

网络出版时间:2015-01-05 08:59

DOI:10.13207/j.cnki.jnwafu.2015.02.025

网络出版地址: <http://www.cnki.net/kcms/detail/61.1390.S.20150105.0859.025.html>

云芝葡聚糖对烟草马铃薯 Y 病毒的抗性研究

张鑫¹, 段军娜¹, 翟枫¹, 罗晶¹, 成巨龙², 安天赐¹, 安德荣¹

(1 西北农林科技大学 旱区作物逆境生物学国家重点实验室 植物保护学院, 陕西 杨凌 712100; 2 陕西省烟草研究所, 陕西 西安 710002)

【摘要】【目的】研究云芝葡聚糖对烟草马铃薯 Y 病毒(PVY)的抑制作用,为新型杀菌剂云芝葡聚糖水剂的开发应用提供依据。【方法】以 PVY 枯斑寄主莧色藜(*Chenopodium amaranticolor*)、系统寄主心叶烟(*Nicotiana glutinosa*)为材料,采用枯斑法、叶圆片法及室内盆栽试验,测定云芝葡聚糖的抗 PVY 活性及其诱导抗病性,同时测定其对烟草防御酶 POD、PAL 活性的影响。【结果】云芝葡聚糖对 PVY 具有很强的预防作用和诱导抗性,700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 云芝葡聚糖的预防效果达 73.98%,诱导抗性达 59.84%;对 PVY 有一定的钝化和抑制增殖作用,其中 700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 云芝葡聚糖对 PVY 的钝化效果为 28.79%,对 PVY 的增殖抑制率达 40.25%;云芝葡聚糖处理能提高烟草叶片 POD 和 PAL 活性;室内盆栽试验结果表明,云芝葡聚糖对 PVY 寄主表现出很强的保护活性,保护效果优于治疗效果,接种病毒 14 d 后 1.1%云芝葡聚糖水剂 300 倍液的保护、治疗效果分别为 73.33%和 38.46%。【结论】云芝葡聚糖是一种很强的免疫增强剂,对 PVY 的抑制作用显著,提前施用对寄主可起到很好的保护作用。

【关键词】 云芝葡聚糖;烟草马铃薯 Y 病毒;抑制作用;防御酶活性

【中图分类号】 S435.32

【文献标志码】 A

【文章编号】 1671-9387(2015)02-0191-07

Resistance of *Trametes versicolor* polysaccharides against potato virus Y

ZHANG Xin¹, DUAN Jun-na¹, ZHAI Feng¹, LUO Jing¹,
CHENG Ju-long², AN Tian-ci¹, AN De-rong¹

(1 State Key Laboratory of Crop Stress Biology for Arid Areas, College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China; 2 Shaanxi Tobacco Research Institute of China National Tobacco Corp, Xi'an, Shaanxi 710002, China)

Abstract: 【Objective】 To provide basis for development and application of new fungicide-*Trametes versicolor* polysaccharides AS, the inhibition of *Trametes versicolor* polysaccharides against PVY was studied. 【Method】 Using *Chenopodium amaranticolor* and *Nicotiana glutinosa* as materials, the anti-PVY activity of *Trametes versicolor* polysaccharides was detected by half-leaf method, leaf-discs method, and potted plant method, and the inducible resistance and effects on activity of defensive enzymes POD and PAL were determined. 【Result】 It was confirmed that polysaccharides had strong preventive effect and induced resistance against PVY, and the preventive effect and induced resistance of 700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ *Trametes versicolor* polysaccharides were 73.98% and 59.84%, respectively. Polysaccharides also had inactivating and multiplication inhibiting effects against PVY, and the inactivation effect and multiplication inhibition rate of 700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ *Trametes versicolor* polysaccharides were 28.79% and 40.25%, respectively. Treated by polysac-

【收稿日期】 2013-11-01

【基金项目】 教育部高等学校学科创新引智计划项目(B07049);国家烟草专卖局项目“新型生物杀菌剂真菌多糖在烟草病害防治中的研究和应用”(110201002024);国家烟草专卖局烟草有害生物调查和防治研究项目(KJ-2010-14)

【作者简介】 张鑫(1988-),女,山东菏泽人,在读硕士,主要从事微生物资源利用研究。E-mail:zhangxin.fendou@163.com

【通信作者】 安德荣(1963-),男,陕西大荔人,教授,博士生导师,主要从事微生物资源利用和植物病理学研究。

E-mail:anderong323@163.com

charides also increased the activity of tobacco POD and PAL. The potted experiment showed that *Trametes versicolor* polysaccharides had strong protective activity to PVY host, which was better than treatment effect. 14 days after inoculating PVY, the protective effect and therapeutic effect of 300 times diluent of polysaccharides were 73.33%, and 38.46%, respectively. 【Conclusion】 *Trametes versicolor* polysaccharides were an type of immunopotentiator. They had a strong inhibitory action against PVY and application in advance could achieve better protection effect.

