



全国高等农业院校教材

全国高等农业院校教材指导委员会审定



植物病毒学

● 梁训生 谢联辉 主编

● 植物保护和植物病理学专业用

农业出版社

全国高等农业院校教材

植 物 病 毒 学

梁训生 谢联辉 主编

植物保护和植物病理学专业用

农 业 出 版 社

内 容 简 介

本书是一门基础理论性强的现代应用科学。全书共三篇，分别系统地介绍了病毒学和植物病毒学的历史、本质及其发展系统，植物病毒的形态、结构、遗传、变异、传染性、抗原性及其症状特点，具体介绍了植物病毒病诊断及植物病毒鉴定的现代研究方法，其后介绍了植物病毒病的生态与流行模式及控制方法。全部内容贯穿着基础科学理论、应用科学理论、现代应用技术及具体综合防治措施。书后附有植物病毒组及其成员名单，以及引用参考文献，便于读者查阅。本书为高等农业院校专业教科书，还可供教学、科研和生产单位从事生物、微生物、植保及植检等师生及科技工作人员参考。

编 著 者

主 编 梁训生 谢联辉
编 著 谢联辉 (福建农学院)
梁训生 (北京农业大学)
林奇英 (福建农学院)
杨莉莉 (北京农业大学)
主 审 韦石泉 (沈阳农业大学)

前 言

植物病毒学是高等农业院校植物保护、植物病理及植物检疫专业本科学生的基本教材，同时可供有关院校生物系和微生物学系师生参考，也可供研究生、科研和农业技术人员以及植检人员参考。

植物病毒学为基础理论性强的一门应用科学。近20年来，由于分子病毒学和分子遗传学的迅速发展，学科间相互渗透，使植物病理病毒学与分子病毒学紧密衔接已构成现代植物病毒学。例如，利用弱毒疫苗控制植物病毒病为害，基因转导育成抗病毒的植物新品种等已直接或间接地为农业生产上控制病毒病害开辟了崭新的领域。

当前科研设备与手段不断更新，国内亦初步具备了较完整的高、精技术研究及学习条件。为了使同学们在掌握理论的同时了解或掌握现代研究技术，在应用篇中对植物病毒的分离、提纯、电镜、免疫、生物化学以及分子杂交等项常规诊断与鉴定进行了应用理论概述并提供实际研究方法，在生物鉴定技术方面亦介绍得全面、具体、实用。

在基础理论方面，增添了植物病毒的遗传与变异、分类、血清学、流行模式和梯度以及诱导抗病性等项新内容，力争深入浅出便于理解。

较简练地叙述了病毒学和植物病毒学的历史和当前进展。

在症状、侵染和传播技术等方面尽量图文并茂，有助于理解、识别与应用。为了获得清晰的图片效果全部采用了黑白线条图。

在植物病毒病的流行与控制篇中，从生态体系分析系列流行因素，并通过我国植物病毒病害实例综合分析，微机生物统计推出流行模式便于同学学习。在控制植物病毒病害方面，除概要叙述了控制理论依据和新的防治技术外，还大量介绍了国内生产防治上的科研成果和先进经验，实例具体，有利于发扬祖国的系列栽培防病措施。希望同学们善于归纳、分析加以利用，以便今后在农业生产综合治理病毒病害中发挥作用。

书末附有植物病毒组及其成员名称便于师生和其他科技工作者查对。

本书是在全国高等农业院校教材指导委员会主持下，由梁训生和谢联辉教授主编，林奇英和杨莉莉副教授参加编写完成的。其中谢联辉编写第一、三、五、六章，梁训生编写第二、七章，林奇英编写第四章第一、二节，杨莉莉编写第四章第三、四、五节。编者曾经重点搜集了国内、外80年代以来的教科书、期刊等大量文献和最新信息，结合30多年来自身积累的教学、科研与生产经验编写的，瞻前顾后力争提高起点赶上时代科学水平，希望成为一本理想的现代植物病毒学教科书。由于编者水平有限，错误难免，恳请师生、读者批评指正。

