

引用格式:

刘玲驿, 刘恋, 韦成志, 刘鑫, 曹运琳, 郑亚杰, 马先锋. 博落回中血根碱和白屈菜红碱对柑橘溃疡病菌的抑制作用[J]. 湖南农业大学学报(自然科学版), 2026, 52(2): 64–73.

LIU L Y, LIU L, WEI C Z, LIU X, CAO Y L, ZHENG Y J, MA X F. Inhibitory effects of sanguinarine and chelerythrine within *Macleaya cordata* on *Xanthomonas citri* subsp. *citri*[J]. Journal of Hunan Agricultural University(Natural Sciences), 2026, 52(2): 64–73.

投稿网址: <http://xb.hunau.edu.cn>



博落回中血根碱和白屈菜红碱对柑橘溃疡病菌的抑制作用

刘玲驿^{1,2}, 刘恋^{1,2}, 韦成志¹, 刘鑫^{1,2}, 曹运琳^{1,2,3}, 郑亚杰³, 马先锋^{1,2,3*}

(1. 湖南农业大学园艺学院 国家柑橘改良中心长沙分中心, 湖南 长沙 410128; 2. 园艺作物种质创新与新品种选育教育部工程研究中心, 湖南 长沙 410128; 3. 岳麓山实验室, 湖南 长沙 410128)

摘要: 通过测定博落回果荚、叶片和根系粗提物及血根碱(SAN)、白屈菜红碱(CHE)、原阿片碱(PRO)与别隐品碱(ALL) 4种异喹啉类生物碱对柑橘溃疡病菌(*Xanthomonas citri* subsp. *citri*, *Xcc*)的抑菌活性, 结合最小抑菌浓度(MIC)、半数抑制浓度(IC₅₀)、扫描电镜观察及活体接种试验, 明确博落回中抑制*Xcc*的关键活性成分及其作用效果。结果显示: 博落回果荚粗提物的抑菌活性最高, 其SAN含量显著高于叶片和根部及果荚中其他生物碱含量。博落回粗提物中的关键抑菌活性成分为SAN和CHE, MIC分别为4 μg/mL和8 μg/mL, IC₅₀分别为(1.723±0.002) μg/mL和(6.164±0.106) μg/mL。扫描电镜观察结果显示, 4 μg/mL的SAN与病原菌*Xcc*共培养4 h后, 可诱导菌体形态畸变并产生表面凹陷, 8 μg/mL的CHE处理导致菌体膜结构完整性受损, 表明SAN和CHE在极低剂量下对*Xcc*具有强效抑制效果。*Xcc*活体接种试验结果显示, 在先接菌后喷药条件下, SAN质量浓度为30 μg/mL、CHE质量浓度为10~20 μg/mL时抑菌效果最佳; 而在先喷药后接菌条件下, SAN质量浓度为20 μg/mL时效果最佳, CHE质量浓度为30 μg/mL和50 μg/mL时抑菌效果最佳。当SAN与CHE质量浓度配比为2:1 (30 μg/mL:15 μg/mL)时, 对*Xcc*的抑制效果最好。

关键词: 柑橘溃疡病; 抑菌活性; 博落回; 血根碱; 白屈菜红碱

中图分类号: S436.66; S567.1

文献标志码: A

文章编号: 1007-1032(2026)02-0064-10

Inhibitory effects of sanguinarine and chelerythrine within *Macleaya cordata* on *Xanthomonas citri* subsp. *citri*

LIU Lingyi^{1,2}, LIU Lian^{1,2}, WEI Chengzhi¹, LIU Xin^{1,2}, CAO Yunlin^{1,2,3}, ZHENG Yajie³, MA Xianfeng^{1,2,3*}

(1. College of Horticulture, Hunan Agricultural University & Changsha Branch of National Citrus Improvement Center, Changsha, Hunan 410128, China; 2. Engineering Research Center of Ministry of Education for Germplasm Innovation and New Variety Breeding of Horticultural Crops, Changsha, Hunan 410128, China; 3. Yuelushan Laboratory, Changsha, Hunan 410128, China)

Abstract: The antibacterial activities of crude extracts from the fruit capsules, leaves, and roots of *Macleaya cordata*, as well as four isoquinoline alkaloids, including sanguinarine(SAN), chelerythrine(CHE), protopine(PRO), and allocryptopine(ALL) against *Xanthomonas citri* subsp. *citri*(*Xcc*) were evaluated. Combined with determinations of minimum inhibitory concentration(MIC), half maximal inhibitory concentration(IC₅₀), scanning electron microscopy (SEM) observation, and *in vivo* inoculation assays, the key active components in *M. cordata* responsible for *Xcc* inhibition and their effects were identified. The results showed that the crude extract from *M. cordata* fruit capsules exhibited the

收稿日期: 2025-05-21

修回日期: 2025-07-04

基金项目: 国家自然科学基金联合基金项目(U21A20228); 湖南省自然科学基金项目(2025JJ60177); 湖南省教育厅科学研究项目(24B0218)

作者简介: 刘玲驿(1998—), 女, 重庆人, 硕士研究生, 主要从事柑橘病害及其天然代谢物防治研究, 1127643958@qq.com; *通信作者, 马先锋, 博士, 教授, 主要从事果树遗传育种、柑橘危险性病害研究, ma8006@hunau.edu.cn

most significant antibacterial activity, and its SAN content was significantly higher than those detected in the leaves and roots, as well as other alkaloids in the fruit capsules. SAN and CHE were identified as the key antibacterial components, with MIC values determined to be 4 $\mu\text{g/mL}$ and 8 $\mu\text{g/mL}$, and IC_{50} values of (1.723 $\pm$ 0.002) $\mu\text{g/mL}$ and (6.164 $\pm$ 0.106) $\mu\text{g/mL}$, respectively. Results from scanning electron microscopy demonstrated that 4 $\mu\text{g/mL}$ SAN induced morphological deformation and surface depression in *Xcc* after 4 h co-culture, while 8 $\mu\text{g/mL}$ CHE compromised bacterial membrane integrity, and the integrity of the bacterial membrane structure was damaged, indicating that SAN and CHE had a strong inhibitory effect on *Xcc* at very low doses. Results from *in vivo* inoculation assays of *Xcc* showed that, under the condition of inoculation followed by spraying, the optimal antibacterial effects were achieved by SAN at 30 $\mu\text{g/mL}$ and CHE at 10-20 $\mu\text{g/mL}$; under the condition of spraying followed by inoculation, the optimal mass concentrations were determined to be 20 $\mu\text{g/mL}$ for SAN, and 30 $\mu\text{g/mL}$ and 50 $\mu\text{g/mL}$ for CHE. The best inhibitory effect against *Xcc* was exhibited by the SAN : CHE combination at a ratio of 2 : 1(30 $\mu\text{g/mL}$: 15 $\mu\text{g/mL}$).

