-339.
- [29] 马志卿,殷培军,郭志波,等.植物源病毒抑制剂VFB诱导烟草花叶病毒机理研究[J].植物病理学报,2007(3):296-300.
- [30] 刘华山,杨素勤,韩锦峰,等.中草药剂对烟草普通花叶病毒病的防治效果[J].河南农业科学,2002(12):22-24.
- [31] 刘华山,韩锦峰,孟凡庭,等.落葵和毛叶子花提取液对氧自由基的清除效应[J].贵州农业科学,2007,35(2):12-13.
- [32] 刘华山,韩锦峰,张玉丰,等.落葵提取液抑制普通烟草花叶病毒病的生理效应[J].华北农学报,2007,22(1):184-187.
- [33] 刘华山,孟南,韩锦峰,等.植物提取液对感染TMV烟叶中自由基含量及TMV增殖的影响[J].河南农业科学,2010(12):88-91.
- [34] 王颖,景耀.植物诱导抗性机理的研究进展[J].西北林学院学报,1997,12(3):52-57.
- [35] Kuass H, Waldmann T, Jeblic W. Ca^{2+} is an important but not only signal in cellulose synthesis induced by chitosan[J]. *Cell Biology*, 1989, 36(1): 107-116.
- [36] Chirkov S N. The antiviral activity of chitosan[J]. *Applied Biochemistry and Microbiology*, 2002, 38(1): 5-13.
- [37] Bell A A. Biochemical mechanisms of disease resistance[J]. *Annu Rev Plant Physiology*, 1981, 32(32): 21-81.
- [38] Knoblauch M, Van Bel A J E. Sieve tubes in action[J]. *Plant Cell*, 1998, 10(1): 35-50.
- [39] Antoniw J F. Comparison of three pathogenesis related proteins of two cultivars of tobacco infected with TMV[J]. *J Gen Virol*, 1980, 47: 79-87.
- [40] Ryals J, Neuenschwander U H, Willits M G, *et al.* Systemic resistance[J]. *Plant Cell*, 1996, 8: 1809-1819.
- [41] 江山,韩熹莱,郭雪柳.抗植物病毒剂对烟草和甜菜病程相关蛋白的诱导作用[J].植物病理学报,1995,25(3):243-246.
- [42] 孙凤成,雷新云.耐病毒诱导剂88-D诱导珊西烟产生PR蛋白及对TMV侵染的抗性[J].植物病理学报,1995,25(4):345-349.
- [43] Verma H N, Srivastava S, Varsha, *et al.* Induction of systemic resistance in plants against virus by a basic protein from *Clerodendrum aculeatum* leaves [J]. *Phytopathology*, 1996, 86: 485-492.
- [44] 车海彦,吴云峰,杨英,等.植物源病毒抑制剂WCT-III控制烟草花叶病毒病(TMV)的作用机理初探[J].

- 西北农业学报,2004,13(4):45-49.
- [45] 刘卫群,赵学强,韩锦峰,等.中草药对烟草幼苗抗 TMV 蛋白质组成及生化指标的影响[J].河南农业大学学报,2002,30(2):117-120.
- [46] 安德荣,慕小倩,蔡马,等.植物病毒复制抑制的提取及其抗性测定[J].西北农业学报,1994,3(1):95-98.
- [47] Kauffman S, Legend M, Geoffroy P, *et al.* Biological function of pathogenesis-related proteins: Four PR proteins of tobacco have 1,3-B-glucanase activity[J]. EMBO Journal,1987,6(11):3209-3212.
- [48] Legrand M, Kauffman S, Geoffroy P, *et al.* Biological function of pathogenesis-related protein: Four tobacco pathogenesis-related protein are chitinases [J]. Proc Natl Acad USA,1987,84:6750-6754.
- [49] Kassanis B, Kleczkowski A. Isolation and some properties of virus inhibiting protein from *Phytolacca esculenta* [J]. J Gen Microbiol,1948,2:143-145.
- [50] Wyatt S D, Shepherd R J. Isolation and characterization of virus inhibitors from *Phytolacca americana* [J]. Phytopathology,1969,59:1878-1794.
- [51] Kubo S, Lkeda T, Imaizumi Y, *et al.* A potent plant virus inhibition found in *Miravilis jalapa* [J]. Annals of Phytopathological Society of Japan,1990,56(4):481-487.
- [52] Stipe F, Barbein L, Battli M G, *et al.* Ribosome-inactivating proteins from plants: present status and future prospects [J]. Biotechnol,1992,10:405-412.
- [53] Verma H N, Awasthi L P. Isolation of the virus inhibitor from the root extract of *Boerhaavia diffusa* inducing systemic resistance in plant [J]. Can J Bot,1979,57:1214-1217.
- [54] Mozes Rita, Antignus Y, Sela I, *et al.* The chemical nature of antiviral factor (AVF) from virus-infected plants [J]. Gen Virol,1978,38:241-249.
- [55] Baranwal V K, Verma H N. Characteristics of a virus inhibitor from leaf extract of *Celogia cristata* [J]. Plant Pathology,1997,46:523-529.
- [56] 黄润秋,李淑英,李广仁,等.牛心朴子草抗植物农药的生物学特性研究[J].内蒙古工业大学学报:自然科学版,2001(1):39-42.
- [57] 姚宇澄,高俊,安天英,等.牛心朴子草抗植物病毒组分的生物活性研究[J].内蒙古工业大学学报:自然科学版,2002,21(1):1-4.
- [58] 辛玉成,秦淑莲,王元庆.三尖杉酯碱合成物质对烟草花叶病毒的作用效果初报 [J]. 莱阳农学院学报,1998,15(3):205-207.
- [59] 赵博光,蒋继宏.苦豆草抑制杉炭疽菌分生孢子萌发物质 [J]. 林学科学,1999,35(5):62-67.
- [60] 马天波,李星林,袁久荣.小花鬼针草中黄酮甙的分离与鉴定 [J]. 中草药,1991,2(12):531-533.
- [61] 翟梅枝.植物次生物质的抗病活性及构效成分 [D]. 福州:福建农林大学,2003.
- [62] Vlietinek A J, Vanden Berghe D A. Plant flavonoids in biology and medicine [J]. Biochemical, Cellular and Medicinal Properties,1988,280:293-299.
- [63] 雷新云,裘维蕃,于振华,等.一种病毒抑制物质 NS-83 的研制及其对蕃茄预防 TMV 侵染的研究 [J]. 植物病理学报,1984,14(1):1-7.
- [64] 陈启建,刘国坤,吴祖建,等.三叶鬼针草中黄酮对烟草花叶病的抑制作用 [J]. 福建农林大学学报:自然科学版,2003,32(2):181-184.
- [65] 刘学端,朱宏志,何昆,等.植物源农药防治烟草花叶病试验 [J]. 湖南农业大学学报,2000,26(3):193-195.