本书由沈阳农业大学植物病毒学专家韦石泉教授审稿，并给予较高评价，同时指出不

足之处。在此，谨向韦石泉老师表示衷心感谢。

在编写期间曾蒙北京农业大学董平同志，福建农学院吴祖建、谢莉妍、徐金汉同志帮助绘图，并为本书的资料搜集、抄写打印做了大量工作，在此一并深表谢意。

编著者

1991年6月1日

目 录

第一篇 基础知识

前言

第一章 绪论	1
第一节 病毒的害与益	1
第二节 病毒的早期概念	4
第三节 病毒的发现与植物病毒学的发展	5
第四节 分子病毒学的建立及其重要意义	11
第五节 植物病毒学的研究内容及其重要性	12
第二章 病毒的本质	13
第一节 植物病毒的现代概念	13
一、植物病毒是一种形态结构简单的微小生命体	13
二、植物病毒依赖寄主植物细胞进行增殖、遗传与变异	14
三、植物病毒具有侵染性和致病性	14
四、植物病毒的抗原性	15
五、植物病毒中存在有多分体现象	15
第二节 植物病毒的形态与结构	16
一、植物病毒的粒体形态	16
二、植物病毒粒体的基本结构	19
第三节 植物病毒的组分及其理化特性	21
一、植物病毒的核酸	22
二、植物病毒的蛋白质	24
三、植物病毒的酶	25
四、植物病毒的脂类	25
五、植物病毒的其他组分	25
六、植物病毒粒体的稳定性	26
第四节 植物病毒的遗传与变异	26
一、植物病毒遗传信息的传递与表达	26
二、植物病毒的基因结构及其表达	27
三、植物病毒的变异	29
四、病毒间的相互作用	31
第五节 植物病毒的传染	33
一、植物病毒的介体与非介体	33
二、植物病毒的介体传染	35
三、植物病毒的非介体传染	42

第六节 植物病毒的抗原性	45
一、植物病毒的抗原结构及其作用	46
二、植物病毒的抗体结构及其作用	47
三、植物病毒的抗原、抗体反应	48
第七节 植物病毒的侵染、干扰与诱导抗病性	49
一、植物病毒的侵染、增殖与转移	49
二、植物病毒的干扰作用	53
三、植物的诱导抗病性	53
第八节 植物病毒病的症状	56
一、植物病毒病的外部症状	56
二、植物病毒病的内部症状	65
第九节 植物病毒的普通名称与现代分类系统	66
一、植物病毒的普通名称	67
二、现代植物病毒分类系统	68

第二篇 诊断鉴定

第三章 病毒病的经验诊断法	72
第一节 标本诊断	72
第二节 田间诊断	74
一、病毒病与生理病的区别	74
二、病毒病的田间识别	75
第四章 病毒病的实验诊断法	78
第一节 生物学实验	78
一、传染方式	79
二、症状类型	91
三、细胞病变和病毒内含体	91
四、寄主范围	92
五、鉴别寄主	92
六、交互保护	93
第二节 病株汁液的体外性状测定	94
一、钝化温度	94
二、稀释限点	94
三、体外存活期	94
第三节 血清学实验	95
一、沉淀反应	95
二、凝集反应	98
三、酶联免疫吸附反应 (ELISA)	100
四、点免疫结合测定技术 (DIBA)	102
第四节 电子显微镜技术	103
一、电子显微镜的分辨率	104
二、电子显微镜的主要结构及工作原理	104

