

◆ 药效与应用 ◆

## 槲皮素及其衍生物抗植物病毒的初步研究

吴 双<sup>1</sup>,薛 伟<sup>1</sup>,王德炉<sup>2</sup>,李春萍<sup>3</sup>,陈 卓<sup>1\*</sup>

(1. 贵州大学绿色农药与农业生物工程教育部重点实验室,贵阳 550025;2. 贵州大学林学院,贵阳 550025;3. 中华人民共和国贵阳海关综合技术中心,贵阳 550002)

**摘要:**采用半叶枯斑法和酶联免疫法测试槲皮素及其衍生物对烟草花叶病毒、黄瓜花叶病毒、马铃薯Y病毒和水稻条纹病毒的抑制活性,并采用RT-qPCR的方法研究槲皮素及其衍生物对Hsp mRNAs表达的影响。研究结果表明,槲皮素及其衍生物7,4'-Di-O-甲基槲皮素、3'-O-甲基-6-氢-槲皮素、3-O-甲基槲皮素、3,7,4'-Tri-O-甲基槲皮素和3,7,3',4'-Tetra-O-甲基槲皮素在100 μmol/L的浓度下对4种病毒具有较强的抑制活性。7,4'-Di-O-甲基槲皮素对4种病毒的抑制活性分别为68.46%、51.10%、62.18%和58.05%,3-O-甲基槲皮素对其抑制活性分别为52.47%、54.82%、48.55%和46.52%。42℃高温热激协同槲皮素处理能下调Hsp70和Hsp90 mRNA,并在125~1 000 μmol/L的作用剂量范围内呈剂量依赖关系。槲皮素对Hsp90 mRNA的下调效果比Hsp70 mRNA显著。42℃热激处理本氏烟Hsp70 mRNA相对表达倍数为3.59倍,槲皮素、7,4'-Di-O-甲基槲皮素、3-O-甲基槲皮素和7-O-甲基槲皮素与热激协同处理,Hsp70 mRNA表达值分别下调48.74%、66.30%、37.05%和22.84%,即7,4'-Di-O-甲基槲皮素对下调Hsp70 mRNA的效果最为明显。本研究结果为今后筛选高活性的抗病毒物质提供指导。

**关键词:**槲皮素;衍生物;植物病毒;抑制活性;热休克蛋白;作用机理

中图分类号:TQ 450.2 文献标志码:A doi:10.3969/j.issn.1671-5284.2023.02.012

### The Preliminary Study on Quercetin and Its Derivatives Aganist Plant Virus

WU Shuang<sup>1</sup>, XUE Wei<sup>1</sup>, WANG Delu<sup>2</sup>, LI Chunping<sup>3</sup>, CHEN Zhuo<sup>1\*</sup>

(1. Key Laboratory of Green Pesticide and Agricultural Bioengineering, Ministry of Education, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 2. College of Forestry, Guizhou University, Guiyang 550025, China; 3. Guiyang Customs, the People's Republic of China, Guiyang 550002, China)

**Abstract:** The activities of quercetin and its derivatives against tobacco mosaic virus (TMV), cucumber mosaic virus (CMV), potato Y virus (PVY) and rice stripe virus (RSV) were tested by the half-leaf method and enzyme-linked immunosassay. The expression abundance of mRNA of heat shock protein (Hsp)70 and Hsp90 in *Nicotiana benthamiana* leaves induced by quercetin and its derivatives were studied by RT-qPCR. The results showed that quercetin and its derivatives 7,4'-Di-O-methyl quercetin, 3'-O-methyl-6-hydrogen quercetin, 3-O-methyl quercetin, 3,7,4'-Tri-O-methyl quercetin and 3,7,3',4'-Tetra-O-methyl quercetin possessed stronger inhibitory effect against four viruses at the dosage of 100 μmol/L. The inhibitory effects of 7,4'-Di-O-methylquercetin against four viruses were 68.46%, 51.10%, 62.18% and 58.05%, and the inhibitory effects of 3-O-methylquercetin were 52.47%, 54.82%, 48.55% and 46.52%, respectively. Quercetin coupled with heat shock treatment at 42℃ could significantly down-regulate Hsp70 and Hsp90 mRNAs in a dose-dependent manner from 125 μmol/L to 1 000 μmol/L. The down-regulation effect of quercetin on Hsp90 mRNA was more significant

