

石斛花提取物抗新城疫病毒效果研究

赵潇

(浙江经贸职业技术学院应用工程系,浙江杭州 310018)

摘要 本试验利用鸡胚培养法,通过血凝试验,探究石斛花提取物对新城疫病毒的抑制作用。结果表明,石斛花提取物中的多糖和总黄酮可以有效抑制新城疫病毒的增殖,在相同浓度条件下,石斛多糖的抑制效果最好。

关键词 石斛花;提取物;新城疫病毒;抑制作用

中图分类号 S859.3 **文献标识码** A

文章编号 1007-5739(2021)02-0188-02

DOI:10.3969/j.issn.1007-5739.2021.02.075

开放科学(资源服务)标识码(OSID):



Study on Antiviral Effect of Dendrobium Flower Extract on Newcastle Disease Virus

ZHAO Xiao

(Department of Applied Engineering, Zhejiang Economic & Trade Polytechnic, Hangzhou Zhejiang 310018)

Abstract In this study, chicken embryo culture method was used to study the inhibitory effect of *Dendrobium* flower extract on newcastle disease virus by hemagglutination test. The results showed that the polysaccharides and total flavonoids in *Dendrobium* flower extracts could effectively inhibit the proliferation of newcastle disease virus, and the inhibitory effect of *Dendrobium* polysaccharides was the best under the same concentration.

Keywords *Dendrobium* flower; extract; newcastle disease virus; inhibitory effect

新城疫(Newcastle Disease, ND)是由新城疫病毒(Newcastle Disease Virus, NDV)引起的鸡的高度接触性传染病,又称为亚洲鸡瘟或伪鸡瘟,其主要以呼吸道和消化道黏膜出血为主要特征。新城疫是一种发病率和死亡率都很高的传染病,给全世界的养禽业带来了巨大的经济损失,因而国际动物卫生组织将其列为A类动物传染病,农业部兽医局将其列为一类动物传染病^[1]。新城疫病毒表面含有血凝素,能够与人或者动物的红细胞发生凝集反应,即发生红细胞凝集现象,也称为血凝现象。因此,通常可以利用血凝反应来鉴定病毒含量。

石斛属(*Dendrobium* Sw.)为兰科第二大属,约包括1000种植物,是我国传统的名贵中草药,素有“救命仙草”之称^[2]。现代药理学研究表明,石斛具有益胃生津、滋阴清热、抗氧化、降血糖、抗肿瘤等功能^[3]。检测分析发现,石斛含有多糖、生物碱、黄酮等多种有效活性成分,对心血管和免疫系统疾病也具有显著的治疗效果^[4]。关于石斛花的研究,多集中于有效成分的分

离提取方面,其具体药用价值的应用探究却鲜有报道,尤其在抗病毒方面缺少具体实例。本研究以新城疫病毒为载体,利用鸡胚培养法,通过血凝试验,观察石斛花提取物对病毒的抑制作用,探究其在抗病毒方面的药用价值。

1 材料与方法

1.1 试验材料

SPF鸡胚(浙江余姚市神农畜禽有限公司提供),新城疫毒株(中国兽药监察所提供),1%红细胞悬液、利伟巴林(浙江康恩贝制药生产),石斛花(方回春堂)。

1.2 试验方法

1.2.1 多糖的提取。将干燥的石斛花粉碎,根据1:50(质量体积比)的料液比加入适量蒸馏水,超声时间为55 min,微波时间3 min,微波功率450 W,进行超声—微波协同处理,提取石斛多糖溶液,备用^[5]。

1.2.2 总黄酮的提取。将干燥的石斛花充分粉碎,根据1:50(质量体积比)的料液比加入适量蒸馏水,乙醇体积分数80%,55℃超声提取2次,每次40 min,提取石斛花中的总黄酮,备用^[6]。