Key words: *Trametes versicolor* polysaccharides; potato virus Y; inhibitory effect; the activity of defensive enzyme

马铃薯 Y 病毒(Potato virus Y, PVY)是 Y 病毒科(Potyviridae)Y 病毒属(*Potyvirus*)的代表种,主要侵染包括烟草在内的多种茄科植物,是重要的世界性植物病毒^[1],可严重危害烟草(*Nicotiana tabacum*)、马铃薯(*Solanum tuberosum*)、辣椒(*Capsicum* spp.)、番茄(*S. lycopersicum*)等作物,引起植株花叶、斑驳、畸形、矮化、坏死^[2]。烟草马铃薯 Y 病毒病是由 PVY 侵染烟草引起的一种系统性侵染病害,又称烟草脉坏死病、烟草脉带病^[3],是世界烟草产区的重要病害之一,该病防治困难,对烟叶的产量和质量有很大影响。

云芝葡聚糖(*Trametes versicolor* polysaccharides)是从担子菌纲多孔菌科(Polyporaceae)云芝属(*Polystictus*)真菌云芝或培养菌丝中提取的具有多种生物活性的葡聚糖物质。作为一种免疫增强因子,云芝葡聚糖具有的抗病毒、抗肿瘤以及免疫增强作用,在医学上已被普遍接受^[4],但有关云芝葡聚糖对植物病毒的抑制作用研究报道很少。近年来,国内外大量研究表明,真菌葡聚糖对烟草花叶病毒(TMV)、黄瓜花叶病毒(CMV)等植物病毒的侵染和增殖有抑制作用^[5-9],能诱导烟草防御酶活性,显著提高烟草叶片多酚氧化酶(PPO)、苯丙氨酸解氨酶(PAL)、过氧化物酶(POD)、过氧化氢酶(CAT)的活性^[10-12],同时真菌葡聚糖能诱导烟草体内水杨酸(Salicylic acid, SA)含量提高^[13],对植物抗病基因介导的抗性产生有重要作用,能激活防御反应和调控植物生长抑制病害的形成^[14-15],这些发现开辟了防治植物病毒病的新途径。云芝葡聚糖作为一种真菌源葡聚糖,将其应用于农业病毒病防治具有重要的研究价值。

西北农林科技大学旱区作物逆境生物学国家重点实验室前期对 12 种真菌葡聚糖的抗病毒作用进行系统筛选^[9],发现云芝葡聚糖对 TMV、CMV 具有很强的预防作用,且经葡聚糖处理后能提高烟草产量和质量。为此,本研究采用酶、超声波联用方法

提取云芝葡聚糖,以 PVY 枯斑寄主苋色藜(*Chenopodium amaranticolor*)、系统寄主心叶烟(*Nicotiana glutinosa*)为材料,测定云芝葡聚糖的抗 PVY 活性及其诱导抗病性,同时测定其对烟草防御酶 POD、PAL 活性的影响,旨在为新型杀菌剂 1.1% 云芝葡聚糖水剂的应用提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试菌株:云芝(*Trametes versicolor*)YZ-3,由西北农林科技大学旱区作物逆境生物学国家重点实验室保存。

供试植物:苋色藜、心叶烟,其种子由中国农业科学院烟草研究所提供。

供试病毒:提纯的 PVY 病毒,由西北农林科技大学旱区作物逆境生物学国家重点实验室分离保存,于接种前 30 d 左右在健康的心叶烟上繁殖备用。制备病毒接种液时,取 1 g PVY 感病叶片,加少量石英砂,于 10 mL PBS 溶液中研磨成匀浆,纱布过滤,无菌水稀释至 100 mL 备用。

供试药剂:1.1% 云芝葡聚糖水剂,西北农林科技大学旱区作物逆境生物学国家重点实验室制备;0.5% 香菇多糖水剂,北京燕化永乐农药有限公司生产;5.5% 氨基寡糖素水剂,由西大华特科技实业公司生产。

1.2 方法

1.2.1 云芝葡聚糖的提取 用 6 mm 打孔器取已培养 7 d 的云芝菌饼,放入装有 100 mL 发酵培养基^[16]的三角瓶中,每瓶放入 3 个菌饼,于 28 ℃、160 r/min 振荡培养 7~10 d,待外观菌球多、菌液厚时停止培养,于 10 000 r/min 离心 8 min,获得菌丝体和上清液;将菌丝体洗涤 2 次,采用酶、超声波联用方法^[17]提取胞内糖肽,过滤得滤液;再将滤液与上清液合并,减压浓缩至原体积的 1/5,加入 4 倍体积分数 95% 乙醇,4 ℃ 下静置 12 h,离心获沉淀