三、载网和支持膜	104
四、植物材料取样	105
五、检测病毒粒体的电泳技术	105
第五节 核酸分子杂交技术	110
一、分子杂交分析原理	110
二、分子杂交的种类	110
三、cDNA检测植物病毒的主要步骤	111
第五章 植物病毒的鉴定	112
第一节 鉴定的程序	112
第二节 鉴定的准则	112
一、病毒组的鉴定	112
二、病毒种群和株系的鉴定	117
第三节 病毒的保存	120
一、活体保存	120
二、冻干保存	121
第四节 类似病毒病原体的鉴别	122
一、鉴别特征	122
二、类病毒的鉴别	123
三、拟病毒的检测	125
第三篇 病害的流行与控制	
第六章 病害的流行	127
第一节 病毒的生态体系	127
一、植物病毒的生态体系	127
二、植物病毒在自然界中的适应性	127
三、植物病毒生态体系中的物质循环和能量流动	128
四、植物病毒生态系统的演化	128
第二节 影响植物病毒传播和流行的因素	130
一、生物因子对病毒传播和流行的影响	130
二、非生物因子对病毒传播和流行的影响	137
第三节 植物病毒病害的流行模式和梯度	138
一、流行模式	138
二、传病梯度	139
三、水稻病毒病流行模式实例	139
第七章 病害的控制	142
第一节 检疫措施与无病毒种苗的利用	142
一、检疫措施	142
二、无病种子及无性繁殖器官的选择	143
第二节 农业系列栽培措施	145
一、作物合理布局	145
二、利用抗病和耐病品种	146

三、适期播种与合理密植	147
四、利用地上覆盖物避蚜防病	147
五、加强水肥管理	148
六、田园卫生	149
七、其它农业措施	149
第三节 化学药剂灭虫、驱虫与防病	150
一、化学药剂杀灭介体昆虫	150
二、土壤消毒杀伤介体线虫和菌类	150
三、性外激素驱蚜防病	151
四、喷撒脂类物质避蚜防病	151
第四节 抑制植物病毒的活性物质	151
一、代谢拮抗物质	151
二、植物生长调节物质	152
三、抗生物质	152
四、干扰素类物质	152
五、诱导抗性物质	152
六、色素类	153
七、微量元素	153
八、植物浸出液	153
九、其它物质	154
第五节 生物制剂控制植物病毒病	154
植物病毒组及其成员名称	156
参考文献	163

第一篇 基础知识

第一章 绪 论

第一节 病毒的害与益

病毒与人类的关系大致有两个方面——害与益。人们认识病毒，进而研究病毒，常常是从病毒的害开始的，于是人们就要和病毒作斗争，在斗争中认识到病毒也能为我所用，造福人类。

在各种病毒病中，首先受到注意的人类病毒是天花（公元前10世纪），畜类病毒是狂犬病（公元前4世纪），而植物病毒就是郁金香的碎色花（公元1576年）。古老的天花是一种传播快、危害大的全身性疾病，病死率高达40—50%（Evans, 1977），未病死的幸存者，也多“麻脸”，甚至失明；80年代开始发现的人类免疫缺陷病毒（Human immunodeficiency virus, HIV）即爱滋病毒（AIDS）的代表株，更是一种流行很快的恶性传染病，还有一些所谓“慢病毒”（Slow virus），虽然致病缓慢，却往往能致人于死地，如某些癌症、免疫失调、精神病和老年性痴呆等重要疾病，就可能与这类“慢病毒”有关。据报道，在世界范围内，一年约有25万例的肝癌患者是与乙型肝炎病毒（Hepatitis B virus, HBV）相联系的，而每年约有5万多例的鼻咽癌患者与EB病毒有关。就微生物所致人类疾病总数而言，年发病率和病死率的50%以上是由病毒造成的（郑浩强，1990）。由此可见，病毒是人类的可怕敌手，它能以各种各样的形式侵害人体，影响健康，使其丧失活力甚至死亡。病毒也能以各种各样的形式侵害人类赖以生存的畜、禽、鱼和农、林、牧草等植物使其致病，影响产品产量和质量，从而给整个农业生产造成严重的损失。畜禽病中的猪瘟、牛瘟、鸡瘟、鸭瘟和口蹄疫，是众所周知的流行性传染病，它能在几天之内使数以千百万头计的畜禽死亡，使牧场主破产；据法新社（1989）报道，津巴布韦因口蹄疫（Foot and mouth disease virus, FMDV）爆发，损失竟达35000万美元以上，并被认为是“可怕的”、“灾难性的”瘟疫。农林植物因病毒为害而蒙受重大损失的例子，为数甚多，略举比较明显的简述如下：