Keywords: citrus canker; antibacterial activity; *Macleaya cordata*; sanguinarine; chelerythrine

柑橘溃疡病是由黄单胞杆菌柑橘致病变种 *Xanthomonas citri* subsp. *citri*(*Xcc*)引起的一种世界检疫性病害^[1],通过侵染植株气孔、皮孔及伤口,引发黑斑、落叶、枯梢与果实脱落等症状,严重时可导致植株死亡^[2]。目前,化学杀菌剂是防控柑橘溃疡病的主要手段^[3],但其无法彻底清除病原菌,且长期施用易导致生态环境污染。植物源抗菌剂因具备安全、可持续等优点,被认为是化学农药的潜在替代品^[4]。有研究表明,大蒜提取物、罗望子提取物可有效降低溃疡病发病率^[5-6],而路边青提取物能干扰铜绿假单胞菌(*Pseudomonas aeruginosa*)的感应系统^[7]。植物源抗菌剂具有低成本、低毒性、副作用较少等独特的药理特性^[7],但其在柑橘溃疡病防控中的应用研究仍处于初级阶段。

生物碱是一类广泛分布于罂粟科(Papaveraceae)、茄科(Solanaceae)等植物中的次生代谢产物,其通过干扰病原菌细胞壁合成、蛋白质合成及DNA复制等过程破坏病原菌的生理活动^[8-9],在植物防御中发挥重要作用^[10]。博落回是罂粟科多年生草本植物,富含血根碱(sanguinarine, SAN)、白屈菜红碱(chelerythrine, CHE)、原阿片碱(protopine, PRO)与别隐品碱(allocryptopine, ALL)等异喹啉类生物碱^[11],其干物质对玉米大斑病、小麦赤霉病和稻瘟病均有良好的抑制效果^[12];总生物碱、总生物碱盐对烟草黑胫病菌的抑制效果较明显^[13]。生物碱类植物提取物在病害防治方面具有较好的应用前景,其中, SAN与CHE能够抑制真菌与细菌的生长^[14-16]。然而,目前在柑橘溃疡病防治中,针对*Xcc*的绿色防控药剂资源不足,且尚无异喹啉类生物碱抑制*Xcc*的相关

研究报告,亟待深入研究。

本研究以博落回果荚、叶、根等不同组织部位粗提物及其代表性生物碱(SAN、CHE、PRO和ALL)为供试药剂,测定其对*Xcc*的室内毒力;进一步选取SAN、CHE及4种代表性生物碱的复配组合开展活体接种防效试验,以期为上述物质应用于柑橘溃疡病绿色防控提供参考依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试病原菌:柑橘溃疡病菌*Xcc* DL509菌株(亚洲A系)^[3]由国家柑橘改良中心长沙分中心分离纯化和鉴定,保存于-80℃冰箱。

植物材料:甜橙容器苗放置于温室,博落回(*Macleaya cordata*(Willd.) R. Br., 俗称大果博落回)种植于湖南农业大学中药材基地。

培养基:LB固体培养基含10 g/L蛋白胨、5 g/L酵母提取物、10 g/L氯化钠、15 g/L琼脂;LB液体培养基含10 g/L蛋白胨、5 g/L酵母提取物、10 g/L氯化钠。

主要试剂及仪器:乙腈(色谱纯)和磷酸(色谱纯),均购自上海麦克林生化科技股份有限公司。Silwet L-77 表面活性剂购自中科瑞泰(北京)生物科技有限公司。20%噻森铜悬浮剂(简称SST),购自浙江东风化工有限公司。对照品SAN、CHE、PRO、ALL(纯度大于98%),均由湖南农业大学刘秀斌老师惠赠。ZQZY-AF8振荡培养箱(上海知楚仪器有限公司)、DHP-9272B电热恒温培养箱(上海一恒科学仪器有限公司)、UV-1000型紫外可见光光度计(翱艺仪器(上海)有限公司)、Infinite M200

PRO全波段酶标仪(瑞士Tecan公司)、HVA-50全自动高压蒸汽灭菌锅(日本平山制作所株式会社)、Alpha 1-4 LDplus真空冷冻干燥机(德国Martin Christ公司)、Thermo Scientific UltiMate 3000高效液相色谱仪(赛默飞世尔科技有限公司)、JSM-6380LV型扫描电镜(日本电子株式会社)。

1.2 方法

1.2.1 博落回粗提物及生物碱溶液制备

分别取博落回新鲜果荚、叶、根组织适量,液氮研磨后各称取5.0 g粉末,按料液比1:25加入75%体积分数乙醇,于60℃、80 W超声提取1 h(每10 min振荡1次)。分别取10 mL上清液冷冻干燥至恒质量,获得果荚、叶和根粗提物粉末,并用75%甲醇溶解10 mg粉末并定容至1 mL,获得终浓度为10 mg/mL的博落回果荚、叶、根粗提物母液。分别称取生物碱SAN、CHE、ALL、PRO标准品粉末2.0 mg,以甲醇溶解后配制2.0 mg/mL生物碱母液,4℃保存,备用。分别称取SAN、CHE粉末,以无菌水为溶剂配制生物碱抑菌母液2.0 mg/mL,4℃保存,备用。

1.2.2 博落回组织粗提物中生物碱含量测定

分别取1.0 g/mL博落回果荚、叶、根粗提物母液,以甲醇为溶剂稀释100倍,得到10 mg/mL待测溶液,用于测量4种主要生物碱含量。分别取SAN、CHE、ALL、PRO这4种生物碱的单标储备液(质量浓度为2.0 mg/mL),分别梯度稀释至100.00、50.00、25.00、12.50、6.25 μg/mL,用于绘制生物碱单标标准曲线。色谱检测:检测波长为270 nm,色谱柱为ShimNex CS C18(5 μm, 4.6 mm×250 mm),柱温30℃,流速1.0 mL/min,进样量5 μL,流动相为乙腈(A)和0.1%磷酸(B)。梯度洗脱程序如下:0~5 min, A液和B液体积比为25:75; 5~12 min, A液和B液体积比为60:40; 12~15 min, A液和B液体积比为25:75; 15~20 min, A液和B液体积比为25:75,总运行时间为27 min。