收稿日期:2022-12-29

基金项目:国家重点研发计划项目(2022YFD1700504);国家重点研发计划项目后补助计划(黔科合平台人才[2018]5262);国家自然科学基金(21977023、31860515)

作者简介:吴双(1997—),男,河南鹿邑人,硕士研究生,研究方向为植物病害。E-mail:1141777014@qq.com

通信作者:陈卓(1977—),男,贵州遵义人,博士,教授,主要从事农作物病害防治方面的研究。E-mail:gychenzhuo@aliyun.com

than that of *Hsp70* mRNA. The relative expression values of mRNA *Hsp70* in tobacco leaves under heat shock was 3.59. The down-regulation fold of quercetin, 7,4'-Di-*O*-methylquercetin, 3-*O*-methylquercetin and 7-*O*-methylquercetin on *Hsp70* mRNA expression were 48.74%, 66.30%, 37.05%, and 22.84%, respectively. 7,4'-Di-*O*-methyl quercetin could significantly down-regulate *Hsp70* mRNA. The results provide guidance for screening highly active antiviral substances in the future.

**Key words:** quercetin; derivative; plant virus; inhibitory activity; heat shock protein; action mechanism

植物病毒是一类可侵染植物的微生物,由植物病毒导致的农作物病害难控制,对产量损失大,危害重。因此,植物病毒病又称为植物癌症。采用抗植物病毒剂是防治植物病毒病的一种主要防控措施。基于传统的研究,我们从作用机理的角度将抗植物病毒剂划分为病毒抑制剂、病毒钝化剂、寄主诱导保护剂<sup>[1]</sup>。例如,娃儿藤碱(Tylophorine)作为病毒抑制剂,作用于烟草花叶病毒(TMV) RNA起始碱基发夹处,干扰病毒基因组和外壳蛋白的组装,影响病毒的复制<sup>[2]</sup>。宁南霉素(Ningnanmycin)作为病毒钝化剂,对病毒粒子的结构具有破坏作用<sup>[3]</sup>。苯并噻二唑(BTH)、毒氟磷(Dufulin)作为诱导保护剂,可激活植物寄主水杨酸信号通路,使寄主产生系统性获得性抗性(SAR),从而抑制病毒的增殖<sup>[3-4]</sup>。

槲皮素(Quercetin),化学名为3,3',4',5,7-五羟基黄酮,是一种黄酮类物质,广泛存在于植物的叶、花和果实中<sup>[5]</sup>。槲皮素在医学中有广泛的用途,具有抗癌、降血压、抗病毒活性<sup>[6-8]</sup>。槲皮素对马疱疹病毒I型等动物病毒也具有抑制活性<sup>[9]</sup>。也有研究表明,槲皮素对多种植物病毒具有抑制活性<sup>[10-17]</sup>。因此,关于槲皮素对植物病毒的抑制活性及其作用机理值得研究。本文以槲皮素及其衍生物为研究对象,评价其对烟草花叶病毒(TMV)、黄瓜花叶病毒(CMV)、马铃薯Y病毒(PVY)和水稻条纹病毒(RSV)的抑制活性,并研究槲皮素及其衍生物对本氏烟热休克蛋白(Hsp) mRNA表达的影响,以期为创制作用机制新颖的高活性抗植物病毒剂提供思路。

## 1 材料与方法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 供试材料

TMV、CMV和PVY保存于普通烟‘K326’(*Nicotiana tabacum* L. cv. K326)中,RSV保存于常规水稻品种上。普通烟‘K326’、本氏烟(*Nicotiana benthamiana*)、心叶烟(*Nicotiana glutinosa*)和苋色藜(*Chenopodium amaranticolor*)种植于本实验室的智能温室。

#### 1.1.2 供试药剂

槲皮素、3-*O*-甲基槲皮素、5-*O*-甲基槲皮素、3,7-Di-*O*-甲基槲皮素、3,7,4'-Tri-*O*-甲基槲皮素、3,4'-Di-*O*-甲基槲皮素、7,4'-Di-*O*-甲基槲皮素、6-羟基-槲皮素、3,7,3',4'-Tetra-*O*-甲基槲皮素、7-*O*-甲基槲皮素、3,3-Di-OSO<sub>3</sub>H-槲皮素、3,7,4'-Tri-OSO<sub>3</sub>H-槲皮素、3'-*O*-甲基-6-氢-槲皮素(纯度≥90%),上海阿拉丁生化科技股份有限公司;二甲基亚砜(DMSO),生工生物工程(上海)股份有限公司;检测PVY的ELISA试剂盒,上海研谨生物科技有限公司;RNA提取、逆转录反应、荧光定量PCR分别采用的TransZol(目录号:ET101-01)、TransScript® Uni All-in-One First-Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR(One-Step gDNA Removal)(目录号:AU341-02)和PerfectStart® Fast Green qPCR SuperMix(目录号:AQ611-01)试剂,北京全式金生物技术股份有限公司。