水稻：水稻东格鲁病（Rice tungro），在东南亚一些国家是最具有毁灭性的病毒病，仅菲律宾于40年代每年因此病所致的稻谷损失即达140万吨，至今仍然是这个国家分布最广和破坏性最大的一个病害（Ou, 1985）。此病于1979年在我国福建南部开始发生，至1982年即蔓延到20多个县市，病田产量一般损失30—70%，重病田颗粒无收（谢联辉等，1983b）。水稻矮缩病（Rice dwarf）于19世纪末在日本一些地区流行，曾因此饿死1万余人（王鸣歧，1976）。水稻黄叶病（Rice transitory yellowing）、黑条矮缩病（black streaked dwarf）和条纹叶枯病（stripe），自60年代以来在我国的一些地区曾数次爆发，损失颇

大,个别省仅在1—2年内损失稻谷即达50万吨(谢联辉等,1984)。

麦类:麦类病毒中的黄矮、丛矮和黄花叶都是生产上的重要病害。1978年,加拿大曼尼托巴地区因大麦黄矮病毒(Barley yellow dwarf virus)爆发,给小麦造成损失达1700万美元(Gill,1980);1951—1960年,美国因此病给大麦造成的损失每年在600万美元以上(Duffus,1977),而在我国,1960、1964、1966、1970和1973年于西北和华北一些地区流行,因此病小麦平均减产达30%(裘维蕃,1976)。

马铃薯:据称马铃薯卷叶病毒(Potato leaf roll virus)和马铃薯Y病毒(Potato virus Y, PVY)的一些株系,常使块茎的产量减少50—80%(Bokx,1972)。我国二季产区因病毒性退化一般减产30—50%,严重的减产50—70%(裘维蕃,1984)。

油菜:油菜花叶病的损害有个三方面,一是减产,一个产区的损失常达20—30%;二是降低病株对软腐病和霜霉病的抵抗力;三是降低病株的抗寒力,病株在冬季比健株易于死亡(魏景超,1959)。白菜孤丁和萝卜花叶是十字花科菜类的重要病毒病,前者于1952和1958年大流行,以致有些菜地连种三次都是“孤丁”病苗;后者一般损失20—60%(裘维蕃,1984),值得注意的是这两种病毒也常能加害油菜。

甘蔗:甘蔗斐济病(Sugarcane Fiji Disease)曾在斐济岛爆发,几乎毁掉该岛所有甘蔗,严重地威胁到该岛的制糖工业,后来费了很大的劲才得以控制。我国于1984年也在福建的检疫苗圃和实验苗圃中查到这种病株(周仲驹等,1987),当即予以全部销毁,损失不小。

甜菜:甜菜曲顶病(Beet curly top)在本世纪20年代末期几乎毁了美国西部的糖用甜菜业;甜菜黄化病(Beet yellow)在欧洲常成为流行状态,在我国内蒙古,采种区附近的平均发病率为10—20%,严重的达50—90%,病甜菜根的产量平均减少2%左右,含糖量减少27—31%(裘维蕃,1984)。

柑桔:柑桔速衰病(Citrus tristeza)曾引起南方甜橙的巨大损失,至1949年,仅巴西圣保罗州便已销毁大约600万株的甜橙,这个数字占该州所种甜橙的75%(Bos,1983)。据估计,此病于近50年内在全球所造成的损失约达4—12亿美元(Bar—Joseph等,1983)。此病在我国也普遍发生,广西、广东、湖南、江西、浙江、四川等地柑桔受害株达60—100%(赵学源第,1979)。

