

天然抗病毒组合制剂对柿椒病毒病防效试验

田兆丰¹, 裘季燕¹, 李永丹², 刘德文¹

(1. 北京市农林科学院植保环保研究所,北京 100089; 2. 中国农业大学植物保护系,北京 100094)

摘要: 经过筛选从苦丁茶、板兰根、酸膜叶蓼、椿叶、摩罗、香菇菌丝体和亚麻油渣中获得几种具抗病毒活性的生物材料。将上述材料抽提物经抗病毒效果及对病毒的作用方式试验,初步明确这些材料具有抗病毒侵染能力。把不同作用点的抗病毒材料经复配得到复配剂G,以烟草花叶病毒为防治对象,田间试验结果证明,复配制剂G可以控制病毒的侵染,对柿椒病毒病防治效果达81.12%,比单独使用各抗病毒材料制剂效果增加16%~58%。

关键词: 植物药理学; 植物性抗病毒材料; 烟草花叶病毒; 防治效果

中图分类号: S 481.9 **文献标识码:** A **文章编号:** 0529-1542(2003)04-0033-03

The effect of compound natural anti-virus agent on pepper virus disease TIAN Zhao-feng¹, QIU Ji-yan¹, LI Yong-dan², LIU De-wen¹ (1 Institute of Plant & Environment Protection, Beijing Academy of Agriculture & Forestry Sciences, Beijing 100089, China; 2 Department of Plant Protection, China Agricultural University 100094, China)

Abstract: Anti-virus substances extracted from natural plants *Iles kaushue*, *Isatis indigotica*, *Polygonum lapathifolium*, *Ailanthus altissima*, *Metaplexis japonicus*, *Lentinula edodes* and *Linum usitatissimum*, were studied, respectively. These substance were proved to be able to inhibit TMV from affecting in different ways. Some could inactivate the virus in vitro and some restricted replication of the virus in plant effectively. Mixing different materials which act on virus in different ways together, we developed a compound agent which is obviously superior to any other single agent. The controlling effect against TMV on pepper is increased by 16%~58% in field after spraying the compound agent.

Key words: plant pharmacology; natural anti-virus material; tobacco mosaic virus; control effect

植物病毒病害种类多,分布广,在植物病害中所占比例仅次于真菌,每年给农业生产造成很大损失。由于植物没有象动物一样完整的免疫系统及病毒对植物的绝对寄生性,植物病毒病害的防治始终是一个难题。目前植物病毒防治剂的防效一般都低于60%。因此,从天然物质中开发抗植物病毒剂,并由不同作用位点的制剂进行组合,开发复配制剂以增强防效具有重要的意义。本试验旨在验证不同植物性抗病毒材料经组合后防治柿椒病毒病的效果,为以后的继续试验和示范推广提供依据。

1 材料和方法

1.1 供试材料

植物性抗病毒材料分别来自中草药、植物材料、及油料作物种子等。这些生物材料分别为苦丁茶、板兰根、酸膜叶蓼、椿叶、摩罗、香菇菌丝体、亚麻油渣等,以200倍或400倍磷酸缓冲液(pH 7.0)抽提其有效成分,15 000 r/min 离心5 min,取上清液进行抗病毒试验。

1.2 不同抗病毒物质作用方式初探

1.2.1 体外钝化病毒试验 烟草花叶病毒(TMV)保存在普通感病烟NC89上,以200倍磷酸缓冲液研磨后,分别和以上各种抗病毒供试材料的200倍磷酸缓冲液(pH 7.0)抽提液等体积混合,对照为200倍病毒液和200倍磷酸缓冲液混合,应用半叶法摩擦接种在心叶烟上,每处理用10片叶,5个重复,测定产生的枯斑数。

1.2.2 抑制病毒增殖试验 以普通烟为寄主,接种TMV,分别在病毒接种前及接种后喷施各抗病毒材料400倍抽提液共4次,另设清水及磷酸缓冲液2种对照,每隔4天喷施1次,20 d后调查记录发病情况并采用间接酶联免疫吸附法(ID-ELISA)检测寄主叶片中病毒的含量。

1.3 复配制剂田间防病试验

根据以上试验的结果,分别选择阻止蚜传的亚麻油渣、钝化病毒的摩罗和抑制病毒增殖的椿叶、香菇丝体,以1:1:1的比例复配,再以400倍磷酸缓

冲液研磨后制成复配制剂 G 进行试验，并以单独使用各材料 400 倍抽提液为对照处理进行田间抗病毒试验。各处理同时加入 2% 非离子型植物源天然农药助剂（江苏省南通飞天化学实业有限公司生产）。

对照为清水、磷酸缓冲液及 400 倍抗病毒生物农药 0.5% 菇类蛋白多糖水剂（抗毒丰）（北京农林科学院植保环保研究所监制，北京市通县永乐店农药厂生产）共 8 个处理，3 次重复，每处理小区 50 m²，随机排列。

试验地点为北京市延庆县沈家营镇八里店村。试验地为中性壤土，肥水管理中等。试验作物为柿椒（中椒 4 号），行距 40 cm，株距 25 cm，施药期为结果期。防治对象为黄瓜花叶病毒及混合感染的烟草花叶病毒病，试验前未发病。

试验共施药 3 次，2 次施药间隔 7 d，最后 1 次施药后 10 d 调查发病情况。每个处理随机调查 100 株，按病毒病分级标准调查病情指数，计算防治效果。