#### 1.1.3 供试仪器

Quant Studio 6 Flex 荧光定量PCR仪,赛默飞世尔科技(中国)有限公司;HBS-1096C酶标仪,南京德铁生物科技有限公司。

### 1.2 抗植物病毒活性测试

TMV、CMV和PVY保存在烟草‘K326’上。TMV的纯化采用Gooding等<sup>[18]</sup>报道的方法,CMV的纯化采用周雪平等<sup>[19]</sup>报道的方法,PVY的纯化采用罗亮指<sup>[20]</sup>的方法,RSV的纯化采用戈林泉等<sup>[21]</sup>报道的方法。TMV和RSV的抗病毒活性评价采用半叶枯斑法在心叶烟上完成<sup>[22-23]</sup>,CMV和PVY的抗病毒活性评价采用半叶枯斑法在苋色藜上完成<sup>[20,24]</sup>。心叶烟和苋色藜种植于智能温室,白天和黑夜温度分别为25℃和20℃;光周期L//D=16 h//8 h,湿度控制在70%~80%。6叶期的心叶烟和苋色藜用于抗病毒活性测试。采用金刚砂磨擦接种病毒至2片叶上。将待测化合物溶解于80 μL DMSO,加入含0.1% tween 80的二次蒸馏水,定容至100 μmol/L。采用细软的毛笔将待测化合物刷在右半叶上,左半叶仅刷含0.1% tween 80的水作为对照。每个处理15个重复,独立重复3

次试验。抗病毒活性按式(1)计算。

$$X/\% = \frac{(A_{CK} - A)}{A_{CK}} \times 100 \quad (1)$$

式中: $X$ 代表抑制率,%; $A$ 代表右半叶上的枯斑数; $A_{CK}$ 代表左半叶上的枯斑数。

### 1.3 槲皮素对*Hsp* mRNA表达的影响

槲皮素对*Hsp* mRNA表达影响的分析在本氏烟上完成。本氏烟种植于智能温室,白天与黑夜温度分别为25℃和20℃,光周期L//D=16 h//8 h,湿度控制在70%~80%。叶龄为3叶期,采用RT-qPCR研究*Hsp70*

和*Hsp90* mRNAs的表达。采用Primer 3软件(<https://bioinfo.ut.ee/primer3-0.4.0/>)设计上述基因的荧光定量PCR引物,选择*actin*为内参基因(表1)。槲皮素的作用剂量为125、250、500 μmol/L和1 000 μmol/L,采用42℃的高温热激本氏烟1 h,叶面喷施槲皮素后继续在42℃的高温条件下热激1 h。收集本氏烟第3叶,液氮条件下研磨成细粉。采用TransZol试剂提取总RNA,采用TransScript® Uni All-in-One First-Strand cDNA Synthesis SuperMix for qPCR试剂合成cDNA,采用荧光定量PCR仪进行基因定量分析。

表1 *Hsp70*和*Hsp90*的基因引物序列

基因名	基因号	上游引物	下游引物	产物大小/bp
<i>Hsp70</i>	AB181296.1	gcaccaccagtcttagcaca	ccagcaggcttctcgtaatc	82
<i>Hsp90</i>	LC314272.1	tgggtacaattgcaaggctca	acaccaaattgccaaatcat	88
<i>actin</i>	AY179605.1	aatgatcggaaatggaagctg	tggtaccaccactgaggaca	116

### 1.4 槲皮素或槲皮素衍生物对*Hsp* mRNAs表达的影响

基于本研究中抗植物病毒活性数据,研究500 μmol/L槲皮素、7,4'-Di-O-甲基槲皮素、3-O-甲基槲皮素或7-O-甲基槲皮素对*Hsp70* mRNA表达的影响。将本氏烟置于光照培养箱中于42℃热激1 h后,叶面喷施槲皮素和槲皮素衍生物,继续放置在42℃条件下热激1 h。收集本氏烟第3叶,采用RT-qPCR方法研究槲皮素或槲皮素衍生物对*Hsp70* mRNA表达的影响。