香蕉:香蕉束顶病(Banana bunchy top)于1894年在斐济岛发生,使整个香蕉生产受到严重打击(罗宗爵,1970);1920—1929年在澳洲流行,导致该洲整个香蕉种植业崩溃(刘秀绢,1985)。此病在我国南方蕉区发病率一般在20%以上,重者30—50%,甚至100%发病,不得不毁园(福建农学院植物病毒研究室,1986)。

可可:可可肿枝病(Cocoa swollen shoot)在西非的影响尤为突出,仅加纳自1946—1981年便已砍伐病树达179,00万株以上,且于1981年仍有4000万株病树等待处理(Owusu,1983)。此病在我国尚未发生,应予警惕。

上列事例说明,病毒确实有害,想方设法和病毒作斗争是完全必要的。但从现代病毒学所积累的知识看,病毒也展示出许多有益的作用,兹将这方面的例子简述如下:

病毒载体:在生物遗传工程中,病毒是适于把基因、药物或其它任何有用物质送入特定细胞中的理想工具,也就是说经过修饰的病毒是基因工程的有效“载体”。侵染十字花科

的花椰菜花叶病毒 (Cauliflower mosaic virus, CaMV), 是一种双链 DNA 病毒, 很容易用摩擦接种的方法, 使寄主引起系统感染, 并大量增殖。这就使它有可能将基因转移到成熟植物的所有组织中去, 而每个细胞均拥有一个基因的许多拷贝。而且, CaMV 的强有力的基因调节序列能启动外源基因的高水平的表达。尽管开发利用 CaMV 载体仍有许多重要障碍, 但用它将外源基因送入植物的某些成功的例子已有报道。以 CaMV 为载体, 一些抗细菌药物的抗性基因已在芜菁植株上得以表达, 并稳定增殖 (美国农业生物技术国家战略委员会等, 1987)。作为联体病毒的一个成员——玉米线条病毒 (Maize streak virus, MSV), 是一种单链 DNA 病毒, 它能感染农业上十分重要的单子叶植物, 而根癌农杆菌 (*Agrobacterium tumefaciens*) 却不感染这类植物, 加上单子叶植物在细胞培养操作上的困难, 使得这种不便使用的病毒载体成为基因工程上引人注目的对象 (Donald Grierson 等, 1984)。侵染单子叶植物的雀麦花叶病毒 (Brome mosaic virus, BMV) 是一种单链 RNA 病毒, 人们采用构成 RNA 病毒基因组的互补 DNA 拷贝构建载体, 实现了将一种细菌的药物抗性基因引向大麦原生质体的转移和表达。用于动物细胞的病毒载体有猿猴多瘤病毒₄₀ (SV₄₀)、腺状病毒、牛奶头状瘤病毒和痘苗病毒等。现在已有流感病毒、疱疹口炎病毒、猪肠胃炎病毒、狂犬病毒、单纯性疱疹病毒、乙型肝炎病毒和疟疾的重组体痘苗, 经动物实验证明有效, 不久将可用来保护人类 (美国农业生物技术国家战略委员会等, 1987; Scott, 1988)。用于昆虫细胞的病毒载体, 最主要的是苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒 (AcNPV)。采用体外重组相结合的方式可使 β -干扰素、 α -干扰素和 β -半乳糖苷酶等基因在寄主细胞或幼虫体内得到成功的表达 (高尚荫, 1988)。

