[文章编号] 1003－4684(2026)02-0085-08

基于分子对接技术的天然产物源植物免疫激活剂的筛选

冯文博，刘 同，金 碟，夏雨辰，何湘瑶，胡 晴，司 娟，陈玉欣
（湖北工业大学生命科学与健康工程学院，湖北 武汉 430068）

[摘 要] 采用分子对接技术，从大宗中药材中筛选具有植物免疫激活活性的天然产物。从蛋白质数据库(PDB)中获取 Toll/interleukin-1 receptor-like protein(TIR)的 3D 结构，从中药系统药理学数据库 TCMSP 中获取多种大宗药材的主要化学成分，接着在 PubChem 数据库中获取这些化学成分作为小分子配体的 2D 结构，通过 AutoDock Vina 分子对接软件分析 TIR 与中药化学成分的结合能，初步筛选出潜在活性成分；随后采用带药平板法与离体叶片法进行活体验证。通过分子对接初步筛选出 47 种能与 TIR 结合的中药化学成分，且结合能较低；体外抗菌活性实验发现盐酸药根碱、防己诺林碱的体外直接抑菌率较低；离体叶片实验发现盐酸药根碱和防己诺林碱能提高植物对灰霉侵染的抵御能力。盐酸药根碱、防己诺林碱具有一定程度的免疫激活作用，可以作为潜在的植物免疫激活剂进行开发。

[关键词] 灰霉病；植物免疫激活剂；分子对接；盐酸药根碱；防己诺林碱
[中图分类号] S432.2 [文献标识码] A

灰霉病是由灰霉菌引发的最普遍、危害最严重的植物真菌病害之一[1]。灰霉菌可侵染 200 余种植物，导致作物减产 20%～30%，局部减产可达 70% 以上，甚至绝收[2]。针对灰霉病通常采取棚室消毒、合理轮作、栽培管理、品种选育和药剂防治等措施来减少发病率，其中以药剂防治为主。广泛采用的抗菌杀菌剂有腐霉利、甲基硫菌灵、异菌脲等，其缺陷非常明显：此类杀菌剂接触人体后可使皮肤、眼结膜和呼吸道受刺激而引起结膜炎和角膜炎，且炎症消退很慢。这些化学合成的抗菌杀菌剂不仅污染生态环境、严重危害人体健康，还会引起灰霉菌的抗药性，使农业病害防治变得更加困难[3]。

与传统杀菌抑菌剂相比，植物免疫激活剂[4-6]最大的优势在于它们自身并没有直接的杀菌活性，仅仅是通过激活植物自身免疫反应来对抗病原菌的侵染，过量使用也不会使病原菌产生抗药性，更不会对环境造成负担[7]。

现有的植物免疫激活剂包括人工合成来源和天然产物来源。其中天然产物源的植物免疫激活剂的数量十分有限，如虎杖的提取物等。更多的天然产物源植物免疫激活剂有待开发。本研究旨在通过分子对接等计算机辅助药物筛选技术，从大宗中药材中筛选出具有植物免疫激活活性的天然产物，为农作物病害防治提供新的策略。

1 材料与方法

1.1 材料

灰霉菌的标准菌株(*Botrytis cinerea* B05.10)；包菜(购于湖工社区生鲜市场)；玫瑰花、龟背竹(购于毛坦花木市场)；琼脂(分析纯，阿拉丁生化科技有限公司)；D-(＋)-葡萄糖(分析纯，阿拉丁生化科技有限公司)；防己诺林碱(货号：CFN99167-20mg，武汉中标科技有限公司)；盐酸药根碱(货号：CFN98108-20mg，武汉中标科技有限公司)。

1.2 仪器

去离子水制造仪(型号：UPT-1-10T，四川优普超纯科技有限公司)；电子分析天平(型号：ME104型，梅特勒-托利多仪器(上海)有限公司)；超净工作台(型号：SW-CJ-1D，深圳市源泰尔洁净室设备有限公司)；全自动新型生化培养箱(型号：ZSD-1270，上海智城分析仪器制造有限公司)；立式灭菌器(型号：LHS-12B，上海力辰邦西仪器科技有限公司)。

[收稿日期] 2024－09－21
[基金项目] 国家自然科学基金青年项目(82104536)；湖北省大学生创新创业训练计划项目(S202210500070)
[第一作者] 冯文博(2002－)，男，湖北武汉人，湖北工业大学硕士研究生，研究方向为天然产物药理学。
[通信作者] 陈玉欣(1986－)，女，理学博士，湖北工业大学讲师，研究方向为民族药药理学、药动学。

1.3 方法

1.3.1 分子对接筛选 从程序数据库[8](PDB,http://www.rcsb.org/pdb/)中获取 TIR(PDB ID:3JRN)的 3D 结构并下载对应的格式文件。从中药系统药理学数据库 TCMSP(https://www.tcmsp-e.com/tcmsp.php)获取甘草、人参、黄芩、黄芪、党参、黄连、厚朴等大宗药材的主要化学成分,在 PubChem(https://pubchem.ncbi.nlm.nih.gov/)数据库获取化学成分的小分子配体的 2D 结构并下载对应的格式文件。化学成分与 TIR 蛋白的分子对接,采用 AutoDock 软件对 TIR 蛋白 3D 结构进行去水、去除原配体处理,同时加极性氢。最后通过 AutoDock Vina 和 Python 脚本进行可视化[9],GridBox 的大小和中心信息为:53.192×44.72×36.12,中心坐标 51.505,41.712,18.447。本研究选取结合能≤−6.8 kcal/mol 作为化合物与靶点有效结合的筛选依据[10]。