1.2.3 多糖及总黄酮对鸡胚的安全浓度的测定。取80枚一定日龄的SPF鸡胚,每组10枚,随机分成8组,4组注射不同浓度的多糖(1.00、0.50、0.25、0 g/mL)各0.2 mL,其余4组注射不同浓度的总黄酮(1.00、0.50、0.25、0 g/mL)各0.2 mL,处理后将鸡胚置于孵化器中孵育,弃24 h内死胚,记录和观察24~72 h内每组死胚数,选择多糖及总黄酮对鸡胚的安全浓度。

基金项目 2019浙江省教育厅一般科研项目(Y201942828);浙江经贸职业技术学院省属高校基本科研业务费专项资金项目(19QNJJ06)。

收稿日期 2020-09-03

1.2.4 新城疫病毒半数致死量的测定。取 40 枚一定日龄的 SPF 鸡胚, 每组 10 枚, 随机分成 4 组, 将收集的新城疫病毒尿囊液按 10 倍梯度稀释, 按每 0.2 mL 接入 SPF 鸡胚, 处理后将鸡胚置于孵化器中孵育, 弃 24 h 内死胚, 收集记录 24 h 后各组的死胚和活胚数, 最后计算得出鸡胚半数致死量。

1.2.5 多糖及总黄酮对新城疫病毒增殖的影响。取出 75 枚一定日龄 SPF 鸡胚, 每组 15 枚, 随机分成 5 组, 按不同作用方式进行分组操作: 组别 1, 病毒液 0.1 mL, 多糖溶液 0.2 mL, 混匀后尿囊腔接种; 组别 2, 病毒液 0.1 mL, 总黄酮溶液 0.2 mL, 混匀之后尿囊腔接种; 组别 3, 病毒液 0.1 mL, 利伟巴林 0.2 mL, 混匀后尿囊腔接种; 组别 4, 病毒液 0.1 mL, 无菌生理盐水 0.2 mL, 混匀后尿囊腔接种; 组别 5, 无菌生理盐水 0.3 mL, 尿囊腔接种。处理完毕之后, 将鸡胚置于 38 °C 孵化器内孵育, 每天照蛋观察, 发现死胚, 及时取出, 并做好记录, 72 h 后收集各组鸡胚尿囊液做 HA 试验。

1.2.6 多糖不同添加方式对新城疫病毒增殖的影响。取 75 枚一定日龄 SPF 鸡胚, 每组 15 枚, 随机分成 5 组, 根据不同添加方式进行分组操作: 组别 6, 尿囊腔接种多糖 0.2 mL, 2 h 后再接病毒液 0.1 mL; 组别 7, 病毒液 0.1 mL, 多糖 0.2 mL, 室温混匀 2 h 后, 于尿囊腔接种; 组别 8, 尿囊腔接种病毒液 0.1 mL, 2 h 后接多糖 0.2 mL; 组别 9, 病毒液 0.1 mL, 生理盐水 0.2 mL, 混匀后尿囊腔接种; 组别 10, 无菌生理盐水 0.3 mL, 尿囊腔接种。处理完毕后, 将鸡胚置于 38 °C 孵化器内孵育, 每天照蛋观察, 发现死胚, 及时取出, 并做好记录, 72 h 后收集各组鸡胚尿囊液做 HA 试验。

2 结果与分析

2.1 多糖及总黄酮对鸡胚的安全浓度

注射不同浓度的多糖及总黄酮溶液后, 8 组鸡胚在培养 72 h 内, 均未出现死亡现象, 表明选择的多糖及总黄酮浓度对鸡胚安全无毒。因此, 将 1 g/mL 作为多糖和总黄酮的安全供试浓度。

2.2 新城疫病毒半数致死量

根据观察及记录的数据, 利用公式, 计算得出鸡胚半数致死量为 1:100 000, 因而试验时选择的病毒液为 1:50 000。

2.3 多糖及总黄酮对新城疫病毒增殖的影响

由表 1 可以看出, 在 24 h 内, 5 个处理组的鸡胚均未出现死亡。孵育 48 h 后, 只有第 4 处理组(病毒与生理盐水混合溶液)发现 2 枚死胚, 其余 4 组均没有发现异常。孵育 72 h 后, 除了第 1 处理组(病毒与多糖混合溶液)和第 5 空白对照组, 其余 3 组均出现死亡鸡