### 1.5 数据处理

采用SPSS version 11.5进行数据处理与分析。针

对抗植物病毒活性和基因定量分析的数据,方差分析采用最小显著差异方法进行。

## 2 结果与分析

### 2.1 抗植物病毒活性

抗TMV活性测试表明,7,4'-Di-O-甲基槲皮素和3'-O-甲基-6-氢-槲皮素对TMV的抑制活性较强,抑制率分别为68.46%、57.83%;槲皮素和3-O-甲基槲皮素也具有较高的抑制活性,抑制率分别为54.68%和52.47%。3,7,3',4'-Tetra-O-甲基槲皮素和3,7,4'-Tri-O-甲基槲皮素也具有一定的抑制活性,抑制率为49.38%和48.62%(表2)。

表2 槲皮素或槲皮素衍生物对4种植物病毒的抑制活性

测试化合物	抑制率/%			
	TMV	CMV	PVY	RSV
槲皮素	54.68 ± 6.37 ab	52.41 ± 6.08 ab	50.03 ± 3.53 b	54.86 ± 6.85 ab
3-O-甲基槲皮素	52.47 ± 6.42 ab	54.82 ± 4.98 a	48.55 ± 3.47 b	46.52 ± 6.07 b
5-O-甲基槲皮素	32.98 ± 4.82 c	35.62 ± 4.93 c	30.20 ± 3.16 d	35.87 ± 7.58 bc
3,7-Di-O-甲基槲皮素	30.42 ± 4.41 c	33.63 ± 4.52 c	31.36 ± 3.37 d	29.76 ± 7.06 c
3,7,4'-Tri-O-甲基槲皮素	48.62 ± 6.05 b	50.35 ± 6.12 ab	42.12 ± 4.72 c	38.98 ± 7.72 bc
3,4'-Di-O-甲基槲皮素	29.46 ± 4.37 c	34.71 ± 4.70 c	28.23 ± 3.08 d	24.61 ± 6.58 d
7,4'-Di-O-甲基槲皮素	68.46 ± 4.93 a	51.10 ± 4.76 ab	62.18 ± 4.81 a	58.05 ± 9.04 a
6-羟基-槲皮素	20.33 ± 4.28 d	18.47 ± 4.15 d	16.70 ± 3.86 e	19.06 ± 6.16 d
3,7,3',4'-Tetra-O-甲基槲皮素	49.38 ± 6.26 b	46.63 ± 6.14 b	43.17 ± 3.71 c	45.72 ± 6.16 b
7-O-甲基槲皮素	14.53 ± 4.05 d	12.43 ± 4.15 f	25.32 ± 3.11 de	23.08 ± 6.27 d
3,3-Di-OSO <sub>3</sub> H-槲皮素	12.58 ± 4.11 d	11.37 ± 4.08 f	9.07 ± 3.03 e	14.41 ± 5.77 d
3,7,4'-Tri-OSO <sub>3</sub> H-槲皮素	16.43 ± 4.16 d	13.46 ± 4.02 e	15.32 ± 4.05 e	38.60 ± 7.63 bc
3'-O-甲基-6-氢-槲皮素	57.83 ± 6.62 a	52.75 ± 6.37 a	51.46 ± 6.82 b	57.26 ± 6.25 a

注:同列不同小写字母表示在P<0.05水平上差异显著。

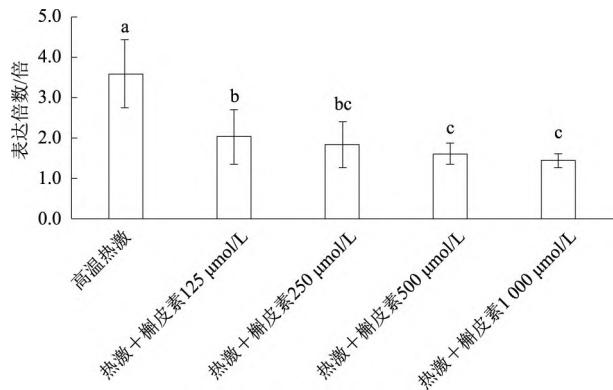
抗CMV活性测试表明,3-O-甲基槲皮素、3'-O-甲基-6-氢-槲皮素、槲皮素、7,4'-Di-O-甲基槲皮素和3,7,4'-Tri-O-甲基槲皮素具有较强的抑制活性,抑制率分别为54.82%、52.75%、52.41%、51.10%和50.35%。3,7,3',4'-Tetra-O-甲基槲皮素也具有一定抑制活性,抑制率为46.63%。其他的槲皮素衍生物对CMV的抑制活性较弱(表2)。