1.3.2 体外抗菌实验 马铃薯葡萄糖琼脂(PDA)培养基的制备:新鲜马铃薯洗净去皮,称取 200 g 用刀切成小块,加适量水煮至微沸状态(保持该状态煮沸 20～30 min),然后用纱布过滤,再加入 18 g 琼脂,继续加热,边加热边搅拌混匀,待琼脂溶解完后,加入葡萄糖 20 g,搅拌均匀,稍冷却后再补加水分至 1000 mL,分装锥形瓶,加塞、包扎,在高压灭菌锅 121 ℃灭菌 20 min 后取出,冷却后贮存备用。

将灰霉菌的标准菌株接种至 PDA 培养基上并在 28℃恒温培养 72 h。用打孔器切取直径 5mm 的菌丝圆片,贴到含药物处理或不含药物处理(对照)的 PDA 平板中央,供试药物用热的 PDA 培养基稀释至浓度分别为 6.25、12.5、25、100、200 μg/mL。所有实验操作在超净工作台中完成,每个质量浓度重复 3 次。所有平板都在 28℃条件下培养,每 24 h 用十字交叉法测量各菌落直径(mm),测量 3 次后进行数据统计并计算抑菌率。

$$\text{菌落生长直径}=\text{测量菌落的平均直径(mm)}-\text{菌饼直径(mm)} \quad (1)$$

$$\text{抑菌率}=\frac{\text{对照组菌落生长直径}-\text{实验组菌落生长直径}}{\text{对照组菌落生长直径}}\times 100\% \quad (2)$$

1.3.3 离体叶片实验 新鲜的包菜、玫瑰花和龟背竹叶片,用纯水清洗 3 遍并消毒(1%次氯酸钠溶液浸泡 5 min)。消毒后的叶片在超净工作台中用无菌水冲洗干净并晾干;将叶片裁剪至合适大小(玫瑰花不做裁剪处理)后分为实验组与模型组,将供试药物(100、200 μg/mL)40 μL 均匀施加在叶片上,4 h 后在超净工作台上用打孔器取灰霉菌落直径为 5 mm 的菌饼,以含生长菌丝的一面朝下置于叶片中央(模型组用无菌水施加叶片表面,其他处理相同),实验组和模型组分别重复 6 组,观察间隔时间因植物而异(包菜和龟背竹为 24 h,玫瑰花为12 h),用相机拍摄记录各组灰霉侵染情况。用 image J 1.52a 软件分析统计各个叶片受灰霉侵染的面积[11-12]。

1.3.4 数据处理 所得数据用 SPSS27.0 软件进行统计分析,测定数据以平均值±标准差表示。采用单因素方差分析并用 LSD 法进行多重比较,$P<0.05$表示组间比较差异显著,采用 GraphPad Prism 8 软件绘图。

2 结果

2.1 分子对接筛选结果

通过 AutoDock Vina 软件将中药化学成分与 TIR 蛋白的分子对接,从 34 种中药的 500 余种化学成分中,筛选出结合能 ≤ −6.8 kcal/mol 的 47 种单体化合物(表 1)。

表 1 中药化学成分与 TIR 分子对接的虚拟筛选结果

单体化合物	相对分子质量	结合能/(kcal·mol^{-1})	CAS 号	来源中药
20(R)-人参皂苷 Rg3	785.14	−7.2	38243-03-7	人参叶
20(R)-人参皂苷 Rh2	622.98	−8.1	112246-15-8	人参叶
20(S)-人参皂苷 Rg2	785.14	−7.5	52286-74-5	人参
20(S)-人参皂苷 Rh1	476.82	−7.1	63223-86-9	人参
20(S)-原人参二醇	460.82	−7.9	30636-90-9	人参
20(S)-原人参三醇	476.82	−7.5	34080-08-5	人参叶
川续断皂苷 VI	929.23	−8.2	39524-08-8	金银花
大豆皂苷 Bb	943.26	−7.4	51330-27-9	黄芪
三七皂苷 Fe	917.27	−8.1	88105-29-7	人参叶
人参皂苷 Mb	917.27	−8.1	88105-29-7	人参叶
银杏双黄酮	566.54	−8.2	481-46-9	白果
毛蕊异黄酮葡萄糖苷	446.44	−7.4	20633-67-4	黄芪