1.2.3 博落回粗提物及4种生物碱对*Xcc*的抑菌活性的测定

挑取活化的*Xcc*单菌落于LB液体培养基中,28℃培养14~16 h,7 500g离心10 min,无菌水重悬

至吸光度(OD_{600})为0.62(菌浓度为 10^9 CFU/mL),稀释至 10^8 CFU/mL。取10 mL菌液倒入200 mL熔融LB固体培养基(约45℃)中轻柔混匀,取15 mL含菌培养基倒入直径为90 mm的固体平板培养基中,凝固后放置6 mm无菌滤纸片。分别取10 mg/mL博落回果荚、叶、根组织供试粗提液及SAN、CHE、ALL、PRO生物碱母液(质量浓度为2.0 mg/mL),用甲醇分别稀释至0.4、0.8、1.2 mg/mL,待测。两两混配SAN、CHE、ALL、PRO,得到SAN:CHE、SAN:PRO、SAN:ALL、ALL:PRO、ALL:CHE、PRO:CHE共6种组合,各组合按照质量浓度比2:1(0.8 mg/mL:0.4 mg/mL)、1:1(0.6 mg/mL:0.6 mg/mL)、1:2(0.4 mg/mL:0.8 mg/mL)配制混用溶液,待测。在滤纸片上滴加5 μL待测液,风干后于28℃倒置培养2 d,并用十字交叉法测量抑菌圈直径。每个处理3次重复。

1.2.4 生物碱对*Xcc*的毒力测定

分别取适量SAN、CHE生物碱母液(2.0 mg/mL),与*Xcc*菌液混合后,再用LB液体培养基稀释,使*Xcc*菌液终浓度为 10^6 CFU/mL,生物碱质量浓度分别为0.5、1.0、2.0、4.0、8.0、16.0、32.0 μg/mL。将上述溶液置于2 mL离心管中,每管体积为500 μL。于28℃、避光、180 r/min振荡培养,并于第0、8、16、24、28、32、36、40、44 h各取200 μL菌悬液至96孔酶标板中,测定 OD_{600} 并绘制生长曲线。以培养32 h后无细菌生长的最低生物碱浓度为最小抑菌浓度(MIC),并以32 h的测定数据计算半数抑制浓度(IC₅₀)。每处理设3次重复。

1.2.5 *Xcc*的扫描电镜观察

取*Xcc*菌悬液(OD_{600} 为0.6,菌液浓度为 10^9 CFU/mL),经7 000 r/min离心1 min去除培养基,用PBS缓冲液(pH=7.2)洗涤3次,分别加入SAN与CHE母液至终浓度为1×MIC(SAN为4 μg/mL、CHE为8 μg/mL);阴性对照加无菌水,阳性对照加入20%噻森铜悬浮剂(SST),使其终浓度为25 μL/mL;28℃、150 r/min振荡培养4 h,3 000 r/min离心10 min收集菌体,去上清液后加入适量2.5%戊二醛溶液,4℃固定过夜。PBS洗涤3次后梯度脱水,依次用30%、50%、70%、85%、95%乙醇脱水静置15 min,最后用100%乙醇脱水2

次(每次20 min)。菌体经-20、-40、-80 °C梯度冷冻(各12 h)后,转移至冷冻干燥仪中,于-80 °C冻干12 h,制得样品,密封保存。观察时将菌体固定于导电胶带,喷镀10 nm厚金膜,之后将其置于样品室,设置加速电压20 kV,工作距离8~10 mm,放大倍数为5 000~20 000倍,采集*Xcc*菌体表面形貌图像。

1.2.6 生物碱对柑橘溃疡病的防效试验

分别取2.0 mg/mL SAN、CHE抑菌母液,用无菌水梯度稀释至50、40、30、20、10 µg/mL,并配制混用药液SAN:CHE(30 µg/mL:15 µg/mL),最后,向药液中添加0.2 µL/mL的Silwet L-77表面活性剂。选用甜橙完全展开但尚未转为深绿色的叶片。试验设置2种处理模式。治疗模式(先接菌后喷药):先从叶背注射接种 10^5 CFU/mL *Xcc*,1 d后均匀喷施3次药液;预防模式(先喷药后接菌):先均匀喷施3次生物碱溶液,1 d后从叶背注射接种 10^5 CFU/mL *Xcc*菌液。2种模式下,叶片接种*Xcc*后,均在温室培养5 d,每个处理取3片叶,用直径6 mm打孔器在非注射部位取4个圆片,加500 µL无菌水和3颗灭菌钢珠研磨。将原液浓度记为 10^0 ,用

无菌水梯度稀释至 10^{-1} 、 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 后,分别取 10^{-2} 、 10^{-3} 、 10^{-4} 稀释液各5 µL,点接于LB平板,每个梯度重复3次。于28 °C条件下培养36 h后,计算单位叶面积上的*Xcc*菌落数量。

2 结果与分析

2.1 博落回粗提取物对*Xcc*的抑制效果及生物碱含量测定结果

博落回成熟果荚、叶片、根部粗提取物对*Xcc*的抑菌效果如图1所示。由图1可见:添加5 µL果荚粗提取物的平板出现明显抑菌圈,直径为14.13 mm(图1(a)),而叶片、根部粗提取物平板未出现抑菌圈(图1(b)~图1(d))。以SAN、CHE、ALL、PRO标准品建立HPLC定量分析方法,结果(表1)显示,各成分在5.0~500.0 µg/mL范围内线性关系良好。利用该方法对博落回不同组织粗提取物中的生物碱含量进行测定。结果(图1(e))显示,果荚粗提取物中SAN含量为375.05 µg/mL,显著高于叶片粗提取物的(106.99 µg/mL)和根部粗提取物的(24.21 µg/mL),亦显著高于果荚中其他生物碱含量,据此推测SAN可能为抑制*Xcc*的主要活性成分。