物,干燥得云芝葡聚糖^[18]。向蒸馏水中加入云芝葡聚糖、表面活性剂烷基糖苷,搅拌至原药完全溶解后加入防分解剂 1,2-丁二醇、防冻剂甘油,再次搅拌混合均匀,即得 1.1% 云芝葡聚糖水剂,现用现配。

1.2.2 云芝葡聚糖对 PVY 的预防作用 采用枯斑法测定云芝葡聚糖对 PVY 的预防作用。选取长势一致的苜蓿,将配制好的 100,200,300,500 和 700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 云芝葡聚糖溶液先涂抹在叶片上,24 h 后立即将禁食 4 h 的烟蚜转移到 PVY 的毒源植物心叶烟上饲毒 3~5 min,然后转移至涂抹过云芝葡聚糖的苜蓿叶片上进行 2 h 传毒试验,每植株接虫 10 头,以喷清水为对照。于温室中培养,每处理 5 株,重复 3 次。接毒 3~4 d 后统计枯斑数,计算抑制率。抑制率=(对照枯斑数-处理枯斑数)/对照枯斑数 $\times 100\%$ 。

1.2.3 云芝葡聚糖对 PVY 的钝化作用 采用半叶枯斑法^[19]测定云芝葡聚糖对 PVY 的体外钝化作用。选取长势一致的苜蓿,将配制好的 100,200,300,500,700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 云芝葡聚糖溶液分别与 PVY 接种液等体积混合钝化 15 min^[20],然后用半叶法^[19]摩擦接种到苜蓿的左半叶上,右半叶接种 PVY 接种液作为对照。于温室中培养,每处理 5 片叶,重复 3 次。接毒 3~4 d 后统计枯斑数,计算抑制率。抑制率=(对照半叶枯斑数-处理半叶枯斑数)/对照半叶枯斑数 $\times 100\%$ 。

1.2.4 云芝葡聚糖对 PVY 的诱导抗性 采用枯斑法^[19]测定云芝葡聚糖的诱导抗性。选取长势一致的苜蓿,将配制好的 300,500,700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 云芝葡聚糖溶液先涂抹在植株下部叶片上,48 h 后于上部叶片摩擦接种 PVY,对照株下部叶清水处理 48 h 后于上部叶片接种 PVY。于温室中培养,每处理 5 株,重复 3 次,接毒 3~4 d 后统计枯斑数,计算枯斑抑制率,以观察云芝葡聚糖的诱导抗性。抑制率=(对照枯斑数-处理枯斑数)/对照枯斑数 $\times 100\%$ 。

1.2.5 云芝葡聚糖对 PVY 的抑制增殖作用 采用叶圆片法^[21]测定云芝葡聚糖对 PVY 的抑制增殖作用。选取长势一致的心叶烟接种 PVY,6 h 后从接种叶上打孔取直径 12 mm 的圆片,分别漂浮于 300,500,700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 云芝葡聚糖溶液、0.5% 香菇多糖水剂 200 倍液、5.5% 氨基寡糖素水剂 500 倍液中,以漂浮于蒸馏水中的叶圆片为阳性对照(CK1),以不接种 PVY 的叶圆片为阴性对照(CK2)。每处理 10 个圆片,重复 3 次^[21]。48 h 后将叶圆片用 0.1 g/mL 磷酸盐缓冲液研磨后离心,上清液采用间接

ELISA 法检测其 OD_{405} 值,绘制标准曲线,得到 PVY 质量浓度(x)与 OD_{405} 值(y)的回归方程为: $y=0.8824x-1.5274$,根据 PVY 质量浓度计算抑制率,抑制率=(阳性对照 PVY 质量浓度-处理 PVY 质量浓度)/阳性对照 PVY 质量浓度 $\times 100\%$ 。

1.2.6 云芝葡聚糖处理后烟草防御酶活性的变化

(1)处理、取样。选取 6~7 叶期的健康心叶烟作以下 4 种处理:①于植株叶片上涂抹 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的云芝葡聚糖,24 h 后不接种病毒;②植株叶片上涂抹 500 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 云芝葡聚糖,24 h 后接种 PVY;③植株叶片上喷清水,24 h 后接种 PVY;④仅清水喷雾(对照)。处理后将烟草置于室温 25~28 $^{\circ}\text{C}$ 下生长。每处理在接种后每隔 24 h 取样 1 次,共取 5 次,用于各项生理指标测定。3 次重复。

(2)酶活力测定。取各处理叶圆片 2 g 冰浴研磨至匀浆,4 $^{\circ}\text{C}$ 、5 000 r/min 离心 20 min,上清液即为 POD、PAL 的提取液,其中 POD 用 10 mL 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的 0.05 mol/L pH 7.0 的磷酸缓冲液提取, PAL 用 2 mL 4 $^{\circ}\text{C}$ 预冷的 0.05 mol/L pH 8.8 的硼酸缓冲液提取^[11]。POD 活性测定采用愈创木酚法^[22], PAL 活性测定采用 Koukol 等^[23]的方法。