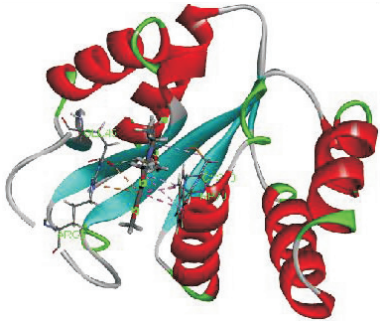
续表 1　中药化学成分与 TIR 分子对接的虚拟筛选结果

单体化合物	相对分子质量	结合能/(kcal·mol^{-1})	CAS 号	来源中药
山柰酚-3-O-芸香糖苷(烟花苷)	594.57	−7.3	17650-84-9	甘草
葛根素	416.41	−7.4	3681-99-0	葛根
色胺酮/吲哚并[2,1-b]喹唑啉-6,12-二酮	248.25	−7.2	13220-57-0	青黛
橙皮苷	610.62	−8.5	520-26-3	金钱草
大豆苷	416.41	−7.6	552-66-9	葛根
高车前苷	462.44	−7.6	17680-84-1	车前草
光甘草定	324.4	−7.3	59870-68-7	甘草
芒柄花苷	430.44	−7.2	486-62-4	甘草
蒙花苷	592.6	−8.5	480-36-4	甘草
水仙苷	624.6	−7.4	604-80-8	甘草
夏佛塔苷	596.54	−7.4	51938-32-0	甘草
野漆树苷	578.57	−8.2	17306-46-6	金银花
异靛蓝	262.28	−7.1	476-34-6	青黛
樱黄素	284.28	−7.1	552-59-0	甘草
贝母素乙	429.71	−7.2	18059-10-4	浙贝母
防己诺林碱	608.79	−7.1	436-77-1	防己
原阿片碱	353.4	−7.4	130-86-9	延胡索
豆甾醇	412.77	−7.5	83-48-7	枸杞子
蒲公英甾醇	426.8	−7.2	1059-14-9	旋覆花
蒲公英甾醇乙酸酯	468.84	−8.2	6426-43-3	旋覆花
羽扇豆醇	426.8	−7.0	545-47-1	马钱子
獐牙菜苷	358.38	−7.1	14215-86-2	獐牙菜
羽扇烯酮	424.78	−7.1	1617-70-5	葛根
高丽槐素	284.28	−7.1	19908-48-6	石韦
异绿原酸 A	516.49	−7.6	2450-53-5	苍耳子
大车前苷	640.65	−7.2	104777-68-6	车前草
毛蕊花糖苷	624.65	−7.1	61276-17-3	车前草
异绿原酸 C	515.48	−7.2	57378-72-0	金银花
沙苑子苷	624.60	−7.0	116183-66-5	黄芪
金丝桃苷	464.41	−6.8	482-36-0	柴胡
盐酸药根碱	374.84	−6.9	6681-15-8	黄连
石杉碱甲	242.32	−6.9	120786-18-7	蛇足石杉
表儿茶素	290.29	−7.0	35323-91-2	白蔹
麝香草酚	150.24	−6.9	89-83-8	柴胡

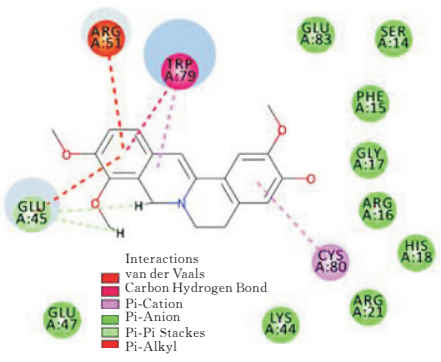
结合能为 3 次重复实验的平均值。

筛选出的单体化合物均有潜在与目标蛋白结合的能力。盐酸药根碱与 TIR 的对接相互作用见图 1,防己诺林碱见图 2。微孔板法[13]结果显示,两种生物碱 MIC 值较高,盐酸药根碱(JH)、防己诺林碱(FAN)的 MIC 值均为 200 μg/mL。结合 MIC 值大小与天然产物来源易得性,选取盐酸药根碱、防己诺林碱进行体外抑菌与离体叶片实验验证。

盐酸药根碱与 TIR 分子对接 3D 图显示配体分子(盐酸药根碱)被完全包含在活性口袋中,通过各种作用键与蛋白上的氨基酸残基相连;2D 图显示,“GLUA:83”等 9 个氨基酸残基与配体分子之间存在范德华力,“GLUA:45”与配体分子间形成氢键,“TRPA:79”与配体分子间存在 π-π 堆积作用力,“CYSA:80”与配体分子间存在 π-烷烃作用力,“ARGA:51”通过静电作用与配体分子相互作用(图 1)。