病毒基因: 病毒的核心是其遗传物质——脱氧核糖核酸 (DNA) 或核糖核酸 (RNA)。从这点出发, 病毒作为遗传物质的重要性并不亚于它们在传染病害中的作用。实际上, 病毒之能致病, 正是由于病毒与寄主细胞的基因互作。一般说来, 病毒和细胞相遇侵入细胞, 既不是以病毒的死亡而告终, 也不是以细胞的死亡而告终, 而是病毒基因组与细胞的遗传装置汇合在一起, 随之细胞的功能也发生变化, 这无疑是一种天然的基因工程。人们正是利用这一原理, 开发人工基因工程。而基因工程问世, 便是从病毒开始的。1972年 美国学者 Berg 第一次把 SV₄₀ 的基因组与噬菌体的基因组在体外拼接在一起, 完成了人类第一个用两种生物的基因组在体外的重组。最近, 我国学者在分别获得抗烟草花叶病毒 (Tobacco mosaic virus, TMV) 和黄瓜花叶病毒 (Cucumber mosaic virus, CMV) 侵染的转基因烟草之后, 又在进一步将这两种病毒的外壳蛋白 (CP) 基因同时导入烟草、番茄, 以期获得具有能抗上述两种病毒混合感染的烟草和番茄新品种, 这项研究目前已构建成功表达型中间载体, 进行转基因植物的再生工作 (田波, 1989; 张曼夫等, 1989)。

生物控制: 最突出的是昆虫病毒, 现在世界各国已分离出 1671 种的昆虫病毒 (Martignoni 等, 1986)。我国报道的也有 290 多种, 其中有 10 多种病毒用于控制棉、菜、茶、果、林及牧草等主要害虫, 防治效果显著 (山松, 1990)。利用昆虫病毒控制害虫具有专一性、高效性、安全性、流行性和持续性 (高尚荫等, 1986), 对农林害虫防治和环境保护都有重要作用。菌类病毒据报道已从 26 属 40 种的植物病原真菌中分离到病毒 (Lemke, 1977; Day 等, 1979), 目前至少有 10 种真菌病毒对病原真菌产生不同的致病作用 (梁平

彦, 1986), 其中粟疫病菌 (*Endothia parasitica*) 的真菌病毒已在意大利和法国用于粟疫病的生物防治。我国对稻瘟病菌病毒和小麦全蚀病菌病毒已有初步的研究报道 (陈开英等, 1982; 梁平彦等, 1984; 马志亮等, 1984)。噬菌体防治植物细菌病害也有一些成功的实例, 有人利用噬菌体处理带病 (棉花角斑病、玉米萎蔫病) 种子, 或防治细菌性溃疡病、烟草疫病均获得肯定结果 (罗明典, 1986)。利用TMV的弱毒系 (如日本的L11-A, 荷兰的M-216, 苏联的TMV57和我国的N11、N14) 防治烟草、番茄等茄科植物的TMV, 均取得了良好的效果 (大岛信行等, 1978; 符拉索夫, 1979; 田波等, 1980; 张秀华等, 1982; 韦石泉, 1983)。利用卫星病毒RNA防治CMV所致的植物病害和鼠痘病毒消灭鼠害均已在我国获得成功 (田波, 1986)。

环境保护: 利用病毒及其制剂开展上述有害生物的控制, 可使环境免受污染。其它如藻类病毒Lpp-1可用于清除水面的三种藻类 (*Lymngbya*、*Plectonema* 和 *Phormadium*), 使水质变清 (罗明典, 1986); 果蝇西格玛病毒能控制果蝇对二氧化碳的灵敏度。据报道, 近100年来大气层中二氧化碳的含量增加了13% (乌曼斯基, 1983), 这对人类无疑是个严重的威胁, 那么自然界中是否也有类似的防毒性病毒存在着对人类和其他生物产生类似的作用?

花卉增色: 有些病毒或其类似病原侵染植物后, 能使叶片或花瓣变得丰富多采, 大大增加观赏价值。我国的金心黄杨、金边瑞香, 荷兰的郁金香杂色变种, 日本卫茅的金边、绿边、花叶和黄斑变种以及印度的杂色锦麻均属此类。

