

食用菌提取物对烟草花叶病毒的抑制作用*

马学萍,段云晖,孔宝华**,李 丹

(云南农业大学,云南省植物病理重点实验室,云南 昆明 650201)

摘要: 从钝化(提取物与病毒混合后接种)、预防(施用提取物 24 h 后接种病毒)、治疗(接种病毒 24 h 后施用提取物)3 个不同时期,在心叶烟上测试了 8 种食用菌乙醇提取物水溶液对烟草花叶病毒(Tobacco mosaic virus, TMV)的抑制作用。试验结果表明:8 种食用菌提取物在体外都具有钝化病毒(TMV)及抑制病毒(TMV)侵染的作用;除鸡油菌(*Cantharellus minor* Peck)外,其它 7 种食用菌提取物对 TMV 有不同程度的治疗作用。

关键词: 烟草花叶病毒;食用菌提取物;抑制作用

中图分类号: S 435.72 **文献标识码:** A **文章编号:** 1004-390X(2007)02-0296-03

Inhibition of Incidence of TMV by Extracts from the Fungus

MA Xue-ping, DUAN Yun-hui, KONG Bao-hua, LI Dan

(Key Laboratory for Plant Pathology of Yunnan Province, Y A U, Kunming 650201, China)

Abstract: The antiviral properties of ethanol extracts from eight kinds of fungi were studied against Tobacco mosaic virus. The extracts were applied to *Nicotiana glutinosa* at three different stages, i. e. at the time of inoculation(mixed with virus inoculation), pre-inoculation(24 h before virus inoculation), post-inoculation (24 h after virus inoculation). The results as follows: all eight extracts deactivated TMV in vitro and have inhibition of the infectivity of TMV, and seven extracts showed therapeutically activity in different degree on TMV except *Cantharellus minor* Peck.

Key words: Tobacco mosaic virus (TMV); fungi extracts; inhibition activity

植物病毒病害,在农业生产上造成严重的危害。据估计,全世界每年因植物病毒病害造成的损失就超过 150 亿美元,其中仅烟草花叶病毒病(Tobacco mosaic virus)的危害每年造成的损失就达 1 亿多美元^[1]。由于植物病毒对寄主的专性寄生性,加上植物缺乏完整的免疫代谢系统,使得植物病毒病的防治一直十分困难。早在 19 世纪 70 年代,人们就发现多种担子菌子实体、食用菌深层发酵液和固体培养物水浸液对植物病毒有抑制作用^[2~4]。研究报道从榆黄蘑(*Pleurotus citrinopileatus*)^[5]、金针菇(*Flammulina velutipes*)^[6]、杏鲍菇(*Pleurotus eryngii*)^[7]、杨树菇(*Agrocybe aegerita*)^[8]、灰花树(*Grifola frondosa*)^[9]、毛头鬼伞(*Cop-*

rinus comatus)^[10]等多种食用菌中分离到具有抗 TMV 活性的蛋白质。因此,筛选有效抑制植物病毒的大型真菌以及分离出其中抗病毒的活性物质成分对防治植物病毒病害具有重要意义。

本文对 8 种食用菌乙醇提取物水溶液进行了抑制烟草花叶病毒测试,为烟草花叶病毒的防治提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试食用菌共 8 种,包括鸡油菌(*Cantharellus minor* Peck)、蘑菇(*Agaricus campestris* L:Fr.)、香菇[*Lentinus edodes* (Berk.) Sing]、平菇(*Pluribus*)、茶

收稿日期: 2006-09-26

* 基金项目: 云南省自然科学基金资助项目(2005C0035M)。

** 通讯作者

作者简介: 马学萍(1980-),女,云南陆良人,在读硕士,主要从事抗植物病毒活性物质筛选的研究。

树菇 [*Agrocybe aegerita* (Brig.) Sing.]、鸡腿菇 (*Coprinus comatus*)、真姬菇 (*Hypsizygus marmoreus*)、金针菇 (*Flammulina velutipes*)。

1.2 方法

食用菌物质成分的提取:所有供试食用菌从大型超市购买到新鲜子实体,在45℃恒温烘箱中烘干后粉碎,取干粉样品50g置于1000mL三角瓶中,用70%乙醇冷浸提取72h后过滤,滤液于45℃恒温水浴浓缩成膏状,放在冰箱4℃备用。

1.3 供试病毒

TMV的普通株系,在心叶烟 (*Nicotiana glutinosa*) 上3次单斑分离后,接种普通烟 K326 (*Nicotiana tabacum*),3周后采花叶症状明显的病叶,采用 Gooding 的方法^[11]提纯,经200~300nm紫外扫描确定病毒浓度。