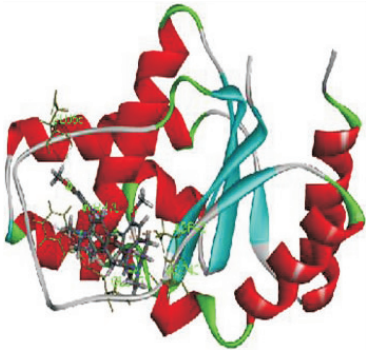
(a)3D 结合模型



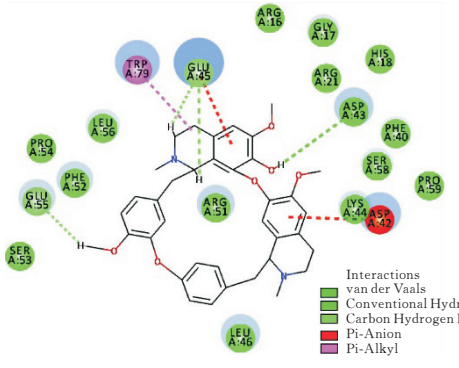
(b)2D 相互作用

图 1 盐酸药根碱与 TIR 分子对接

防己诺林碱与 TIR 分子对接 3D 图显示，配体分子(防己诺林碱)被完全包含在活性口袋中，通过各种作用键与蛋白上的氨基酸残基相连；图 2b 显示，“ARGA：16”等 14 种氨基酸残基与配体分子之间存在范德华力，“ASPA：43”“GLUA：45”和“GLUA：55”与配体分子间形成氢键，“TRPA：79”与配体分子间存在 π-烷烃作用力。“ASPA：42”通过静电作用与配体分子相互作用(图 2)。



(a)3D 结合模型

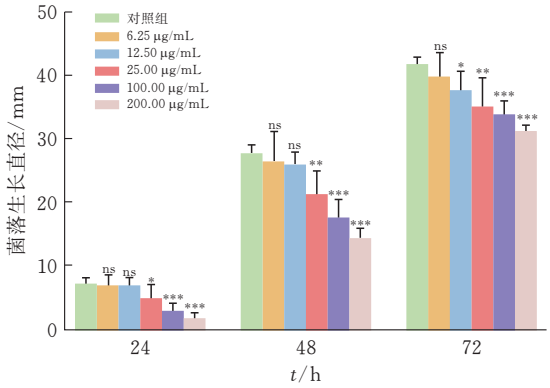


(b)2D 相互作用

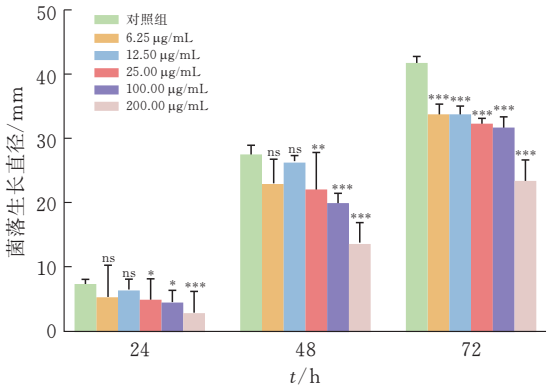
图 2 防己诺林碱与 TIR 分子对接

2.2 候选化合物体外抑菌实验结果

两种候选化合物的体外抑菌实验结果如图 3 所示，图 3a 为盐酸药根碱的抑菌结果。结果显示，在 24 h 药物浓度为 25μg/mL ($P<0.05$)、100 μg/mL ($P<0.001$)、200 μg/mL($P<0.001$)的实验组菌落生长直径与对照组相比有显著性差异；在 48 h 药物浓度为 25 μg/mL($P<0.01$)、100 μg/mL($P<0.001$)、200 μg/mL($P<0.001$)的实验组菌落生长直径与对照组相比有显著性差异；在 72 h 药物浓度为 12 μg/mL($P<0.05$) 、25 μg/mL($P<0.001$)、100 μg/mL($P<0.001$)、200 μg/mL($P<0.001$)的实验组菌落生长直径与对照组相比有显著性差异。