抗PVY活性测试表明,7,4'-Di-O-甲基槲皮素对PVY的抑制活性最强,3'-O-甲基-6-氢-槲皮素、槲皮素、3-O-甲基槲皮素、3,7,3',4'-Tetra-O-甲基槲皮素和3,7,4'-Tri-O-甲基槲皮素也具有较强的抑制活性(表2)。

抗RSV活性测试表明,7,4'-Di-O-甲基槲皮素、3'-O-甲基-6-氢-槲皮素、槲皮素、3-O-甲基槲皮素和3,7,3',4'-Tetra-O-甲基槲皮素具有较强的抑制活性。而3,3-Di-OSO<sub>3</sub>H-槲皮素、6-羟基-槲皮素、7-O-甲基槲皮素、3,4'-Di-O-甲基槲皮素对4种病毒的抑制活性较弱(表2)。

## 2.2 槲皮素对Hsp70和Hsp90 mRNAs的表达影响

RT-qPCR研究结果表明,高温热激处理的Hsp70 mRNA表达倍数为3.59倍,采用不同剂量的槲皮素及高温热激处理能下调Hsp70 mRNA的表达,其在125~1 000 μmol/L作用剂量下的表达倍数分别为2.03、1.84、1.61倍和1.44倍,随作用剂量的增加,表达倍数下调也越明显(图1)。此外,高温热激处理也可上调Hsp90 mRNA表达,其表达倍数为2.87倍,125~1 000 μmol/L槲皮素及高温热激处理能下调Hsp90 mRNA的表达,其表达倍数分别为1.08、1.02、0.94倍和0.83倍。综合Hsp70和Hsp90 mRNA的定量PCR结果,发现槲皮素对Hsp90 mRNA调控效果显著于Hsp70 mRNA(图2)。



注:不同小写字母表示在P<0.05水平上差异显著。下同

图1 槲皮素对Hsp70 mRNA表达的影响

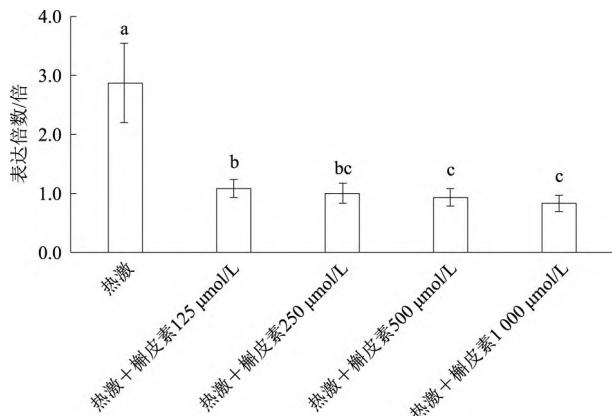


图2 槲皮素对Hsp90 mRNA表达的影响

## 2.3 槲皮素或槲皮素衍生物对Hsp70 mRNA的表达影响

RT-qPCR研究结果表明,热激处理的Hsp70 mRNA表达倍数为3.59倍。槲皮素、7,4'-Di-O-甲基槲皮素、3-O-甲基槲皮素、7-O-甲基槲皮素分别与42℃热激协同处理下的Hsp70 mRNA表达倍数为1.84、1.21、2.26倍和2.77倍,下调比例分别为48.74%、66.30%、37.05%和22.84%。结果表明,7,4'-Di-O-甲基槲皮素对Hsp70 mRNA的调控最为明显(图3)。