1.4 主要仪器及试剂

主要仪器:烘干箱、植物粉碎机、紫外分光光度计、高速离心机、恒温水浴锅等。

试剂:分析纯的乙醇、正丁醇、聚乙二醇等。

1.5 食用菌提取物抗病毒活性测试

1.5.1 钝化试验

选健康的8叶期心叶烟,剪取从上往下数第4至第6片真叶,左半叶接种10mg/mL各食用菌提取物水溶液与病毒的混合物,右半叶接种蒸馏水和病毒的混合物,各混合物中病毒的终浓度为35μg/mL,每半叶接种各混合物100μL。每处理接种3个叶片,重复4~5次。

接种后,将各组叶片放在铺有湿润纱布的白瓷盘中按顺序放好,盖上保鲜膜,置于22~25℃人工气候箱中培养。

3d后记录处理和对照的枯斑数,计算钝化效果。

钝化效果(%) = [1 - (处理平均枯斑数/对照平均枯斑数)] × 100

1.5.2 预防试验

选健康的8叶期心叶烟,打顶,留下3~4片真叶,培养1周,喷施5mg/mL各食用菌提取物的水溶液,以喷施蒸馏水为对照。24h后,每半叶接种浓度为35μg/mL病毒100μL^[12]。每处理接种3株,重复3次。3d后记录处理和对照的枯斑数,计算预防效果。

预防效果(%) = [1 - (处理平均枯斑数/对照平均枯斑数)] × 100

1.5.3 治疗试验

选健康的8叶期心叶烟,打顶,留下3~4片真叶,培养1周,每半叶接种浓度为35μg/mL的病毒100μL,24h后,喷施5mg/mL各食用菌提取物的水溶液,以喷施蒸馏水为对照^[13]。每处理接种3株,重复3次。3d后记录处理和对照的枯斑数,计算治疗效果。

治疗效果(%) = [1 - (处理平均枯斑数/对照平均枯斑数)] × 100

2 结果与分析

从表1可以看出,8种食用菌乙醇提取物水溶液在体外都具有钝化病毒(TMV)的作用,并且钝化效果都在20%以上,其中鸡腿菇对TMV的钝化效果可达到53.8%;8种食用菌提取物均有抑制病毒侵染的作用,其中真姬菇、蘑菇、香菇3种食用菌对TMV的预防效果在50%以上,香菇的预防效果最好,达到82%;除鸡油菌外,其它7种食用菌提取物对TMV有不同程度的治疗作用,其中平菇对TMV的治疗效果达到51.2%。

表1 食用菌乙醇提取物对TMV的钝化、预防及治疗效果

Tab. 1 The deactivating, preventing and treating effect of ethanol extracts from the fungus on TMV

样品及学名 fungi samples and names	钝化效果/% deactivating effect	预防效果/% preventing effect	治疗效果/% treating effect
真姬菇 <i>Hypsizygus marmoreus</i>	38.9%	52.9%	26.4%
蘑菇 <i>Agaricus campestris</i> L:Fr.	36.4%	68.2%	3.7%
香菇 <i>Lentinu edodes</i> (Berk.) Sing	43.4%	82.0%	30.0%
金针菇 <i>Flammulina velutipes</i>	21.1%	28.6%	41.4%
茶树菇 <i>Agrocybeaegerita</i> (Brig.) Sing.	26.8%	27.4%	29.8%
鸡油菌 <i>Cantharellus minor</i> Peck	28.0%	44.7%	-36.0%
鸡腿菇 <i>Coprinus comatus</i>	53.8%	30.3%	36.7%
平菇 <i>Pluribus</i>	49.0%	46.1%	51.2%

3 讨论

大型真菌抗病毒作用研究报道最多的是其水浸液的抗病毒活性^[5~10],本试验对8种食用菌乙醇提取物水溶液进行抗植物病毒(TMV)活性测试,结果表明8种食用菌提取物对TMV都具有不

同效果的抑制作用,推测食用菌提取物中可能含有小分子抗植物病毒(TMV)活性物质。

关于大型真菌提取物及其分离到的活性物质钝化病毒的研究报道较多^[5~10],但是其预防及治疗植物病毒的研究报道则较少。本试验不仅测试了8种食用菌提取物在体外对病毒(TMV)的钝化效果,还测试其对病毒(TMV)的预防及治疗效果。8种食用菌提取物都有减弱病毒侵染的效果,表明其可能诱导寄主产生抗病性。目前,在植物病毒病缺乏有效治疗药剂的情况下,诱导寄主产生抗性也显得很重要。7种食用菌提取物对TMV有不同程度的治疗作用,为进一步筛选出高效治疗植物病毒病的生防药剂提供了试验依据。

[参考文献]

[1] 吴云峰. 生物病毒农药筛选及应用[J]. 世界农业, 1995, (5): 35-36.