(a)盐酸药根碱



(a)防己诺林碱

*、**、*** 分别表示与对照组相比 $P<0.05$、$P<0.01$、$P<0.001$，ns 表示与对照组相比无差异性

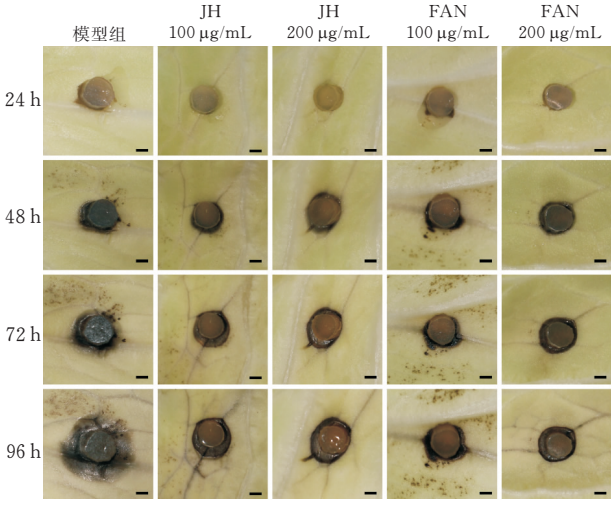
图 3 候选化合物对灰霉菌落生长直径的影响

图 4b 为供试药物防己诺林碱的抑菌结果。结果显示，在 24 h 药物浓度为 25 μg/mL($P<0.05$)、100 μg/mL($P<0.05$)、200 μg/mL($P<0.001$)的实验组菌落生长直径与对照组相比有显著性差异；在 48 h 药物浓度为 25 μg/mL($P<0.01$)、100 μg/mL($P<0.001$)、200 μg/mL($P<0.001$)的实验组菌落生长直径与对照组相比有显著性差异；在 72 h 药物浓度为 6.25 μg/mL($P<0.001$)、12.5 μg/mL($P<0.001$) 、25 μg/mL($P<0.001$)、100 μg/mL($P<0.001$)、200 μg/mL($P<0.001$)的实验组菌落生长直径与对照组相比有显著性差异。通过计算，浓度为 6.25、12.5、25、100、200 μg/mL 的盐酸药根碱在72 h的抑菌率分别为 4.68%、9.20%、15.42%、18.86%、25.15%；浓度为 6.25、12.5、25、100、200 μg/mL 的防己诺林碱在 72 h 的抑菌率分别为 18.31%、19.43%、22.10%、23.72%、43.32%。盐酸

药根碱、防己诺林碱的抑菌率随浓度升高而增加,但最高浓度 200 μg/mL 时抑菌率仍低于 50%,即两种候选化合物的体外抑菌效果较差。

2.3　候选化合物对植物抵御灰霉侵染的影响

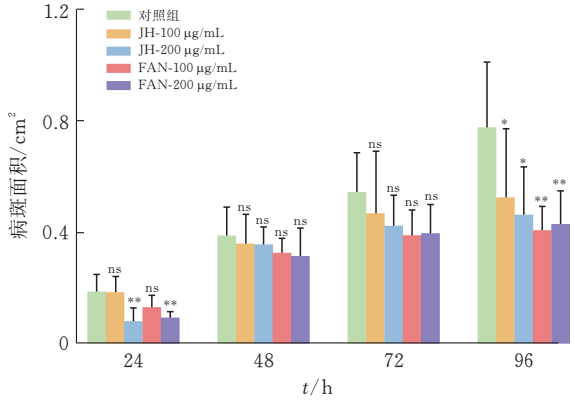
2.3.1　离体包菜叶片实验　图 4 结果显示,包菜叶片被灰霉侵染后会导致侵染部位变为黑色,在 24 h 实验组与模型组未观察到明显的灰霉侵染症状,随着时间推移,实验组与模型组均观察到灰霉侵染现象且实验组被侵染程度小于模型组;图 5 结果显示,在 24 h,JH(200 μg/mL)、FAN(200 μg/mL)组灰霉病斑面积与模型组相比具有显著性差异($P<0.01$、$P<0.01$);在 96 h,JH(100 μg/mL)、JH(200 μg/mL)组灰霉病斑面积与模型组相比具有显著性差异($P<0.05$、$P<0.05$);FAN(100 μg/mL)、FAN(200 μg/mL)组灰霉病斑面积与模型组相比具有显著性差异($P<0.01$、$P<0.01$)。综上,盐酸药根碱和防己诺林碱可显著降低包菜叶片的灰霉病斑面积,具有免疫激活作用。



模型组为无菌水处理,实验组为对应浓度化合物处理,时间为接种灰霉后的拍摄时间($n=6$),下同。

图 4　不同浓度盐酸药根碱(JH)与防己诺林碱(FAN)在 96 h 内对包菜叶片抵御灰霉侵染的影响(标尺:2 mm)

2.3.2　离体玫瑰花瓣实验　图 6 显示,玫瑰花瓣被灰霉侵染后会导致侵染部位变成橙黄色,在 24 h 时,实验组与模型组未观察到明显的灰霉侵染症状,且随着时间推移,实验组与模型组均观察到灰霉侵染现象,实验组被侵染程度小于模型组;图 7 结果显示,在 36 h 时,JH(200 μg/mL)、FAN(200 μg/mL)组灰霉病斑面积与模型组相比具有显著性差异($P<0.05$、$P<0.05$);在 48 h 时,JH(200 μg/mL)、FAN(200 μg/mL)组灰霉病斑面积与模型组相比具有显著性差异($P<0.05$、$P<0.05$)。综上,盐酸药根碱和防己诺林碱可显著降低玫瑰花瓣的灰霉病斑面积。



*、** 分别表示与模型组相比 $P<0.05$、$P<0.01$,ns 表示与模型组相比无差异

图 5　不同浓度的盐酸药根碱(JH)、防己诺林碱(FAN)对包菜叶片灰霉病斑面积的影响($n=6$)