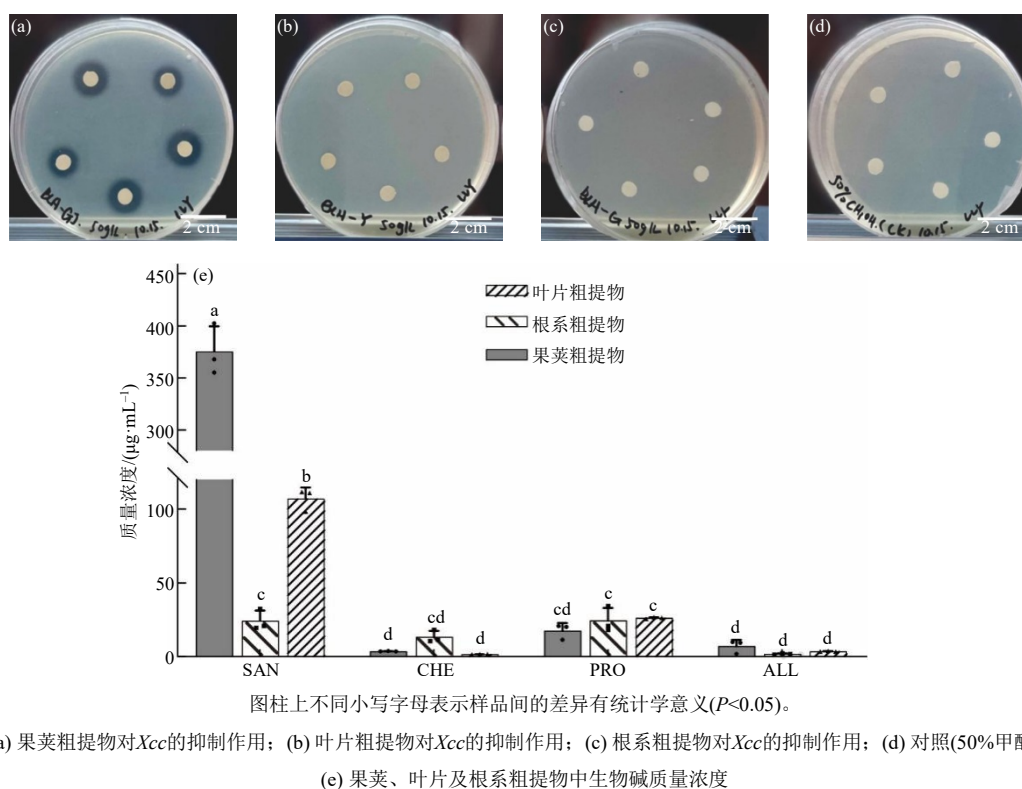


图1 博落回粗提取物对*Xcc*的抑制效应及不同组织中生物碱质量浓度
Fig. 1 Inhibitory effect of crude extracts from *Macleaya cordata* against *Xcc* and alkaloid mass concentrations in different tissues

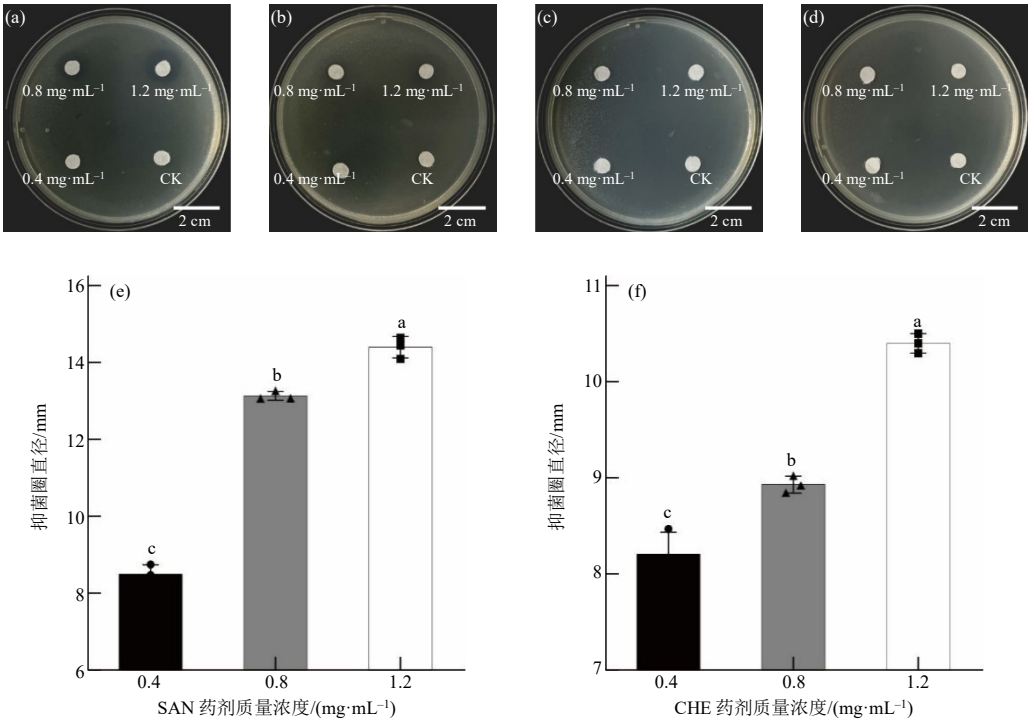
表1 4种生物碱标准品的回归方程

Table 1 Regression equations for four alkaloid reference standards			
标准品	线性范围/($\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$)	回归方程	相关系数 R^2
SAN	5.0~500.0	$Y=0.016\ 17X-0.039\ 87$	0.999\ 99
CHE	5.0~500.0	$Y=0.017\ 02X-0.009\ 48$	0.999\ 93
PRO	5.0~500.0	$Y=0.022\ 81X-0.025\ 29$	0.999\ 23
ALL	5.0~500.0	$Y=0.036\ 87X-0.016\ 41$	0.999\ 97

注：Y为峰面积；X为代谢物质量浓度。

为比较4种生物碱的抑菌效果，参照果荚粗提物中SAN的质量浓度(近400 $\mu\text{g/mL}$)，将SAN、CHE、PRO、ALL的溶液质量浓度分别设置为0.4、

0.8、1.2 mg/mL ，测定其对*Xcc*的抑菌效果。结果(图2)显示，当质量浓度为0.4 mg/mL 时，SAN与CHE对*Xcc*有抑制效果，其抑菌圈直径分别为8.47 mm与8.23 mm，而PRO与ALL无抑菌效果(图2(a)~图2(d))。当质量浓度为0.8、1.2 mg/mL 时，SAN的抑菌圈直径增至13.02、14.45 mm；CHE的抑菌圈直径增至8.89、10.30 mm(图2(e)~图2(f))。以上结果表明，SAN与CHE对*Xcc*有显著抑菌作用，且存在剂量依赖性。



图柱上不同小写字母表示处理间的差异有统计学意义($P<0.05$)。

(a) SAN对柑橘溃疡病菌(*Xcc*)的抑制效果；(b) CHE对*Xcc*的抑制效果；(c) PRO对*Xcc*的抑制效果；(d) ALL对*Xcc*的抑制效果；
(e) 不同质量浓度下SAN与CHE对*Xcc*的抑菌圈直径；(f) 不同质量浓度下CHE对*Xcc*的抑菌圈直径