1.2.7 室内盆栽防效试验 试验设 1.1% 云芝葡聚糖水剂 300 倍液、500 倍液、700 倍液 3 个梯度,以 5.5% 氨基寡糖素水剂 500 倍液、0.5% 香菇多糖水剂 200 倍液为对照药剂。选取长势一致的心叶烟,分别进行预防处理(最后一次施药后 24 h 接毒)、治疗处理(接毒 24 h 后施药 3 次),以只接种不施药为对照^[24]。每 4 d 施药 1 次,连续施药 3 次,每处理 10 株烟苗,重复 3 次,采用蚜虫接毒。于接种后 14 d 以株为单位进行病情调查,计算病情指数及相对防效。

病情指数 = $\sum(\text{各级病株数} \times \text{相对级数值}) / (\text{调查总株数} \times \text{最高分级数}) \times 100$ 。

防治效果 = $(\text{对照病情指数} - \text{处理病情指数}) / \text{对照病情指数} \times 100\%$ 。

1.3 数据分析

试验数据采用 SPSS 12.0 软件进行处理,采用 Duncan's 多重比较法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 云芝葡聚糖对 PVY 的预防作用

由表 1 可以看出,100,200,300,500,700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 云芝葡聚糖对 PVY 的预防效果分别为 61.78%,60.16%,69.11%,72.36%,73.98%,处理

后苞色藜叶片枯斑数较对照大幅度减少。说明提前施用云芝葡聚糖对 PVY 有很强的预防作用,且预防效果与葡聚糖溶液质量浓度呈明显的正相关性。

2.2 云芝葡聚糖对 PVY 的体外钝化作用

表 1 表明,100,200,300,500,700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 云芝

表 1 不同质量浓度云芝葡聚糖对 PVY 的预防和钝化作用

Table 1 Preventive and inactivation effect of *Trametes versicolor* polysaccharides with different concentrations against PVY

云芝葡聚糖/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) <i>Trametes versicolor</i> polysaccharides	预防作用 Preventive effect		钝化作用 Inactivation effect		
	枯斑数 Number of necrosis	抑制率/% Inhibition rate	处理半叶枯斑数 Number of semi-leaf necrosis in treatment	对照半叶枯斑数 Number of semi-leaf necrosis in contrast	抑制率/% Inhibition rate
100	9.4	61.78	14.2	13.6	0
200	9.8	60.16	12.8	13.8	7.25
300	7.6	69.11	13.6	14.4	5.56
500	6.8	72.36	9.2	12.6	26.98
700	6.4	73.98	9.4	13.2	28.79
对照 Contrast	24.6	—	—	—	—

注:枯斑数、半叶枯斑数试验数据均为 3 次重复的平均值。表 2,3 同。

Note: Data of the leaf and the semi-leaf blight spots are the mean of three replicates. The same for table 2 and table 3.

2.3 云芝葡聚糖对 PVY 的诱导抗性

不同质量浓度云芝葡聚糖对 PVY 的诱导抗性见表 2。

表 2 不同质量浓度云芝葡聚糖对 PVY 的诱导抗性

Table 2 Induced resistance of *Trametes versicolor* polysaccharides with different concentrations against PVY

云芝葡聚糖/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) <i>Trametes versicolor</i> polysaccharides	枯斑数 Number of necrosis	抑制率/% Inhibition rate
300	13.2	45.90
500	10.6	56.56
700	9.8	59.84
对照 Contrast	24.4	—

表 2 表明,300,500,700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 云芝葡聚糖处

表 3 不同质量浓度云芝葡聚糖对 PVY 增殖的抑制效果

Table 3 Inhibitory effect of *Trametes versicolor* polysaccharides with different concentrations on multiplication of PVY

供试药剂 Pesticide	质量浓度 Concentration	平均 OD ₄₀₅ Average of OD ₄₀₅	PVY 质量浓度/ ($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) Content of PVY	抑制率/% Inhibition ratio
云芝葡聚糖水剂 <i>Trametes versicolor</i> polysaccharides AS	300 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0.378 6	2.160 0	34.00
	500 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0.422 8	2.210 1	32.47
	700 $\mu\text{g}/\text{mL}$	0.197 9	1.955 3	40.25
0.5%香菇多糖水剂 0.5% lentinan AS	200 倍液 200 times diluent	0.478 3	2.273 0	30.54
5.5%氨基寡糖素水剂 5.5% oligosaccharins AS	500 倍液 500 times diluent	0.454 8	2.246 4	31.36
阳性对照(CK1) Positive control (CK1)	—	1.360 5	3.272 8	—
阴性对照(CK2) Negative control (CK2)	—	0.120 5	—	—