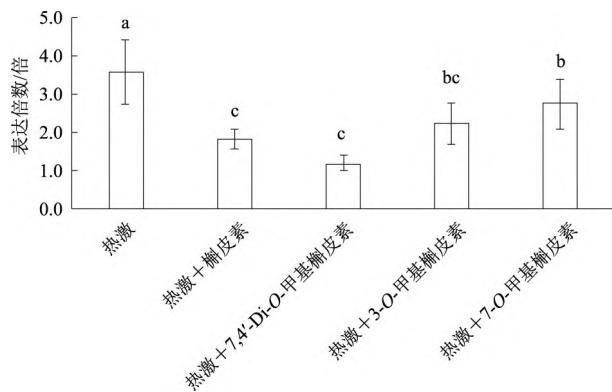


图3 500 μmol/L槲皮素和槲皮素衍生物对Hsp70 mRNA的影响

## 3 讨论与结论

采用抗植物病毒病药剂防治植物病毒病是农业生产上一种主要措施。近年来,生产上主要采用的抗植物病毒病药剂主要是病毒治疗剂、病毒钝化剂和免疫激活剂,3类药剂各有优点和缺点。例如,病毒治疗剂存在用药次数多,推广成本高,对作物没有保护效果;免疫激活剂的施用最佳时期为病毒侵染前或作物苗期或发病早期。槲皮素是一种具有广泛生物活性的黄酮类物质,广泛存在于植物中。槲皮素也是中医药的主要成分之一,对人、畜和环境安

全。基于槲皮素的母体结构进行新农药开发，在毒性、环境评价上潜在风险较小。为了探明槲皮素的活性基团，创制结构新颖、病毒抑制活性突出的槲皮素类似结构衍生物，本研究通过比较槲皮素及其衍生物的抗病毒活性，发现槲皮素及其衍生物7,4'-Di-O-甲基槲皮素、3'-O-甲基-6-氢-槲皮素、3-O-甲基槲皮素、3,7,3',4'-Tetra-O-甲基槲皮素和3,7,4'-Tri-O-甲基槲皮素对4种病毒具有较强的抑制活性，其结果与前人报道对PVX、番茄环斑病毒(TomRSV)、苹果茎沟病毒(ASGV)的抑制活性相似<sup>[10-11,25]</sup>。因此，我们推测槲皮素骨架分子上3位的甲基有助于提高抗植物病毒活性，7和4'位甲基的存在可增加抗植物病毒的活性。关于槲皮素及其衍生物的作用机制的研究有少量报道。例如，3'-O-甲基-6-氢-槲皮素作用于缺乏系统性获得性抗性的烟草，烟草缺乏相应的抗性物质，也不表现出抗病毒活性，提示槲皮素衍生物不会诱导增加植物寄主抗性<sup>[26]</sup>。同时，也有研究报道3,7,3',4'-Tetra-O-甲基槲皮素在体外条件下对TMV粒子没有破坏作用<sup>[25]</sup>。此外，3,7,3',4'-Tetra-O-甲基槲皮素或3,7,4'-Tri-O-甲基槲皮素在体外条件下不影响TMV RNA复制，说明槲皮素衍生物对病毒没有直接的抑制作用<sup>[23]</sup>。目前，所有槲皮素及其衍生物抗植物病毒的活性均来自活体上的数据。因此，我们推测槲皮素及其衍生物对植物寄主产生了间接的影响。Hsp作为分子伴侣蛋白，可以帮助蛋白完成折叠、修饰等过程，使得蛋白表现出相应的活性。例如，Hsp70可与TBSV复制蛋白、Viral RNA复制子和rNTP等共同构成病毒复制酶复合体，促进TBSV的复制<sup>[25]</sup>。同时，前人研究也发现槲皮素可下调经TBSV侵染本氏烟的Hsp70，但关于槲皮素及其衍生物与Hsp70和Hsp90间的调控关系，至今未见有报道。本研究发现槲皮素可下调经高温热激的本氏烟的Hsp70和Hsp90。其中，对Hsp90的下调较Hsp70明显，量效关系发现500 μmol/L对Hsp的效果较为显著。此外，通过比较槲皮素及其衍生物对Hsp70的调控效果，我们发现7,4'-Di-O-甲基槲皮素对Hsp的调控效果明显，这为今后筛选高活性的抗病毒物质提供启示。