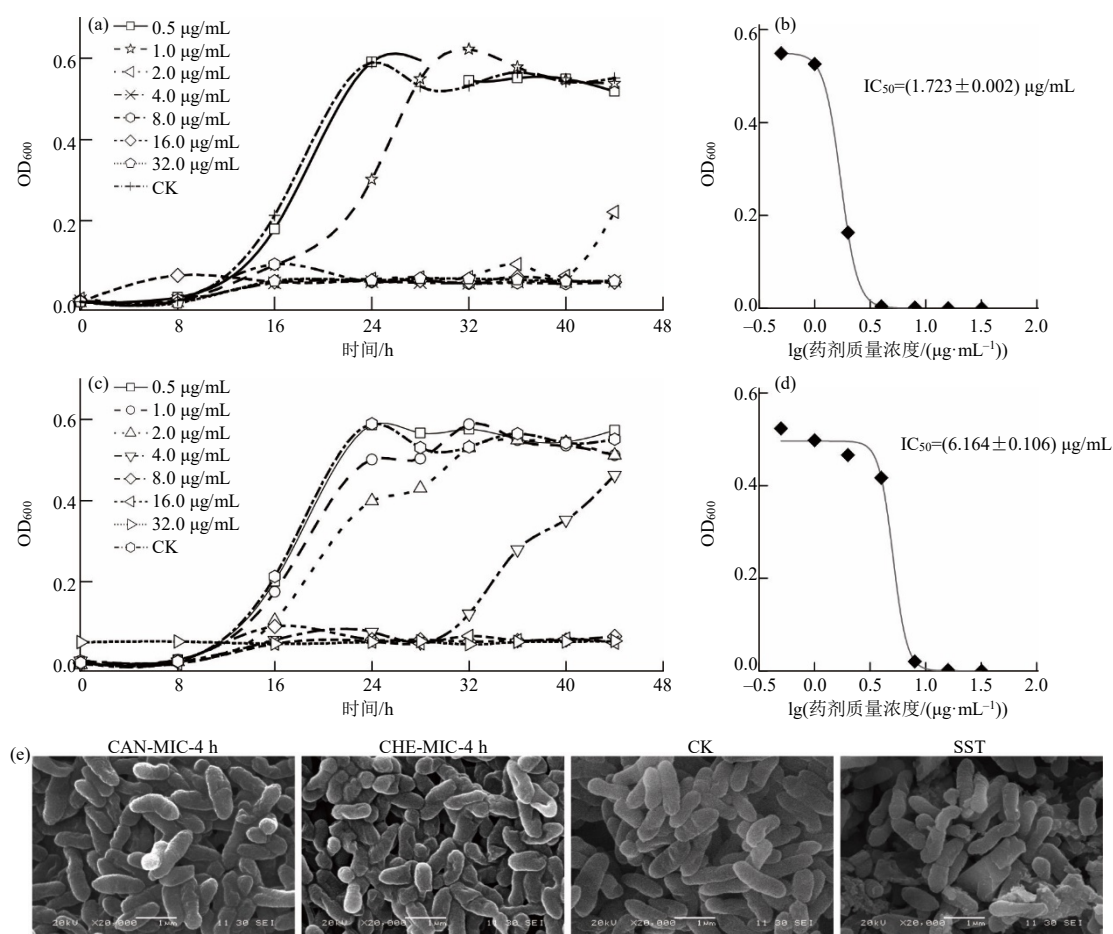
图2 4种生物碱单体对*Xcc*的抑制效应

Fig. 2 Inhibitory effect of four alkaloids on *Xcc*

2.2 SAN和CHE对*Xcc*的毒力测定结果

由图3可见：SAN与CHE的最小抑菌浓度1×MIC分别为4 $\mu\text{g/mL}$ (图3(a))和8 $\mu\text{g/mL}$ (图3(c))，对*Xcc*的半数抑制浓度(IC_{50})分别为(1.723±0.002) $\mu\text{g/mL}$ (图3(b))和(6.164±0.106) $\mu\text{g/mL}$ (图3(d))，显著低于阳性对照的 IC_{50} 。当SAN质量浓度为1.0~2.0 $\mu\text{g/mL}$ 、CHE质量浓度为1.0~4.0 $\mu\text{g/mL}$ 时，二者均可部分抑制*Xcc*的生长；当SAN质量浓度超过4.0 $\mu\text{g/mL}$ 、CHE的质量浓度超过8.0 $\mu\text{g/mL}$ 时，*Xcc*的生长被完

全抑制，表明这2种生物碱在极低剂量下对*Xcc*具有强效抑制作用。将SAN与CHE分别以1×MIC浓度与*Xcc*共培养4 h后，扫描电镜观察结果(图3(e))显示，SAN处理组中多数*Xcc*菌体整体发生弯折，形态畸形并伴随局部表面凹陷；CHE处理组中*Xcc*菌体细胞膜表面凹凸不平，部分菌体有凹陷特征；阳性对照(SST)组的畸形菌体数量明显比SAN与CHE处理组的少；而CK(清水)组的菌体大多数圆润饱满，形态正常(图3(e))。该结果进一步证实SAN和CHE低剂量处理对*Xcc*具有抑制作用。



阳性对照(SST)的 IC_{50} 为433.0 $\mu\text{g/mL}$ 。

(a) SAN与 Xcc 的共培养生长曲线; (b) SAN的半数抑制浓度(IC_{50})曲线; (c) CHE与 Xcc 的共培养生长曲线; (d) CHE的半数抑制浓度(IC_{50})曲线;

(e) 经SAN、CHE、CK(清水)和SST处理的 Xcc 扫描电镜(SEM)照片(放大20 000倍)。

图3 SAN与CHE对柑橘溃疡病菌的毒性评价及其菌体形态

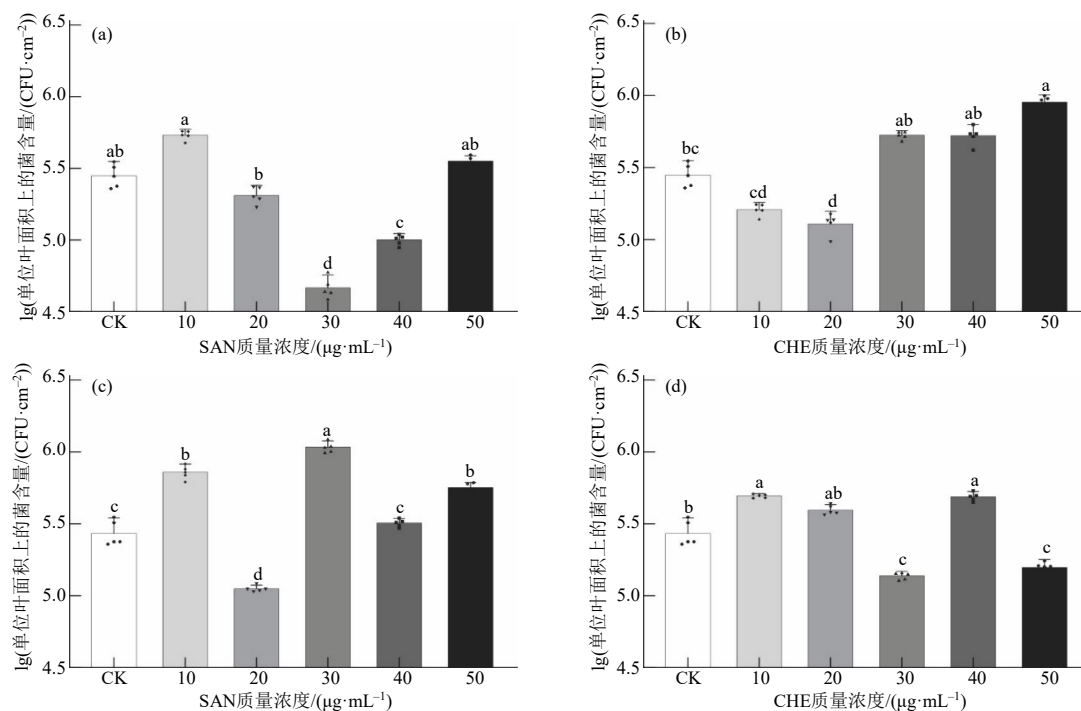
Fig. 3 Toxicity assessment and bacterial morphology of SAN and CHE on *Xcc*