胚, 第 4 处理组最为严重, 死胚 13 枚, 第 3 处理组(病毒与利伟巴林混合溶液)死胚 5 枚, 第 2 处理组(病毒与总黄酮混合溶液)死胚 2 枚。HA 效价方面, 第 4 处理组为 8lg2, 第 3 处理组为 5lg2, 第 2 处理组为 1lg2, 其余 2 组均为 0。由此表明, 石斛多糖可以很好地抑制新城疫病毒的增殖, 并且相比等浓度的总黄酮和利伟巴林, 其抗病毒效果最好。

表 1 多糖及总黄酮对新城疫病毒增殖的影响

组别	24 h	48 h	72 h	HA 效价
1	0	0	0**	0**
2	0	0	2**	1lg2**
3	0	0	5**	5lg2*
4	0	2	13	8lg2
5	0	0	0	0

注: 与第 4 处理组相比, ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$), * 表示差异显著 ($P < 0.05$)。

2.4 多糖不同添加方式对新城疫病毒增殖的影响

由表 2 可知, 在 24 h 内, 5 个处理组的鸡胚均未出现死亡。孵育 48 h 后, 第 9 处理组(病毒与生理盐水混合溶液)比较严重, 发现 12 枚死胚, 第 8 处理组(先接病毒, 后接多糖)也发现了 2 枚死胚, 其余 3 组均未发现异常。孵育 72 h 后, 第 9 处理组全部死亡, 第 8 处理组死胚 6 枚, 其余 3 组均为活胚。HA 效价方面, 第 9 处理组为 9lg2, 第 8 处理组为 2lg2, 其余 3 组均为 0。由此表明, 石斛多糖对新城疫病毒的增殖具有一定抑制作用, 先注射多糖溶液后添加病毒, 或者将病毒与多糖混合 2 h 后再接种鸡胚, 这 2 种处理方式均可以达到很好的抑制病毒增殖效果。先注射病毒后添加多糖溶液, 对抑制病毒增殖效果略差, 可能是因为多糖先注射, 其可以更早地在鸡胚内起到免疫保护作用, 抑制病毒增殖。

表 2 多糖不同添加方式对新城疫病毒增殖的影响结果

组别	24 h	48 h	72 h	HA 效价
6	0	0**	0**	0**
7	0	0**	0**	0**
8	0	2**	6**	2lg2**
9	0	12	15	9lg2
10	0	0	0	0

注: 与第 9 处理组相比, ** 表示差异极显著 ($P < 0.01$), * 表示差异显著 ($P < 0.05$)。

3 结论

该试验结果表明, 一定浓度的石斛花提取物能有效抑制新城疫病毒的增殖, 且多糖对病毒的抑制作用优于总黄酮。

4 参考文献

- [1] 刘坤. 抗新城疫病毒中药组方的筛选及其抗病毒机制的初步研究[D]. 南京: 南京农业大学, 2014.
- [2] 宓文佳, 陈素红, 吕圭源, 等. 铁皮石斛根提取物对 2 型糖

(下转第 196 页)

学化、信息化发展的趋势已经势不可挡,物联网技术又在其中起到了不可或缺的作用,物联网技术可以进一步提高水产养殖业的生产效率、经济效益和生态效益。但该技术还不成熟,需要加强核心技术的研发,加强养殖户培训力度,从而促进整个水产养殖行业的蓬勃发展。

7 参考文献

[1] 张国强,于亚萍,康冠朋,等.基于无线通信平台的养殖水质监测系统的设计[J].湖北农业科学,2016,55(14):3749-3752.

[2] 杨英,任选.基于 LoRa 的水产养殖水质监控系统设计[J].水产学杂志,2020,33(1):73-79.

[3] KHALID A H,SITI M Z,BADLISHAH A R,et al.IoT monito-

ring and automation data acquisition for recirculating aquaculture system using fog computing[J].Journal of Computer Hardware Engineering,2018(1):1-6.

[4] 熊作成,魏雯,赵展,等.一种水产养殖环境监控系统的设计[J].内江科技,2019,40(12):46-47.