2.5 云芝葡聚糖对烟草防御酶活性的影响

2.5.1 烟草叶片 POD 活性 由图 1 可以看出,云芝葡聚糖诱导处理后,激发和诱导烟草体内 POD 活性升高,而对照 POD 活性变化不明显。云芝葡聚糖处理后接种 PVY 的叶片 POD 活性在接种后第 3 天

葡聚糖对 PVY 进行钝化处理后,抑制率分别为 0, 7.25%, 5.56%, 26.98%, 28.79%。钝化作用差异显著性分析结果显示,云芝葡聚糖的钝化处理对 PVY 的抑制效果不显著,但随着云芝葡聚糖质量浓度的增加,钝化效果逐渐提高。

理对 PVY 的抑制率分别为 45.90%, 56.56%, 59.84%。说明云芝葡聚糖能诱导苞色藜植株对 PVY 产生抗性,效果非常显著,且随云芝葡聚糖质量浓度的增加,对 PVY 抗性明显提高。

2.4 云芝葡聚糖对 PVY 的抑制增殖作用

表 3 表明,300,500,700 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 云芝葡聚糖对 PVY 增殖的抑制率分别为 34.00%, 32.47%, 40.25%, 高于对照药剂 0.5% 香菇多糖水剂 200 倍液、5.5% 氨基寡糖素水剂 500 倍液。说明云芝葡聚糖对 PVY 的增殖有一定的抑制作用,低质量浓度云芝葡聚糖的抑制效果并不明显,增殖抑制率与葡聚糖质量浓度呈明显的正相关性。

达到最高值,是此时对照的 2.67 倍,且高于其他处理。涂抹云芝葡聚糖处理以及喷清水后接种 PVY 处理的叶片 POD 活性在接种后第 3 天达到最高值,且云芝葡聚糖处理 > 喷清水后接种 PVY 处理,分别为第 3 天对照的 2.41 倍和 1.62 倍,随后 POD 活

性有不同程度的下降。至接种后第 5 天各处理叶片的 POD 活性仍高于对照。

2.5.2 烟草叶片 PAL 活性 由图 2 可以看出,除了对照,其余处理烟叶 PAL 活性变化显著,均呈先上升后下降的趋势,且明显高于对照。涂抹云芝葡聚糖后接种 PVY 处理的 PAL 活性上升速度最快,

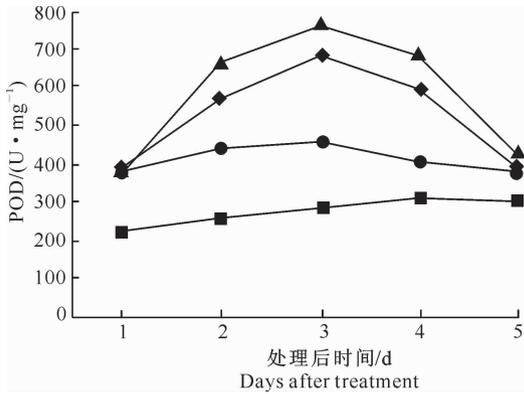


图 1 云芝葡聚糖处理后烟草叶片 POD 活性的变化

—◆—, 云芝葡聚糖处理; —■—, 对照处理;

—▲—, 云芝葡聚糖处理后接种 PVY; —●—, 清水处理后接种 PVY

Fig. 1 Change of POD activity after *Trametes versicolor* polysaccharides treatment

—◆—, *Trametes versicolor* polysaccharides treatment; —■—, Contrast; —▲—, Inoculating PVY after smearing polysaccharides; —●—, Inoculating PVY after spraying fresh water

2.6 云芝葡聚糖对 PVY 的室内盆栽防治效果

表 4 表明,1.1%云芝葡聚糖水剂 300 倍液、500 倍液、700 倍液的保护效果分别为 73.33%, 62.85%, 44.12%, 治疗效果分别为 38.46%, 36.53%, 26.70%。在保护作用中,云芝葡聚糖 300 倍液的防治效果最高,显著高于 2 种对照药剂,云芝葡聚糖 500 倍液防治效果与 2 种对照药剂差异不显

表 4 云芝葡聚糖对 PVY 的室内盆栽防治效果

Table 4 Indoor inhibitory effect of *Trametes versicolor* polysaccharidess against PVY

药剂 Pestiside	稀释倍数 Dilution ratio	保护作用 Protective effect		治疗作用 Therapeutic effect	
		病情指数 Disease index	防治效果/% Protection effect	病情指数 Disease index	防治效果/% Protection effect
1.1%云芝葡聚糖水剂 <i>Trametes versicolor</i> polysaccharides AS	300	22.22±0.00 d	73.33±0.00 a	45.58±3.20 c	38.46±5.64 a
	500	29.63±6.41 c	62.85±7.56 b	47.03±3.20 c	36.53±3.85 a
	700	44.44±5.56 b	44.12±7.48 c	54.29±3.21 b	26.70±6.12 b
5.5%氨基寡糖素水剂 5.5% oligosaccharins AS	500	31.48±3.21 c	60.48±3.60 b	51.03±3.20 b	31.11±2.22 a
0.5%香菇多糖水剂 0.5% lentinan AS	200	28.51±3.21 d	64.19±3.03 b	58.51±3.21 b	21.02±3.18 b
对照 Contrast	—	79.62±3.21 a	—	74.07±3.20 a	—