2.3 SAN、CHE处理下 Xcc 活体接种试验结果

由图4可见: 在治疗模式(先接菌后喷药)下, SAN药剂在10~30 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓度范围内表现出浓度依赖性抑制效果, 30 $\mu\text{g/mL}$ 时防效最佳, 叶面积上的菌含量显著低于其他处理组的(图4(a)), 而CHE的最佳治疗质量浓度为10~20 $\mu\text{g/mL}$, 超出该范围时抑菌率显著下降(图4(b))。在预防模式(先喷药后接菌)下, SAN在20 $\mu\text{g/mL}$ 时即表现出预防效果, 单位叶面积上的菌含量显著低于其他处理组的(图4(c)); CHE则在30 $\mu\text{g/mL}$ 与50 $\mu\text{g/mL}$ 质量浓

度时有预防效果, 该质量浓度下单位叶面积上的菌含量显著低于其他处理的。SAN与CHE的剂量-效应关系呈现非线性特征, 表明2类药剂的作用机制可能因病菌侵染阶段不同而存在差异。

试验结果表明, 针对已显症的溃疡病植株, 施用SAN与CHE等生防药剂进行治疗能够在一定程度上抑制溃疡病菌的增殖和菌体迁移, 并降低病株的侵染活性; 而在预防模式下, 当前仍需要进一步研究和优化药剂的使用方法和剂量, 以提高预防效果。



图柱上不同小写字母表示处理间的差异有统计学意义($P < 0.05$); CK为清水对照。

(a) 接种柑橘溃疡病菌后施用SAN; (b) 接种柑橘溃疡病菌后施用CHE; (c) 接种柑橘溃疡病菌前施用SAN; (d) 接种柑橘溃疡病菌前施用CHE

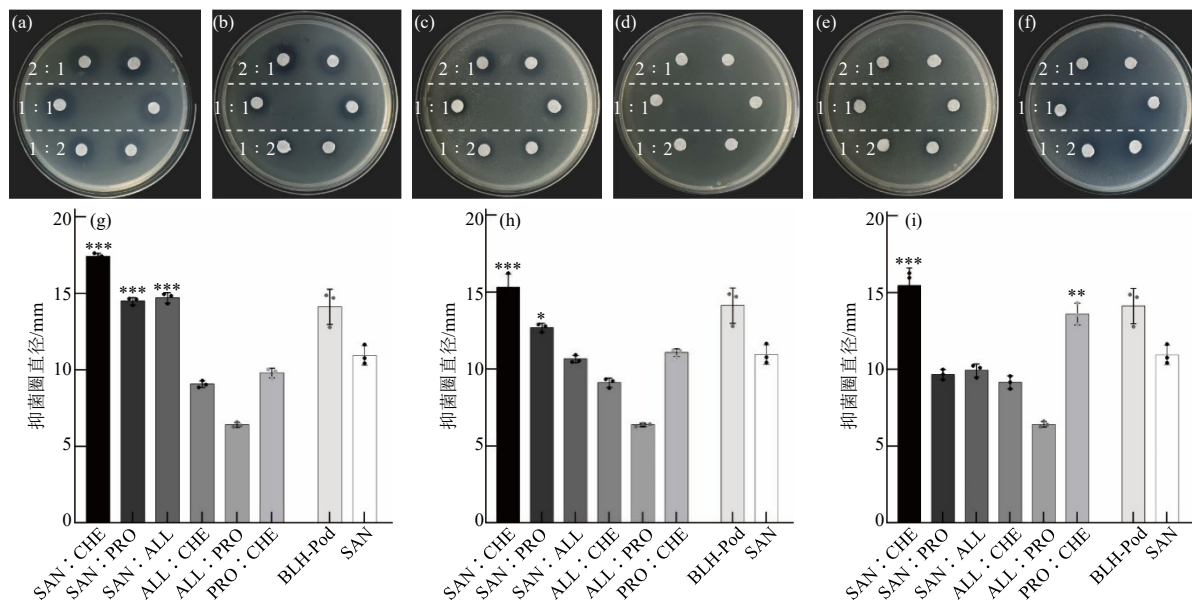
图4 SAN和CHE对柑橘溃疡病菌的预防和治疗效果

Fig. 4 The preventive and therapeutic effects of SAN and CHE on *Xcc*

2.4 不同质量浓度生物碱对比对Xcc的抑制作用

由图5可见: 含有SAN的组合的抑菌圈直径明显大于不含SAN的其他组合的抑菌圈直径, SAN: CHE组合在2: 1质量浓度配比时抑菌圈直径最大,

达到17.40 mm, 且其抑菌效果相较于博落回果荚粗提物及同质量浓度下SAN单剂抑菌效果更好。以上结果表明, SAN与CHE为最优组合, 最佳质量浓度配比为2: 1, 其协同抑菌效果相较于单剂更好, 提示二者之间可能存在协同作用。



***、**和*分别表示处理间的差异有统计学意义($P < 0.001$ 、 $P < 0.01$ 、 $P < 0.05$)。

(a) SAN、CHE混合; (b) SAN、PRO混合; (c) SAN、ALL混合; (d) ALL、PRO混合; (e) ALL、CHE混合; (f) PRO、CHE混合;

(g) 在2: 1质量浓度配比下各混合生物碱的抑菌圈直径; (h) 在1: 1质量浓度配比下各混合生物碱的抑菌圈直径;