#### 参考文献

- [1] 陈卓, 范会涛, 刘家驹, 等. 抗植物病毒农药的化学生物学和作用机制新研究进展[C]//中国植物保护学会2010年学术年会. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2010: 585-596.
- [2] XI Z, ZHANG R Y, YU Z H, et al. Selective interaction between tylophorine B and bulged DNA[J]. Bioorganic Medicinal Chemistry Letters, 2005, 15(10): 2673-2677.
- [3] CHEN Z, CHEN B H, GUO Q, et al. A time-course proteomic analysis of rice triggered by plant activator BTH [J]. Journal of Plant Growth Regulation, 2015, 34: 392-409.
- [4] CHEN Z, ZENG M J, SONG B A, et al. Dufulin activates HrBP1 to produce antiviral responses in tobacco[J]. PLoS ONE, 2012, 7(5): e37944.
- [5] KELLY G S. Quercetin[J]. Alternative Medicine Review, 2011, 16 (2): 172-194.
- [6] CHEN Z, LIU Y M, YANG S, et al. Studies on the chemical constituents and anticancer activity of *Saxifraga stolonifera* (L) Meeb[J]. Bioorganic Medicinal Chemistry, 2008, 16 (3): 1337-1344.
- [7] LARSON A J, SYMONS J D, JALILI T. Therapeutic potential of quercetin to decrease blood pressure: review of efficacy and mechanisms[J]. Advances in Nutrition, 2012, 3(1): 39-46.
- [8] KAUL T N, MIDDLETON E J R, OGRA P L. Antiviral effect of flavonoids on human viruses[J]. Journal of Medical Virology, 1985, 15(1): 71-79.
- [9] GRAVINA H D, TAFURI N F, SILVA JUNIOR A, et al. In vitro assessment of the antiviral potential of trans-cinnamicacid, quercetin and morin against equid herpesvirus 1[J]. Research in Veterinary Science, 2011, 91(3): e158-e162.
- [10] FRENCH C J, NEIL TOWERS G. Inhibition of infectivity of potato virus x by flavonoids[J]. Phytochemistry, 1992, 31(9): 3017-3020.
- [11] MALHOTRA B, ONYILAGHA J C, BOHM B A, et al. Inhibition of tomato ringspot virus by flavonoids[J]. Phytochemistry, 1996, 43(6): 1271-1276.
- [12] RUSAK G, KRAJACIC M, KRSNIK-RASOL M, et al. Quercetin influences response in *Nicotiana megalosiphon* infected by satellite-associated cucumber mosaic virus[J]. Journal of Plant Diseases Protection, 2007, 114(4): 145-150.
- [13] WANG R Y L, STORK J, NAGY P D. A key role for heat shock protein 70 in the localization and insertion of tombusvirus replication proteins to intracellular membranes[J]. Journal of Virology, 2009, 83(7): 3276-3287.
- [14] ALAM S B, ROCHEON D. Cucumber necrosis virus recruits cellular heat shock protein 70 homologs at several stages of infection [J]. Journal of Virology, 2015, 90(7): 3302-3317.
- [15] HAFREN A, HOFIUS D, RONNHOLM G, et al. *HSP70* and its cochaperone CP19 promote potyvirus infection in *Nicotiana benthamiana* by regulating viral coat protein functions[J]. The Plant Cell, 2010, 22(2): 523-535.
- [16] MATHIOUDAKIS M M, RODRIGUEZ-MORENO L, SEMPERE R N, et al. Multifaceted capsid proteins: multiple interactions suggest multiple roles for pepino mosaic virus capsid protein[J]. Molecular Plant-Microbe Interactions, 2014, 27(12): 1356-1369.
- [17] JIANG S S, LU Y W, LI K F, et al. Heat shock protein 70 is necessary for rice stripe virus infection in plants [J]. Molecular Plant

- Pathology, 2014, 15(9): 907-917.
- [18] GOODING G V J, HEBERT T T. A simple technique for purification of tobacco mosaic virus in large quantities[J]. Phytopathology, 1967, 57(11): 1285.
- [19] 周雪平, 徐志新, 徐静, 等. 侵染丝瓜的黄瓜花叶病毒研究[J]. 华南农业大学学报, 1995, 16(2): 74-79.
- [20] 罗亮指. 新型吡啶并[1,2- $\alpha$ ]噁唑介离子化合物的抗PVY活性及初步作用机制研究[D]. 贵阳: 贵州大学, 2022.
- [21] 戈林泉, 赵伟春, 祝树德, 等. 水稻条纹叶枯病毒单克隆抗体的制备及其特性研究[J]. 扬州大学学报(农业与生命科学版), 2010, 31(1): 76-80.
- [22] SONG B A, ZHANG H P, WANG H, et al. Synthesis and antiviral activity of novel chiral cyanoacrylate derivatives[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2005, 53 (20): 7886-7891.
- [23] GAN X H, HU D Y, WANG Y J, et al. Novel trans-ferulic acid derivatives containing a chalcone moiety as potential activator for plant resistance induction[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2010, 58(1): 20-24.
- [24] LUO H, LIU J J, JIN L H, et al. Synthesis and antiviral bioactivity of novel (1E, 4E)-1-aryl-5-(2-(quinazolin-4-yloxy)phenyl)-1,4-pentadien-3-one derivatives[J]. European Journal of Medicinal Chemistry, 2013, 63: 662-669.
- [25] JAMES D, TRYTTEN P A, MACKENZIE D J, et al. Elimination of apple stem grooving virus by chemotherapy and development of an immunocapture RT-PCR for rapid sensitive screening [J]. Annals of Applied Biology, 1997, 131(3): 459-470.
- [26] RUSAK G, KRAJACIC M, PLESE N. Inhibition of tomato bushy stunt virus infection using a quercetagin flavonoid isolated from *Centaurea rupestris* L[J]. Antiviral Research, 1997, 36(2): 125-129.
- [27] POGANY J, STORK J, LI Z H, et al. *In vitro* assembly of the tomato bushy stunt virus replicase requires the host heat shock protein 70[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2008, 105(50): 19956-19961.