注:表中数据为 3 次重复的平均值,以“平均值±标准差”表示。同列数据后标不同小写字母者表示各处理差异显著 ($P < 0.05$)。

Note 4: Data are the “mean±SD” of three replicates. Different lowercase letters mean significantly difference ($P < 0.05$).

3 结论与讨论

本研究结果表明,云芝葡聚糖对 PVY 具有很

其次是涂抹云芝葡聚糖处理,分别于处理后第 4 天、第 3 天达到最高值;喷清水后接种 PVY 处理的 PAL 活性变化相对较小,其峰值明显低于涂抹云芝葡聚糖处理和涂抹葡聚糖后接种 PVY 处理。表明云芝葡聚糖可诱导烟草叶片 PAL 活性的提高。

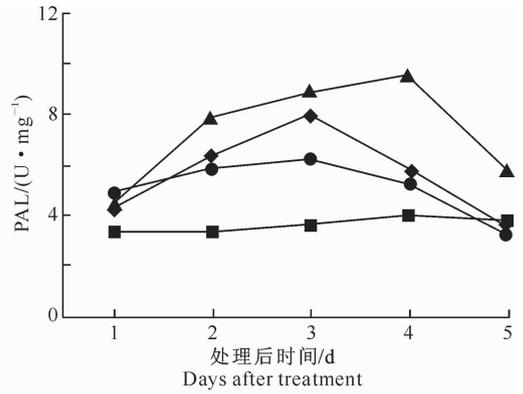


图 2 云芝葡聚糖处理后烟草叶片 PAL 活性的变化

—◆—, 云芝葡聚糖处理; —■—, 对照处理;

—▲—, 云芝葡聚糖处理后接种 PVY; —●—, 清水处理后接种 PVY

Fig. 2 Change of PAL activity after *Trametes versicolor* polysaccharides treatment

—◆—, *Trametes versicolor* polysaccharides treatment; —■—, Contrast; —▲—, Inoculating PVY after smearing polysaccharides; —●—, Inoculating PVY after spraying fresh water

著,云芝葡聚糖 700 倍液防治效果显著低于 2 种对照药剂。经云芝葡聚糖处理后的植株烟叶浓绿光滑,长势健壮,株高、叶片面积、茎围都明显高于对照。说明云芝葡聚糖不仅对寄主有很好的保护、治疗作用,保护效果较治疗效果好,而且能促进植株生长。

好的预防作用,700 $\mu\text{g/mL}$ 云芝葡聚糖的预防效果可达 73.98%;云芝葡聚糖能诱导植株对 PVY 产生很高的诱导抗性,700 $\mu\text{g/mL}$ 云芝葡聚糖处理的诱

导抗性效果可达 59.84%；云芝葡聚糖也有一定的钝化和增殖抑制作用，但作用相对较低；云芝葡聚糖处理能提高烟草叶片防御酶活性；室内盆栽试验结果表明，1.1%云芝葡聚糖水剂对 PVY 寄主表现出很强的保护作用，其 300 倍液的保护效果可达 73.33%，且经云芝葡聚糖处理后的烟苗生长健壮整齐，表现出较强的促生作用。因此，云芝葡聚糖作为一种免疫增强剂，在植物病毒病防治上具有较好的研究价值和应用前景。

在植株接种病毒前经云芝葡聚糖处理，可以封锁植物病毒的侵染位点，使病毒失去与细胞微伤口感受点结合的能力，因而使病毒的侵入能力被降低或过程被阻止^[25]。多糖对病毒在寄主体内的增殖有一定的抑制作用。Grasso 等^[26]研究认为，喷洒天然抑制剂后，使寄主核糖体上的病毒蛋白合成受阻，病毒不能复制。同时，葡聚糖可以作为激发子诱导活性氧的释放和植保素的合成，活性氧的诱导产生是一类早期的抗病反应，它们能直接攻击病原，从而达到抑制病毒作用^[7]。因此推测认为，云芝葡聚糖通过激活植株免疫防御反应调控植物生长，使寄主植株产生诱导抗性，以提高防御酶的活性，在激活主动防御反应中起着重要的作用。