(i) 在1: 2质量浓度配比下各混合生物碱的抑菌圈直径

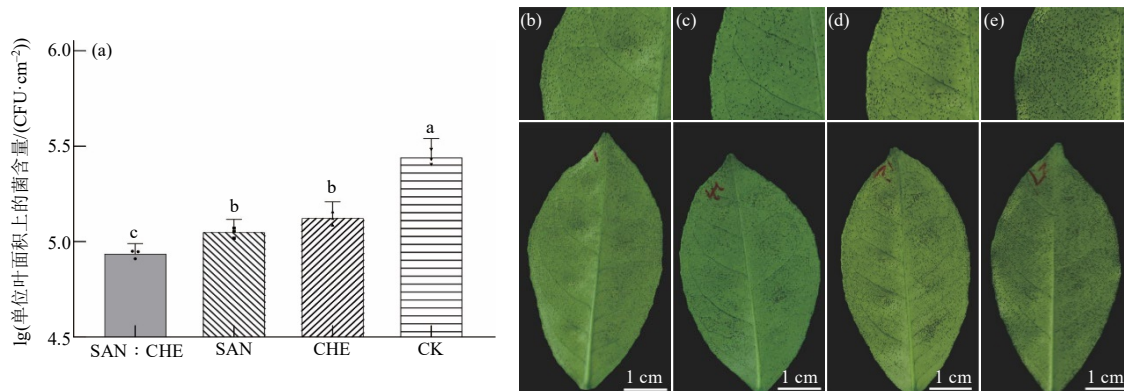
图5 不同质量浓度生物碱配比下的抑制圈直径

Fig. 5 Zone inhibition diameter of alkaloids at different mass concentration mix ratios

2.5 单生物碱与不同质量浓度配比生物碱对Xcc的活体治疗试验结果

由图6可见：单生物碱SAN(30 $\mu\text{g/mL}$)、CHE(20 $\mu\text{g/mL}$)药剂与混合药剂SAN : CHE(质量浓度配比为2 : 1, 即30 $\mu\text{g/mL}$: 15 $\mu\text{g/mL}$)对Xcc均有

抑制效果, 且混合药剂处理组的抑制效果显著优于SAN与CHE单剂的(图6(a))。病理表型上, 各处理组叶片水渍斑密度明显比CK叶片的低, 其中, 混合药剂处理组叶片的单个水渍较小且颜色较浅(图6(b))。以上结果表明, SAN : CHE(质量浓度配比为2 : 1)组合为最有效的药剂组合。



图柱上不同小写字母表示处理间的差异有统计学意义($P < 0.05$)。

(a) 接种Xcc 1 d后, 再分别施用SAN : CHE(30 $\mu\text{g/mL}$: 15 $\mu\text{g/mL}$)、SAN单剂(30 $\mu\text{g/mL}$)、CHE单剂(20 $\mu\text{g/mL}$)及对照(清水); (b) 接种Xcc 1 d后, 再施用SAN : CHE(30 $\mu\text{g/mL}$: 15 $\mu\text{g/mL}$)处理7 d时的叶片症状; (c) 接种Xcc 1 d后, 再施用SAN单剂(30 $\mu\text{g/mL}$)处理7 d时的叶片症状; (d) 接种Xcc 1 d后, 再施用CHE单剂(20 $\mu\text{g/mL}$)处理7 d时的叶片症状; (e) 接种Xcc 1 d后, 再施用清水处理7 d时的叶片症状

图6 SAN与CHE单剂及复配最优浓度对Xcc的抑菌活性

Fig. 6 Inhibitory activity of SAN, CHE and combination against Xcc at optimal concentrations

3 结论与讨论

柑橘溃疡病是全球性检疫病害, 目前主要依赖铜制剂等化学药剂防控, 但长期施用化学药剂不仅易诱导病原菌产生抗药性, 还会造成环境污染^[3]。相较于存在耐药性风险和生态毒性的化学防控体系, 植物源杀菌剂因具有环境友好、低残留等优势, 逐渐成为绿色防控领域的研究热点。已有研究表明, 植物提取物对小麦茎基腐病^[17]、向日葵锈病^[18]、苹果霉心病^[19]等多种植物病害具有显著防效, 且在柑橘溃疡病防治中同样展现出良好的应用潜力。

植物来源的生物碱已被证实对多种病原体具有抑制潜力, 因其高效、低毒的特性, 已成为绿色杀菌剂研发的热点^[20-21]。有研究表明, 四氢- β -咔啉(THC)生物碱对Xoo(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*)、Xac(*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*)这2种柑橘溃疡病菌均有抑制效果, 半数抑制浓度(IC₅₀)分别为2.25 $\mu\text{g/mL}$ 与2.06 $\mu\text{g/mL}$ ^[22]。本研究中, SAN与CHE对Xcc的IC₅₀分别为1.723 $\mu\text{g/mL}$ 与

6.164 $\mu\text{g/mL}$, 其与THC的抑菌质量浓度范围相近, 表明二者对黄单胞菌属病原菌均具有较强抑制效果。本研究结果表明, SAN与CHE对Xcc具有明显的抑菌效果, 经二者处理后的Xcc菌体细胞膜呈现大幅度凹陷, 提示其抑菌机制可能与破坏菌体细胞膜完整性有关。SAN与CHE同属苜基异喹啉类生物碱, 其分子结构中含有疏水性苜基基团, 能够耗散细菌的质子动力势并破坏细胞膜的完整性^[23], 常被用于抗菌、抗微生物和抗炎活性研究^[24]。而PRO与ALL属于普通异喹啉类, 因缺乏疏水结构域, 其膜靶向性和抑菌活性显著降低^[25], 这可能是二者对Xcc未表现出明显抑菌效果的原因。

此外, SAN与CHE联用对Xcc的抑制效果显著高于单一使用时的抑制效果, 表明二者可能通过某种协同机制增强抑菌效果。植物提取物的联合使用可以通过协同作用或同时作用于多个靶点, 减少毒副作用并提高药理活性^[26]。类似协同现象在其他生物碱联用体系中也有报道: 例如, 小檗碱和阿奇霉素联用可通过影响菌生物膜形成从而

抑制铜绿假单胞菌^[27]；十氢茛类生物碱与硫酸庆大霉素联用可有效提升对耐甲氧西林金黄色葡萄球菌的抗菌效果^[28]。后续研究可从分子互动与代谢调控层面入手，结合双组分物理化学特性解析及多组学整合分析，阐明SAN与CHE协同增效的级联作用机制，为开发低耐药风险的抗菌组合策略提供理论依据。此外，近年来各类新型农药助剂不断涌现。纳米载体^[29]、表面活性剂^[30]和生物制剂^[31]等与生物碱复配使用，可提升药剂利用率与环境安全性，同时减少农药用量、降低对非靶标生物的毒性。未来，可针对博落回生物碱开发新型助剂，进一步提高其利用效率。

参考文献:

- [1] SHAHBAZ E, ALI M, SHAFIQ M, et al. *Citrus* canker pathogen, its mechanism of infection, eradication, and impacts[J]. *Plants*, 2022, 12(1): 123.
- [2] NAQVI S A H, WANG J, MALIK M T, et al. *Citrus* canker: distribution, taxonomy, epidemiology, disease cycle, pathogen biology, detection, and management: a critical review and future research agenda[J]. *Agronomy*, 2022, 12(5): 1075.
- [3] BEHLAU F, GOCHEZ A M, JONES J B. Diversity and copper resistance of *Xanthomonas* affecting citrus[J]. *Tropical Plant Pathology*, 2020, 45(3): 200–212.
- [4] PINTO L, TAPIA-RODRÍGUEZ M R, BARUZZI F, et al. Plant antimicrobials for food quality and safety: recent views and future challenges[J]. *Foods*, 2023, 12(12): 2315.
- [5] 廖石榴, 尹维, 廖晓兰, 等. 苋菜乙酸乙酯提取物对柑橘溃疡病菌的抑制及机理研究[J]. *湖南农业大学学报(自然科学版)*, 2017, 43(5): 544–550.
- [6] LEKSOMBOON C, THAVEECHAI N, KOSITRATANA W. Potential of plant extracts for controlling citrus canker of lime [J]. *Kasetsart Journal(Natural Sciences)*, 2001, 35: 392–396.
- [7] DIMITROVA L, MILEVA M, GEORGIEVA A, et al. Redox-modulating capacity and effect of ethyl acetate roots and aerial parts extracts from *Geum urbanum* L. on the phenotype inhibition of the *Pseudomonas aeruginosa* Las/Rhl quorum sensing system[J]. *Plants*, 2025, 14(2): 213.
- [8] THAWABTEH A, JUMA S, BADER M, et al. The biological activity of natural alkaloids against herbivores, cancerous cells and pathogens[J]. *Toxins*, 2019, 11(11): 656.
- [9] HUANG W Q, WANG Y X, TIAN W S, et al. Biosynthesis investigations of terpenoid, alkaloid, and flavonoid antimicrobial agents derived from medicinal plants[J]. *Antibiotics*, 2022, 11(10): 1380.
- [10] TANG M, LI C H, ZHANG C, et al. SWATH-MS-based proteomics reveals the regulatory metabolism of Amaryllidaceae alkaloids in three *Lycoris* species[J]. *International Journal of Molecular Sciences*, 2023, 24(5): 4495.
- [11] LIN L, LIU Y C, HUANG J L, et al. Medicinal plants of the genus *Macleaya*(*Macleaya cordata*, *Macleaya microcarpa*): a review of their phytochemistry, pharmacology, and toxicology[J]. *Phytotherapy Research*, 2018, 32(1): 19–48.
- [12] 白靖文, 付颖, 李理. 植物源农药博落回研究进展[J]. *江苏农业科学*, 2011, 39(3): 139–140, 209.
- [13] 胡美忠, 郁建平, 郁建生. 博落回生物碱对烟草黑胫病的抑制作用[J]. *黑龙江畜牧兽医*, 2010(11): 137–139.
- [14] WEI Q H, ZHAO M, LI X Y. Extraction of chelerythrine and its effects on pathogenic fungus spore germination[J]. *Pharmacognosy Magazine*, 2017, 13(52): 600–606.
- [15] 李春梅, 郁建平. 血根碱对菜青虫的生物活性[J]. *安徽农业科学*, 2012, 40(31): 15245–15246.
- [16] 李洋, 段鹏, 金旻琦. 新型博落回植物源农药: 硫酸血根碱[J]. *世界农药*, 2022, 44(6): 21–24.
- [17] 周锋, 罗奥迪, 韩奥辉, 等. 8种植物源杀菌剂对假禾谷镰刀菌的抑菌活性及对小麦茎基腐病的防效探究[J]. *麦类作物学报*, 2023, 43(12): 1629–1635.
- [18] 郑安可, 路妍, 黄家英, 等. 9种植物源杀菌剂对向日葵锈病的防效分析[J]. *中国油料作物学报*, 2023, 45(3): 623–628.
- [19] 房雅丽, 周瑶瑶, 贾晶晶, 等. 11种生物源杀菌剂对苹果主要病害病原菌的室内毒力测定[J]. *中国南方果树*, 2022, 51(3): 159–162.
- [20] ZHOU H, WANG D T, MA L, et al. Design, synthesis and antimicrobial activity evaluation of novel marinoquinoline derivatives against phytopathogenic bacteria[J]. *Pest Management Science*, 2025, 81(4): 2086–2100.
- [21] QU Q W, HUANG X Y, ZHU Z X, et al. Targeting membrane integrity and imidazoleglycerol-phosphate dehydratase: sanguinarine multifaceted approach against *Staphylococcus aureus* biofilms[J]. *Phytomedicine*,

- 2025, 138: 156428.
- [22] LIU H W, JI Q T, REN G G, et al. Antibacterial functions and proposed modes of action of novel 1, 2, 3, 4-tetrahydro- β -carboline derivatives that possess an attractive 1, 3-diaminopropan-2-ol pattern against rice bacterial blight, kiwifruit bacterial canker, and citrus bacterial canker[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2020, 11(10): 1380.
- [23] URME S R A, AHMED S F, IMRAN M A S, et al. Antimicrobial activity of tea and agarwood leaf extracts against multidrug-resistant microbes[J]. BioMed Research International, 2024, 2024: 5595575.
- [24] YANG X R, MIAO X L, DAI L X, et al. Isolation, biological activity, and synthesis of isoquinoline alkaloids[J]. Natural Product Reports, 2024, 41(11): 1652–1722.
- [25] SHANG X F, YANG C J, MORRIS-NATSCHKE S L, et al. Biologically active isoquinoline alkaloids covering 2014–2018[J]. Medicinal Research Reviews, 2020, 40(6): 2212–2289.
- [26] JEONG J Y, JUNG I G, YUM S H, et al. *In vitro* synergistic inhibitory effects of plant extract combinations on bacterial growth of methicillin-resistant *Staphylococcus aureus*[J]. Pharmaceuticals, 2023, 16(10): 1491.
- [27] ZHAO Z J, GUO M Y, XU X N, et al. *In vitro* synergistic inhibitory activity of natural alkaloid berberine combined with azithromycin against alginate production by *Pseudomonas aeruginosa* PAO1[J]. Oxidative Medicine and Cellular Longevity, 2022, 2022: 3858500.
- [28] WU K Y, YAO F H, REN X M, et al. Multi-target anti-MRSA mechanism and antibiotic synergistic effect of marine alkaloid ascomylactam A *in vitro* and *in vivo* against clinical MRSA strains[J]. Biochemical Pharmacology, 2025, 232: 116697.
- [29] MA C G, LI G, XU W W, et al. Recent advances in stimulus-responsive nanocarriers for pesticide delivery[J]. Journal of Agricultural and Food Chemistry, 2024, 72(16): 8906–8927.
- [30] BAO Z P, WU Y L, SONG R D, et al. The simple strategy to improve pesticide bioavailability and minimize environmental risk by effective and ecofriendly surfactants[J]. Science of the Total Environment, 2022, 851: 158169.
- [31] MAO Q Q, XU X Y, CAO S Y, et al. Bioactive compounds and bioactivities of ginger(*Zingiber officinale* Roscoe)[J]. Foods, 2019, 8(6): 185.

责任编辑: 伍锦花