综上所述, 病毒与人类的关系是既有害, 也有益。它的有害性不仅直接侵害人体, 引起病痛、残疾、丧失活力, 甚至死亡, 而且侵害人类赖以生存的农、林植物和畜、禽动物, 给人类的物质生产造成了严重的损失。正因为如此, 人们往往视病毒如洪水猛兽, 恨不得彻底消灭他们。这也许是激发我们努力学习、积极研究病毒的一个重要方面。另一个方面, 尽管病毒的危害如此之大, 以至人们深恶痛绝; 尽管病毒的分布如此广泛, 以至无一生命形式能幸免其难。但是在大自然中, 在人类社会, 一切充满生机的生物种群或者人群, 并没有因为病毒的存在而遭灭顶之灾。与此同时, 病毒也为人们提供了许多利用的机会, 愈来愈显示了它的重要价值。不仅有害的病毒经人们改造之后, 可以变为对人类有益, 而且在生命科学, 在分子生物学的建立和发展中, 起着愈来愈重要的作用。这就说明病毒和人类乃至整个生物圈确实存在某种微妙的关系, 只有不断揭示这种关系的实质, 我们才能真正认识病毒, 从而除害兴利, 消除病毒的有害性, 发掘病毒的有益性, 使其为我所用。这是我们的责任所在。

第二节 病毒的早期概念

“病毒” (virus) 一词源自拉丁语, 意指“液态毒物 (Liquid poison)”。早在2000年前罗马哲学家Corinellius celsus的著作中谈到狂犬病时, 就用过“病毒”这名词。当时的罗马人把病毒看作是来自动物的一种毒物。这当然是错误的。但在早期确曾把“病毒”这一术语广泛地用来表示各种病害的病原, 甚至包括非传染性的和传染性的病原。Woods (1900) 就把病毒看作是一种氧化酶, 他认为烟草花叶是由于氧化酶的过量积累, 致使叶

绿素变成叶黄素而呈现出杂色性; Hunger (1905) 和Freiberg (1917) 也认为病毒是一种酶或者毒素。而Allard (1916) 则认为是一种极细的微生物, 实际上早在1898年Beijerinck就提出了无胞活分子的概念; 也有认为是微生物的一个可滤性阶段 (Smith, 1924; Hoggan, 1927); 有的则根据其免疫学反应而认为病毒可能是蛋白质或多糖类物质 (Purdy, 1928)。自Pasteur证明细菌是病害的病原后, 病毒便被局限于传染性的病原, 但仍把它和细菌或微生物等同起来, 1889年他写道:“牛炭疽病的病原是微生物。……每个病毒便是一个微生物, ……”。这个概念一直被沿用到18世纪中叶。之后随着真菌、细菌在显微镜下的发现, 人们就把未经分离到病原物的传染病的致病因子或病原不明的传染病的病原物看作是“病毒”。

为了试图把病毒和其它传染因子(例如细菌和真菌)区分开来, 就把病毒定为既不能在显微镜下看到, 也不能在任何营养培养基上生长, 而只能在特定的活组织(细胞)内繁殖的一种可通过细菌滤器的致病因子, 或者称之为超显微的滤过性病毒。实际上当时的确很难弄清这种无从捉摸的病原物为何物? 于是“病毒”是什么和如何研究它们, 就一直成为许多科学工作者不断探究的新课题。