由于云芝葡聚糖具有抗病毒活性、免疫增强作用，高效、没有细胞毒性，应用于生物体毒副作用小，提取也较容易，将其开发为生物农药产品具有重要的市场价值。但目前有关云芝葡聚糖对农业病害防治研究甚少，积累的资料也很贫乏，还有待于对植物病毒病防治研究的加强，并更深一步地了解其抗病毒机理。

[参考文献]

- [1] 张俊祺,代昌明,杨军,等.马铃薯 Y 病毒贵州黔西烟草分离物 P1 基因序列分析 [J].植物病理学报,2012,42(1):88-92.
Zhang J Q,Dai C M,Yang J,et al.Sequence analysis of P1 gene of PVY tobacco isolate from Qianxi,Guizhou [J].Acta Phytopathologica Sinica,2012,42(1):88-92.(in Chinese)
- [2] 高正良.烟草马铃薯 Y 病毒病(PVY)的研究现状与防治对策 [J].安徽农学通报,2003,9(5):75-77.
Gao Z L.The present research situation and control measures of tobacco potato Y virus disease (PVY) [J].Anhui Agricultural Science Bulletin,2003,9(5):75-77.(in Chinese)
- [3] 余春英,张西仲,王定福,等.黔南烟区烟草马铃薯 Y 病毒病发病原因及防治措施 [J].安徽农业科学,2010,38(10):5110-5112.
Yu C Y,Zhang X Z,Wang D F,et al.Causes and prevention measures of tobacco potato Y virus disease in Qiannan tobacco-growing areas [J].Journal of Anhui Agricultural Sciences,2010,38(10):5110-5112.(in Chinese)
- [4] 郑炯,张甫生,黄明发.云芝多糖生物活性及其提取纯化研究进展 [J].粮食与油脂,2007(2):44-46.
Zheng J,Zhang F S,Huang M F.Research advances in bioactivities and extraction,purification of coriolus versicolor polysaccharides [J].Cereals & Oils,2007(2):44-46.(in Chinese)
- [5] 王先彬,王启燕.香菇培养物水浸液对烟草花叶病毒(TMV)感染心叶烟的抑制作用 [J].微生物学报,1986,26(4):363-365.
Wang X B,Wang Q Y.The inhibition of tobacco mosaic virus (TMV) by Xianggu mushroom culture infusion [J].Acta Microbiologica Sinica,1986,26(4):363-365.(in Chinese)
- [6] 陈顺,席海生,冯华,等.香菇菌多糖防治由病毒引起马铃薯退化的试验研究 [J].微生物学杂志,1998,18(2):39-40.
Chen S,Xi H S,Feng H,et al.The prevention research of *Lentinula edodes* polysaccharide on potato degeneration caused by virus [J].Journal of Microbiology,1998,18(2):39-40.(in Chinese)
- [7] 张超,操海群,陈莉,等.食用菌多糖对植物病毒抑制作用的初步研究 [J].安徽农业大学学报,2005,32(1):15-18.
Zhang C,Cao H Q,Chen L,et al.Preliminary study on the inhibition of polysaccharide of edible fungi to plant virus [J].Journal of Anhui Agricultural University,2005,32(1):15-18.(in Chinese)
- [8] 李丹,赵文红,孔宝华,等.云南大型真菌提取物及其多糖组分对 TMV 的抑制作用 [J].云南农业大学学报,2009,24(2):175-180.
Li D,Zhao W H,Kong B H,et al.Inhibition effect of Yunnan macrofungi extracts and its polysaccharides on TMV [J].Journal of Yunnan Agricultural University,2009,24(2):175-180.(in Chinese)
- [9] 沈小英,牛小义,段娜娜,等.多糖对烟草花叶病毒(TMV)的抑制作用研究 [J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2012,40(12):115-120,126.
Shen X Y,Niu X Y,Duan J N,et al.Inhibition of polysaccharides on tobacco mosaic virus [J].Journal of Northwest A&F University:Natural Science Edition,2012,40(12):115-120,126.(in Chinese)
- [10] Burkhonova G F,Yarullina L G,Maksimov I.The control of wheat defense responses during infection with *Bipolaris sorokiniana* by chitooligosaccharides [J].Russian Journal of Plant Physiology,2007,54(1):104-110.
- [11] 许玉娟,范素素,齐文静,等.苍耳多糖对烟草花叶病毒的抑制作用及对烟草几种防御酶活性的影响 [J].山东农业大学学报:自然科学版,2010,41(4):485-488.
Xu Y J,Fan S S,Qi W J,et al.The inhibition effect of polysaccharides of *Xanthium sibiricum* on tobacco mosaic virus and the influence on the defense enzymes activities of tobacco [J].Journal of Shandong Agricultural University:Natural Science Edition,2010,41(4):485-488.(in Chinese)
- [12] Chakraborty M,Karun A,Mitra A.Accumulation of phenylpropanoid derivatives in chitosan-induced cell suspension cul-