[2] 王晶英,郑雅莺,张建光,等. 食用菌代谢产物研究及其在农业上的应用[J]. 中国食用菌,1997,16(2):6-7.

[3] 高木康至,岛田和纯. 伞菌类锯木屑培养物提取液对TMV的防治效果[J]. 日植病报,1977,43:211-214.

[4] 王先彬,王启燕. 香菇培养物水浸液对烟草花叶病毒(TMV)侵染心叶烟的抑制作用[J]. 微生物学报, 1986,26(4):363-365.

[5] 付鸣佳,吴祖建,林奇英,等. 榆黄蘑中一种抗病毒蛋白的纯化及其抗烟草花叶病毒和乙型肝炎病毒的活性[J]. 中国病毒学,2002,17(4):350-353.

[6] 付鸣佳,吴祖建,林奇英,等. 金针菇中一种抗病毒蛋白的纯化及其抗烟草花叶病毒特性[J]. 福建农林大学学报(自然科学版),2003,2(1):84-88.

[7] 付鸣佳,林健清,吴祖建,等. 杏鲍菇抗烟草花叶病毒蛋白的筛选[J]. 微生物学报, 2003,43(1):29-34.

[8] 孙慧,吴祖建,谢联辉,等. 杨树菇(*Agrocybe aegerita*)中一种抑制TMV侵染的蛋白质纯化及部分特性[J]. 生物化学与生物物理学报,2001,33(3):351-354.

[9] 陈宁,吴祖建,林奇英,等. 灰花树中一种抗烟草花叶病毒的蛋白纯化及其性质[J]. 生物化学与生物物理学报,2004,31(3):283-286.

[10] 吴丽萍,吴祖建,林奇英,等. 一种食用菌提取物y3对烟草花叶病毒的钝化作用及其机制[J]. 中国病毒学,2004,19(1):54-57.

[11] GOODING G V JR, HEBERT T T. A simple technique for purification of tobacco mosaic virus in large quantities[J]. Phytopathology, 1967,57(11):1285.

[12] 吴云峰,曹让. 几种药剂对病毒侵染和植物抗病性的影响[J]. 西北农业大学学报,1999,27(2):1-5.

[13] 裘维蕃. 植物病毒学(修订版)[M]. 北京:农业出版社,1984.



(上接第 295 页)

[12] 国家中医药管理局. 中华草本(第3册)[M]. 上海:上海科学技术出版社,1999.

[13] 冉先德. 中华药海(上册)[M]. 哈尔滨:哈尔滨出版社,1993.

[14] 中国药品生物制品检验所. 中国民族药志[M]. 北京:人民卫生出版社,1990.

[15] 中华人民共和国卫生部药政管理局. 现代实用本草(上册)[M]. 北京:人民卫生出版社,1997.

[16] 沈映君. 中药药理学[M]. 北京:人民卫生出版社,2000.

[17] 彭波,杨华元. 乌头、附子及其主要生物碱研究进展[J]. 华西药理学杂志,1993,8(3):158-161.

[18] 陈信义,李峨,侯丽,等. 乌头类生物碱研究进展与应用前景评述[J]. 中国中医药信息杂志,2004,11(10):922-923.

[19] 胡学军. 乌头类中药及其制剂的镇痛作用[J]. 中医药研究,2001,17(4):56-58.

[20] 马健,陆平成,牧野充弘,等. 乌头碱对小鼠腹腔巨噬细胞Ia抗原表达影响的研究[J]. 中国药理学通报,1997,13(4):341-344.

[21] 王雅贤. 乌头碱对小鼠免疫功能影响的实验研究[J]. 中医药信息,1989,5(5):40-42.

[22] 张为亮,徐楚江,杨明,等. 附子毒效关系的实验研究[J]. 广西中医药,1997,20(3):43-44.

[23] 周远鹏,刘文化,曾贵云. 乌头碱及其类似物的毒性和对心脏收缩功能的影响[J]. 药学报,1984,19(9):641-646.

[24] 黄永融. 乌头抗癌研究概述[J]. 福建中医药,1991,22(1):54-56.

[25] 赖春丽,黄婉锋,祝晨,等. 抗肿瘤中药新药开发探讨[J]. 中药材,2003,26(9):677-680.

[26] 林凌云,陈巧鸿,王锋鹏. 去甲二萜生物碱的药理活性[J]. 华西药理学杂志,2004,19(3):200-205.