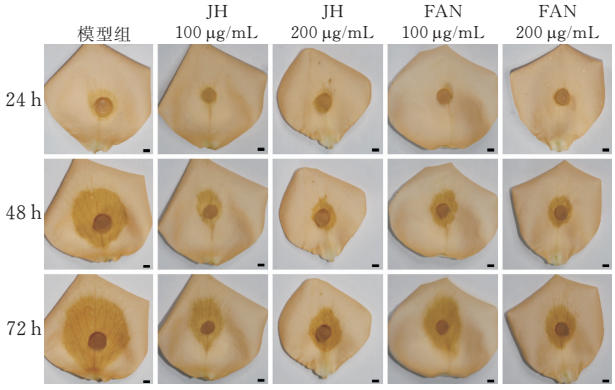
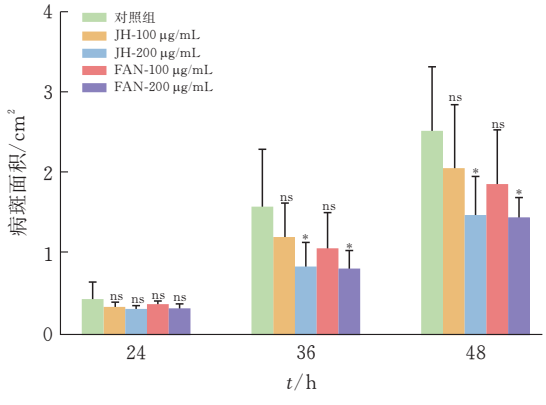


图 6　不同浓度盐酸药根碱(JH)和防己诺林碱(FAN)在 48 h 内对玫瑰花瓣抵御灰霉侵染的影响(标尺:2 mm)



* 表示与模型组相比 $P<0.05$,ns 表示与模型组相比无差异

图 7　不同浓度的盐酸药根碱(JH)、防己诺林碱(FAN)对玫瑰花瓣灰霉病斑面积的影响($n=6$)

2.3.3　离体龟背竹实验　图 8 显示,龟背竹被灰霉侵染后会导致侵染部位变成黑色,随着时间推移,实验组与模型组均观察到灰霉侵染现象且实验组被侵染程度小于模型组;图 9 结果显示,在 36 h 时,JH(200 μg/mL)、FAN(100 μg/mL)FAN(200 μg/mL)组灰霉病斑面积与模型组相比具有显著性差异($P<0.05$、$P<0.05$、$P<0.05$);在 60 h 时,JH(100 μg/mL)、JH(200 μg/mL)、FAN(200 μg/mL)组灰

霉病斑面积与模型组相比具有显著性差异($P<0.05$、$P<0.05$、$P<0.05$);在 84 h 时,FAN(200 μg/mL)组灰霉病斑面积与模型组相比具有显著性差异($P<0.05$)。这说明盐酸药根碱和防己诺林碱可显著降低龟背竹叶片的灰霉病斑面积。

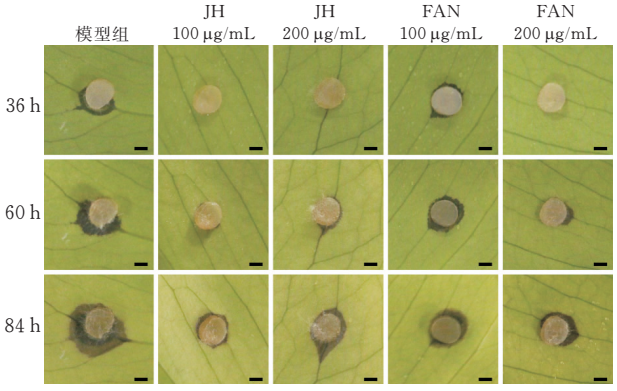
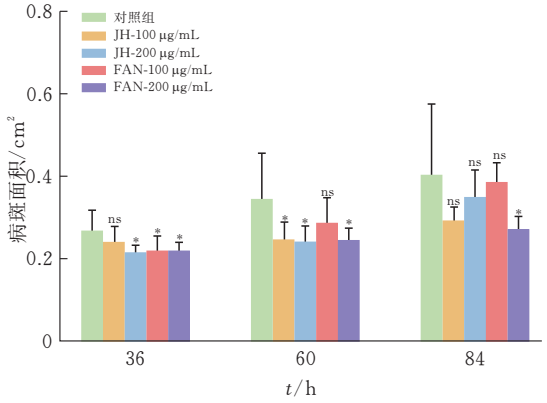


图 8 不同浓度盐酸药根碱(JH)与防己诺林碱(FAN)在 84 h 内对龟背竹抵御灰霉侵染的影响(标尺:2 mm)



* 表示与模型组相比 $P<0.05$,
ns 表示与模型组相比无差异

图 9 不同浓度盐酸药根碱(JH)与防己诺林碱(FAN)对龟背竹灰霉病斑面积的影响($n=6$)

3 讨论

天然、安全、无毒的植物免疫激活剂是当前研究的热点之一。已发现的植物免疫激活剂水杨酸衍生物、噻二唑和异噻唑衍生物、茉莉酸类似物以及 β-氨基丁酸等,均可以从拟南芥、大白菜、玉米、高粱和小麦等植物中提取,但目前天然产物源的植物免疫激活剂的数量和开发方法均十分有限。本研究的创新点在于:

1)以 TIR 为靶点,结合分子对接技术从大宗中药材中筛选天然产物源植物免疫激活剂,为筛选提供新靶点;