- ture of cocosnucifera [J]. Journal of Plant Physiology, 2009, 166(1):63-71.
- [13] 吴艳兵,谢荔岩,谢联辉,等.毛头鬼伞多糖抗烟草花叶病毒(TMV)活性研究初报[J].中国农学通报,2007,23(5):338-341.
Wu Y B, Xie L Y, Xie L H, et al. A preliminary study on anti-TMV activity of polysaccharide from *Coprinus comatus* [J]. Chinese Agricultural Science Bulletin, 2007, 23(5):338-341. (in Chinese)
- [14] 黄金光,李怀方,宋爱荣.树舌 MP-01 菌株提取液抑制 TMV 生物活性研究[J].中国烟草科学,2007,28(2):47-48.
Huang J G, Li H F, Song A R. Studies on the TMV biological activity of the MP-01 extracts [J]. Chinese Tobacco Science, 2007, 28(2):47-48. (in Chinese)
- [15] 王 杰,王开运,张 骞,等.海带多糖对烟草花叶病毒的抑制作用及其对烟草酶活性的影响[J].植物保护学报,2011,38(6):532-538.
Wang J, Wang K Y, Zhang Q, et al. Inhibition of laminarin against TMV and effect on protective enzymes in tobacco [J]. Acta Phytologica Sinica, 2011, 38(6):532-538. (in Chinese)
- [16] 马海燕,郭成金.云芝菌丝体液体培养基的筛选[J].中国食用菌,2007,26(4):34-36.
Ma H Y, Guo C J. Selection of liquid culture medium on mycelium of *Coriolus versicolor* [J]. Edible Fungi of China, 2007, 26(4):34-36. (in Chinese)
- [17] 汪 洁,全卫丰,刘广建,等.云芝多糖提取工艺的研究比较[J].食用菌,2010(3):69-71.
Wang J, Quan W F, Liu G J, et al. Research in comparing various extraction processes of *Trametes versicolor* polysaccharide [J]. Edible Fungi, 2010(3):69-71. (in Chinese)
- [18] 李巧云,居红芳,翟 春.五味子粗多糖提取工艺的研究[J].食品科学,2004,25(5):105-109.
Li Q Y, Ju H F, Zhai C. Study on the extraction technology of polysaccharide from *Schisandra* [J]. Food Science, 2004, 25(5):105-109. (in Chinese)
- [19] 田 波,裴美云.植物病毒研究方法:上册[M].北京:科学出版社,1987:281-285.
Tian B, Pei M Y. Research technique of plant virus [M]. Beijing: Science Press, 1987:281-285. (in Chinese)
- [20] 张 兴,韩立荣,周大伟,等.放线菌 ZX01 菌株发酵产物抗 TMV 活性的初步研究[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2012,40(1):66-70.
Zhang X, Han L R, Zhou D W, et al. Anti TMV activity of the fermentation product of actinomycetes strain ZX01 [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2012, 40(1):66-70. (in Chinese)
- [21] 沈建国,张正坤,吴祖建,等.臭椿和鸦胆子抗烟草花叶病毒作用研究[J].中国中药杂志,2007,32(1):27-29.
Shen J G, Zhang Z K, Wu Z J, et al. Antiviral effect of *Ailanthus altissima* and *Brucea javanica* on tobacco mosaic virus [J]. China Journal of Chinese Materia Medica, 2007, 32(1):27-29. (in Chinese)
- [22] Lamb C J, Rubery P H. Phenylalanine ammonia-lyase and cinnamic acid 4-hydroxylase: Produce repression of the level of enzyme activity in potato tuber discs [J]. Planta, 1976, 130:283-290.
- [23] Koukol J, Conn E E. The metabolism of aromatic compounds in higher plants. IV: Purification and properties of the phenylalanine deaminase of *Hordeum vulgare* [J]. The Journal of Biological Chemistry, 1961, 236(10):2692-2698.
- [24] 王海鹏,马志卿,何 军,等.植物源农药 VFB 抗烟草花叶病毒(TMV)活性初步研究[J].西北农林科技大学学报:自然科学版,2008,36(3):176-180,186.
Wang H P, Ma Z Q, He J, et al. Primary study on anti-TMV activity of botanical-derived VFB [J]. Journal of Northwest A&F University: Natural Science Edition, 2008, 36(3):176-180,186. (in Chinese)
- [25] 王 杰,王开运.香菇多糖对植物真菌和病毒病害的抗病机理[J].农药,2011,50(1):16-19.
Wang J, Wang K Y. Discussion on the mechanism of resistance of the polysaccharide of *Lentinus edodes* against pathogenic bacteria and virus of plant [J]. Agrochemicals, 2011, 50(1):16-19. (in Chinese)
- [26] Grasso S, Sheperd R J. Isolation and partial characterization of virus inhibitors from plant species taxonomically related to phytolacca, phytopathology [J]. Phytopath, 1978, 93:199-205.