2 试验结果

2.1 不同抗病毒活性物质对 TMV 体外钝化试验

寄主为心叶烟，接种 3 d 后统计枯斑数，计算各抗病毒抽提液对烟草花叶病毒钝化作用的大小。

表 1 植物性抗病毒材料提取液对 TMV 的体外钝化作用

植物性抗病毒材料	枯斑数量(个) ¹⁾		抑制率(%)
	处理	CK	
苦丁茶	123	125	+ - ²⁾
板兰根	68	86	21.9
酸膜叶蓼	78	74	+ - ²⁾
椿叶	15	128	88.3
摩罗	3	112	97.3
香菇菌丝体	47	94	50.0
亚麻油渣	58	79	26.5

1) 表中枯斑数量为 10 片叶 5 次重复的平均枯斑数量。2) + - 表示对病毒的钝化效果近似为零。

由表 1 可知，板兰根、椿叶、摩罗、香菇菌丝体、亚麻油渣对 TMV 分别表现了不同程度的钝化效果，其中摩罗对 TMV 的钝化作用最强，椿叶次之，表明这些材料中含有钝化病毒的物质，从而使病毒失活，失去了侵染活性。

2.2 抗病毒活性物质抑制病毒增殖室内试验

表 2 结果明确，椿叶和香菇菌丝体对试验寄主中病毒的增殖有较强的抑制作用。表 1 结果摩罗对病毒有很强的体外钝化失活作用，但对已经侵入寄主的病毒却未见很好的抑制效果。

表 2 室内测定抗病毒材料的提取液对 TMV 系统侵染的抑制作用

植物性抗病毒材料	TMV 浓度	防治效果(%)
苦丁茶	3 +	25.49
板兰根	2 +	52.50
酸膜叶蓼	3 +	32.24
椿叶	1 +	64.00
摩罗	4 +	15.25
香菇菌丝体	2 +	60.35
亚麻油渣	3 +	32.20
清水(CK ₀)	5 +	—
缓冲液(CK ₁)	6 +	—

1) TMV 检测方法为 ID-ELISA。

2.3 复配制剂田间防效

结果见表 3，试验证明复配制剂 G 对柿椒病毒病的防治效果大大提高，比单独使用各抗病毒材料效果提高 16%~58%。另外，本试验单独使用磷酸缓冲液的对照处理对柿椒病毒病没有治疗作用，相反其病情指数略高于清水对照，所以磷酸缓冲液对病毒的侵染和增殖可能略有辅助作用，这点有待进一步试验证实。

表 3 植物性抗病毒制剂防治柿椒病毒病田间试验结果

药剂及抗病材料	药后病情指数	防治效果(%) ¹⁾
复配剂 G ²⁾	8.39	81.12
椿叶	15.33	65.50
摩罗	34.11	23.24
香菇菌丝体	17.33	61.00
亚麻油渣	25.66	42.25
6.5% 抗毒丰 AS	12.05	72.88
磷酸缓冲液	47.50	—
清水	44.44	—

1) 防治效果以清水为对照进行计算。2) 复配剂 G 为表中 4 种植物性材料复配而成。

3 讨论

抗植物病毒的天然活性物质范围非常广泛，其有效成分包括蛋白质^[1,2]、多糖^[3]、核酸^[4]、生物碱^[5]、酚、醌^[6,7]、脂肪酸类^[8,9]、单宁、挥发性物质等。虽然已知这些物质可减轻植物病毒的危害，对防治病毒病有一定效果，但目前多数抗病毒活性物质的作用机理还不很清楚，所以缺乏根据不同抗病毒材料进行组合的复配制剂。本研究在对几种具抗病毒活性的生物材料进行抗性作用方式初步研究的基础上进行合理复配，在病毒侵染循环的不同环节控制病毒对寄主的侵染和在寄主中的增殖，使其抗病毒效果显著提高。

目前,我国抗植物病毒制剂的研究和开发还处于起步阶段,真正用于生产的直接作用于病毒的制剂不多。因此,从天然物质中开发抗植物病毒制剂具有重要的现实意义和广阔的发展前景。

参考文献:

- [1] 林毅,张文增 13 种(科)植物中蛋白质提取物的抗 TMV 活性[J] 福建农业大学学报,2001,(30):211~212
- [2] Verma, H N Isolation of the Virus Inhibitor from the Root Extract of *Boerheavia Difusa* Induces Systemic Resistance in Plant [J] Canadian Journal of Botany, 1979,(57):1214~1217
- [3] Kovalenko A G Investigations on Inhibitors of Plant Virus from Yease[J] Phytopath, 1977,Z(88):332~340
- [4] White R F Direct Control of Virus Disease[J] Crop Protection, 1983,(2):259~271.
- [5] Roychondhury R Characterization of a Plant Virus Inhibitor from 2 *Solanum* spp [J] Indian J Exp Biol, 1983,(21):212~215
- [6] Multuoglu, T Virus Inhibitors in Stone Fruit Plant spp [J] Phytopath, 1976,Z (85):49~64
- [7] Okada F Inhibitory Effect of Tea Catechin on the Local Lesion Formation Caused by TMV[J] Ann Phytopath Soc Jpn, 1978, (43):524~527
- [8] 雷新云,裘维蕃,于振华,等 一种病毒抑制物质 Ns-83 的研制及其对番茄预防 TMV 初侵染的研究[J] 植物病理学报,1984, 14(1):1~7
- [9] 李怀方,雷新云,裘维蕃 耐病毒诱导剂 Ns-83 生理活性的测定[J] 植物病理学报,1987,17(3):141~152.