2)结合 MIC 值筛选抑菌活性弱的化合物,符合植物免疫激活剂的特征,提高了筛选准确性。

微生物病原体普遍含有一种称为病原体相关分子模式(PAMP)的分子结构,能被植物体上的模式识别受体(PRR)识别,从而引发各种先天免疫反应来抵御病原体[14]。而 TIR 是第一个被鉴定的 PRR,也是最充分表征且能识别范围广泛的 PAMP[15]。植物免疫激活剂能够被 TIR 特异性识别并结合,从而启动下游信号,诱导具有直接抗菌作用的活性氧和一氧化氮的生成,或诱导植物细胞壁的改变、内源抗菌物质的合成及 pathogenesis-related(PR)蛋白的产生来产生防御反应[15]。该过程被称为 PAMP 触发的免疫(PTI)。部分病原物可通过 III 型分泌系统将细菌效应子直接注入植物宿主细胞质,抑制 PTI 并引发效应子触发感病(ETS);植物可通过 R 基因产物直接或间接识别效应子,进而启动效应子触发免疫(ETI)。ETI 是加速且放大的 PTI 免疫反应。ETI 与 PTI 协同作用,共同抵御病原物侵染[17-19]。本研究使用半柔性对接方法。这种对接方法既考虑了柔性的影响,又保证了较高的计算效率,常用于处理大分子和小分子之间的对接,将 TIR 与中药小分子进行半柔性对接,分析两者的结合能,筛选具有免疫激活潜力的天然产物。

植物免疫激活剂本身无直接抗菌活性或抗菌活性很弱[20]。虽然体外抗菌活性实验结果显示,部分浓度的药物实验组与对照组相比具有显著性差异,但通过计算抑菌率,发现盐酸药根碱与防己诺林碱各浓度的抑菌率均未超过 50%,所以盐酸药根碱与防己诺林碱不具备良好的抑菌效果。

灰霉病在玫瑰、月季、葡萄、草莓、番茄、包菜、烟草等植物上都很常见,但不是所有易感灰霉病的植物均是良好的实验材料。本研究对玫瑰、茉莉花叶、薄荷叶、包菜、西葫芦、上海青、烟草叶、龟背竹等植物均进行了离体叶片实验,发现茉莉花叶、薄荷叶、上海青不易被灰霉侵染,西葫芦、烟草叶染病现象不明显,且离体的烟草叶不能在实验周期内保证活性,不适合作为离体叶片实验的实验材料;玫瑰花瓣、包菜、龟背竹因为易被灰霉侵染且侵染现象明显,实验周期内能保证活性而成为良好的实验材料。因灰霉对玫瑰花瓣、包菜、龟背竹的侵染速率不同,且三者离体存活时间存在差异,所以对三种植物选择了不同的观察周期与观察时间间隔。植物离体叶片实验结果表明,经过盐酸药根碱、防己诺林碱处理过的包菜叶片、玫瑰花瓣、龟背竹接种灰霉后,产生的病斑面积均小于模型组,说明两者在一定程度上能诱导植物产生较强的抵御灰霉侵染的能力。

本研究也存在一定的局限性,如未从分子水平验证化合物的免疫激活机制,检测植物体内 ROS、NO 含量,PR 基因表达量,仅通过病斑面积判断效果,证据链不完整;离体实验未转化为盆栽或大田实

验,实际应用价值未验证,后续研究将通过分子水平实验验证免疫激活机制,并通过活体盆栽验证化合物的实际应用价值。

[参 考 文 献]

[1] 贾爽爽.我国葡萄灰霉菌对主要杀菌剂的抗药突变型分布与多药抗性机制研究[D].北京:中国农业科学院,2020.

[2] 张晓柯.灰葡萄孢菌(*Botrytis cinerea*)对两种呼吸抑制剂烯肟菌胺和氟吡菌酰胺的抗性风险评估[D].南京:南京农业大学,2015.

[3] 纪军建,张小风,王文桥,等.番茄灰霉病防治研究进展[J].中国农学通报,2012,28(31):109-113.

[4] ZHOU M, WANG W. Recent Advances in Synthetic Chemical Inducers of Plant Immunity[J]. Front Plant Sci, 2018, 9: 1613.

[5] NARUSAKA M, ABE H, KOBAYASHI M, et al. A model system to screen for candidate plant activators using an immune-induction system in arabidopsis[J]. Plant Biotechnology, 2006, 23(03): 321-327.

[6] CZERWONIEC P, LEWANDOWSKI P, SMIGLAK M. Derivatives of Isonicotinic Acid as New Efficient Systemic Acquired Resistance (SAR) Inducers[J]. ChemistrySelect, 2020, 5(34): 10759-10764.

[7] 刘雪秋,张华茜,杜春梅.蛋白质类植物免疫诱抗剂[J].中国生物化学与分子生物学报,2024,40(11):1479-1492.

[8] ROBERTSON M J, VAN ZUNDERT G C P, BORRELLI K, et al. GemSpot: A Pipeline for Robust Modeling of Ligands into Cryo-EM Maps[J]. Structure, 2020, 28(06): 707-716.e703.

[9] TROTT O, OLSON A J. AutoDock Vina: Improving the speed and accuracy of docking with a new scoring function, efficient optimization, and multithreading[J]. Journal of Computational Chemistry, 2010, 31(02): 455-461.

[10] 孙阳龙,史秀禄,黄春元.基于网络药理学探究半夏-陈皮-茯苓治疗帕金森病的机制[J].中医临床研究,2023,15(34):8-14.