(责任编辑:金兰)

(上接第 69 页)

产生不同的基质效应。

不同农药在不同的茶叶中所表现的基质效应及强度是不同的, 因此在日常检验检测工作中, 应当根据具体的茶叶种类、产地, 并结合不同的测定浓度、待测农药种类合理地选择茶叶基质, 避免造成较大的检测误差。

#### 参考文献

- [1] 杨延峰, 袁晓丽. 气相色谱法测定茶叶中有机氯和拟虫菊酯类农药残留的基质效应[J]. 食品安全质量检测学报, 2020, 11(20): 7482-7488.
- [2] 丁亦男, 童小麟, 赖国银, 等. 国内外茶叶农药残留限量标准与出口茶叶安全研究[J]. 食品安全质量检测学报, 2019, 10(23): 8140-8145.
- [3] HAZARIKA L K, BHUYAN M, HAZARIKA B N. Insect pests of tea and their management[J]. Annual Review of Entomology, 2009, 54: 267-284.
- [4] 刘腾飞, 董明辉, 杨代凤, 等. 茶叶质量安全主要化学影响因素分析方法研究进展[J]. 食品科学, 2018, 39(9): 310-318.
- [5] 叶学敏. 新型QuEChERS方法在果蔬农残分析中的应用研究[D]. 杭州: 浙江工业大学, 2020.
- [6] HUANG Y S, SHI T, LUO X, et al. Determination of multi-pesticide residues in green tea with a modified QuEChERS protocol coupled to HPLC-MS/MS[J]. Food Chemistry, 2019, 275: 255-264.
- [7] GAO Y X, CHEN P H, NIE D D. Determination of 53 pesticide residues in tea by gas chromatography-tandem mass spectrometry and double internal standard method[J]. Chinese Journal of Chromatography, 2018, 36(6): 531-540.
- [8] LI Y, WANG Z B, GAO F M, et al. Selection of representative matrices for the multiresidue analysis of pesticides in tea by GC-MS/MS[J]. Analytical Methods, 2018, 10(8): 855-866.
- [9] 李俊芳, 景伟文, 李德强, 等. 分散固相萃取-超高效液相色谱-串联高分辨质谱法测定新疆苹果中 7 种农药残留[J]. 食品科学, 2018, 39(8): 295-301.
- [10] 曾艳, 郎红, 杨巧慧, 等. 固相萃取-GC/LC-MS/MS测定茶叶中 79 种农药残留[J]. 茶叶科学, 2019, 39(5): 576-586.
- [11] MOINFAR S, HOSSEINI M. Development of dispersive liquid - liquid microextraction method for the analysis of organophosphorus pesticides in tea[J]. Journal of Hazardous Materials, 2009, 169(1-3): 907-911.
- [12] WANG F Q, LI S H, FENG H, et al. An enhanced sensitivity and cleanup strategy for the nontargeted screening and targeted determination of pesticides in tea using modified dispersive solid-phase extraction and cold-induced acetonitrile aqueous two-phase systems coupled with liquid chromatography-high resolution mass spectrometry[J]. Food Chemistry, 2019, 275: 530-538.
- [13] 鲍忠赞, 邓昭浦. 气相色谱法检测果蔬中 30 种有机磷类农药残留的基质效应[J]. 湖北农业科学, 2019, 58(20): 152-156.
- [14] 李岩. 茶叶中农药多残留测定时基质效应研究[D]. 秦皇岛: 燕山大学, 2013.

(责任编辑:金兰)