[5] ULLAH ISRAR,KIM.An optimization scheme for water pump control in smart fish farm with efficient energy consumption[J].Processes,2018,6(6):65.

[6] 陆秋俊.物联网技术在食品溯源中的应用研究[J].物联网技术,2019,9(11):83-85.

[7] 冯学娟.物联网技术在水产养殖中的应用[J].乡村科技,2020(3):91.

[8] 唐黎标.物联网技术在水产养殖上的应用与发展[J].渔业致富指南,2020(1):39-41.

(上接第 189 页)

尿病模型小鼠的降糖作用研究[J].中药药理与临床,2015,31(1):125-129.

[3] 霍昕,周建华.铁皮石斛花挥发性成分研究[J].中华中医药杂志,2008,23(8):735-737.

[4] 何晓艳,吴人照,杨兵勋,等.铁皮石斛花对自发性高血压大鼠降压作用研究[J].浙江中医杂志,2016,51(2):152-

154.

[5] 缪园欣,廖明星,孙爱红,等.铁皮石斛花多糖提取工艺及体外抗氧化性研究[J].食品研究与开发,2019,40(2):52-56.

[6] 唐静月,颜美秋,齐芳芳,等.铁皮石斛花总黄酮提取工艺优化及体外抗氧化活性研究[J].浙江中医药大学学报,2017,41(3):235-242.

(上接第 193 页)

表 2 麋鹿饲养试验

饲喂日期	未驯化成年鹿 (>5岁)	仔鹿		
		2017年生 (3岁)	2018年生 (2岁)	2019年生 (1岁)
2019-08-12	+	+	+	+
2019-09-12	+	+	+	+
2019-10-12	+	+	+	+
2020-04-12	++	++	++	++
2020-05-12	++	++	++	++
2020-06-12	++	++	++	++

注:“++”代表麋鹿喜食;“+”代表麋鹿食用。

3 结语

构树属于乡土树种,在大丰沿海滩涂长势很好,具有营养丰富、蛋白质生物学价值高、饲喂效果好等特点^[9-10],且麋鹿对构树茎叶喜食程度比较高。因此,可以在大丰麋鹿保护区成片栽植构树,作为现有麋鹿饲料的补充,进而在一定程度上促进麋鹿种群健康可持续发展。

4 致谢

感谢江苏省大丰麋鹿国家级自然保护区对本研究的大力支持。

5 参考文献

[1] 彭皓,赵婉雨.杂交构树产业技术分析报告[J].高科技与产

业化,2019(4):48-66.

[2] 纪一帆,吴宝镛,丁玉华,等.大丰野放麋鹿生境中芦苇和互花米草的营养对比分析[J].生态学杂志,2011,30(10):2240-2244.

[3] 谭桂华,刘子琦,肖华,等.构树的饲用价值及应用[J].中国饲料,2017(20):32-35.

[4] 罗在荣,李荣京,李兰,等.杂交构树饲用林不同生长周期构件特性与刈割期的研究[J].贵州林业科技,2018(3):18-20.

[5] 申惠敏,杜晓明,贾秀珍.饲用构树、中华草蓆营养成分分析及其在畜牧养殖中的应用[J].畜牧兽医科技信息,2018(9):37-38.

[6] 刘祥圣,王琳,宁丽丽,等.构树不同部位与奶牛常用粗饲料瘤胃降解特性对比研究[J].动物营养学报,2019,31(8):3612-3620.

[7] 贺春禄,蒋剑春.推广杂交构树是中国产业扶贫新途径[J].高科技与产业化,2019,275(4):18-22.

[8] 乌仁托亚.浅谈全株玉米青贮在奶业生产中的应用[J].中国畜牧兽医文摘,2018(34):425.

[9] 张兴,朱少中,杨旗,等.构树发酵饲料对湘沙猪配套系商品猪生长性能、胴体品质和肌肉品质的影响[J].动物营养学报,2019,31(12):5760-5771.

[10] 施海娜,梁万鹏,刘雨田,等.杂交构树饲用营养价值分析[J].营养与饲料,2019,39(1):25-28.