[11] 王胤,冯晓菁,付思蕊,等.3 种植物免疫诱抗剂对番茄灰霉病菌的抑制作用[J].蔬菜,2023(08):31-36.

[12] 韩彤,于姝莉,江英.灰霉菌侵染对红提葡萄表皮蜡质结构和化学组分的影响[J].食品安全质量检测学报,2024,15(03):248-255.

[13] 闻平,俞晓丽.刃天青微孔板显色法在抗念珠菌药敏实验中的应用[J].现代检验医学杂志,2009,24(04):67-68.

[14] ZIPFEL C. Early molecular events in PAMP-triggered immunity[J]. Curr Opin Plant Biol, 2009, 12(04): 414-420.

[15] KAWAI T, AKIRA S. Toll-like receptors and their crosstalk with other innate receptors in infection and immunity[J]. Immunity, 2011, 34(05): 637-650.

[16] NEWMAN M A, SUNDELIN T, NIELSEN J T, et al. MAMP (microbe-associated molecular pattern) triggered immunity in plants[J]. Front Plant Sci, 2013, 4: 139.

[17] YUAN M, NGOU B P M, DING P, et al. PTI-ETI crosstalk: an integrative view of plant immunity[J]. Curr Opin Plant Biol, 2021, 62: 102030.

[18] THOMMA B P, NÜRNBERGER T, JOOSTEN M H. Of PAMPs and effectors: the blurred PTI-ETI dichotomy[J]. Plant Cell, 2011, 23(01): 4-15.

[19] VAKHRUSHEVA O A, NEDOSPASOV S A. System of innate immunity in plants[J]. Mol Biol (Mosk), 2011, 45(01): 20-29.

[20] 张越,杨冬燕,张乃楼,等.植物抗病激活剂研究进展[J].中国科学基金,2020,34(04):519-528.

Filtering of Natural Products Plant Immune Activator Based on Molecular Docking Technology

FENG Wenbo, LIU Tong, JIN Die, XIA Yuchen, HE Xiangyao, HU Qing, SI Juan, CHEN Yuxin

(*School of Life and Health Sciences, Hubei Univ. of Tech., Wuhan* 430068, *China*)

Abstract: Based on molecular docking technology, this study aims to identify screen natural products with plant immune activation activity from bulk Chinese medicinal materials. To this end, Toll/Interleukin-1 Receptor-Like Protein (TIR) was obtained from the program database PDB, the main chemical components of various bulk medicinal materials was retrieved from the Traditional Chinese Medicine Systems Pharmacology Database (TCMSP), and then these chemical components as a 2D structure of the small molecular ligand was acquired in the Pubchem database. By analyzing the combination of TIR and Chinese medicine chemical composition through AutoDock Vina molecules, the drug-containing plate method and

the in vitro leaf method is used for in vivo verification.Results revealed that the chemical components of 47 Chinese medicines were preliminarily selected through molecular docking. It can be combined with TIR, and the binding energy can be low. In vitro antibacterial activity experiments found that the antibacterial rate of the Jatrorrhizine hydrochloride and Fangchinoline was low. Detached leaf experiments found that the Jatrorrhizine hydrochloride and Fangchinoline can improve the ability of plants to resist gray mold infection. The Jatrorrhizine hydrochloride and Fangchinoline have a certain degree of immune activation, and can be developed as potential plant immune activists.

Keywords: gray mold disease; plant immune activator; molecular docking; jatrorrhizine hydrochloride; fangchinoline

[责任编校：张 众]

(上接第 77 页)

Research on Video Satellite Target Tracking Method Based on Fast Iterative Optimization of Kalman Filter

XUE Weiyu, XIAO Yunlong

(*School of ComputerScience, Hubei Univ. of Tech., Wuhan* 430068, *China*)

Abstract: With the continuous advancement of video satellite technology, the use of video satellite imagery for target tracking has gradually become a new research focus. Video satellites can obtain real-time video data with a large coverage area and abundant geographical information through real-time observations of the Earth's surface. This provides a more convenient and detailed data source for target tracking. However, video imagery data often has lower resolution, and the presence of obstructions such as buildings and vegetation, as well as shadows, leads to lower accuracy in identification and tracking, posing challenges to target tracking. Therefore, this paper proposes a video satellite imagery target tracking method based on Kalman filter. First, the motion model fitting process is accelerated using mean insertion, simulating the motion trajectory of the target before it is occluded. Then, the least squares method is employed to solve the fitting curve of the observed values, reducing errors introduced by manual annotation and improving the accuracy of the updated predicted results. Finally, the intersection over union of predicted and observed values and the color histogram features of the target are utilized for inter-frame target matching and association, achieving target tracking in video satellite imagery. Experimental results demonstrate that the Kalman filter assisted by mean insertion not only addresses the continuous tracking of occluded targets but also achieves a tracking accuracy of 0.89, resolving the issue of low tracking accuracy due to slow convergence.

Keywords: video satellite; occlusion; Kalman filter; mean insertion; target tracking

[责任编校：闫 品]