第三节 病毒的发现与植物病毒学的发展

病毒作为传染病的病原物, 它与一般微生物的根本区别何在? 病毒究竟是什么? 人们如

表 1-1 植物病毒学发展进程中的重要标志

年份	报 告 者	重 要 事 件
1792	Anderson	拔除病株能够防止马铃薯退化
1885	Mayer	首次命名烟草花叶病为“Mosaic”, 发现汁液能传染
1891	Smith	证实桃黄化病(现为MLO)可通过嫁接传染
1892	Ivanowski	证实TMV的滤过性和传染性
1895	Takata	电光叶蝉能够传播水稻矮缩病
1898	Beijerinck	证实TMV的滤过性、传染性, 称TMV为“传染活液”或“病毒”
1902	Ivanowski	TMV内含体的发现
1916	Doolittle	发现棉蚜和黄瓜甲虫可以传播花黄瓜叶病
1918	Nishamura	发现病毒的隐潜感染
1919	Reddick等	发现种子能传播菜豆花叶病毒
1925	Carsner	提出了植物病毒的变异性, 导致病毒株系的形成
1925	Dickson	发现植物病毒的协生作用
1926	Johnson	发现植物病毒的减毒作用
1926	Vanterpool	发现病毒的混合感染
1927	Dvorak	发现病株汁液具有专化的抗原性, 并制备了抗血清
1927	Vinson	TMV的部分提纯获得成功
1928	Elford	采用超外过滤性, 测算病毒粒体大小
1929	Holmes	发现TMV的枯斑寄主, 并用于病毒的枯斑测定
1929	Mckinney	发现病毒株系的干扰现象
1931	Smith	采用指示植物分离鉴定不同病毒
1931	Thung (汤清香)	证实病毒株系的干扰现象, 提出了交互保护作用

(续)

年份	报 告 者	重 要 事 件
1933	Fukushi	发现水稻矮缩病毒能经介体昆虫的卵传染
1933	Takahashi 等	利用流动复屈折性推定TMV粒体为直杆状
1935	Stanley	提纯了TMV的结晶,说明病毒是蛋白质分子
1936	Bawden等	发现TMV含有95%的蛋白质和5%的RNA
1939	Kausche等	第一张TMV电镜照片问世
1940	Bennett	发现菟丝子能传染病毒
1941	Bernal等	TMV结晶的x-衍射研究
1949	Markham等	发现TuYMV有含RNA和不含RNA的两种粒体
1951	Commoner等	发现硫尿嘧啶能抑制TMV的增殖
1952	Harris等	TMV外壳蛋白的化学定性
1955	Fraenkel-Conral等	TMV的RNA和蛋白质在试管中重组成功
1956	Gierer等; Fraenkel-Conral	证明TMV-RNA具侵染性,明确TMV-RNA是遗传信息的携带者
1958	Gierer等	化学(亚硝酸)诱导病毒(TMV)的变异
1958	Bancroft等	苜蓿花叶病毒粒体的多分体性
1958	Grogan	莴苣巨脉病毒可由甘蓝油壶菌传播
1958	Hewitt等	发现葡萄扇叶病毒的线虫介体
1959	Anderer	阐明TMV外壳蛋白变性的可逆性
1960	Anderer等; Tsugita等	TMV外壳蛋白全部氨基酸序列的确定
1960	Klug等	提出TMV粒体的结构模型
1961	Kassanis等	TNV卫星病毒的发现
1962	Grace	建立第一个稳定的昆虫细胞系,利用昆虫单层细胞研究病毒
1963	Black等	伤瘤病毒的基因组为双链RNA
1964	Smith等	发现根尖组织不含病毒
1967	Bancroft等	球状病毒重组成功
1967	Diener等	马铃薯纤块茎病是游离氨基酸所致
1967	Doi等	发现植物病害病原的类菌原体
1968	Shepherd等	花椰菜花叶病毒的基因组为双链DNA
1968	Pullen	甜菜汁液中隐蔽病毒的发现
1969	Takebe等	用TMV感染叶肉细胞的原生质体,确立了病毒的增殖实验系
1971	Diener	确证马铃薯纤块茎病的病原是类病毒
1973	Goheen等	发现葡萄皮尔氏病的病原为类克次氏体
1975	Jonard	TMV-RNA的复制起点似由代表外壳蛋白顺反子一部分的103个核苷酸序列构成的5'-末端上帽状结构的发现
1975	Zimmern; Keith等	CMV卫星RNA的发现
1977	Kaper等	阐明TMV粒体形态形成的机制
1977	Goodman; Harrison等	植物单链DNA病毒的发现
1978	Gross等	PSTV核苷酸序列的确定
1981	Randles等	拟病毒的发现
1982	Prusiner	阮病毒的发现
1982	Goelet等	TMV-RNA (Vulgare 株系)的核苷酸序列的确定
1983	Toh等	CaMV与人类乙型肝炎病毒反转录酶的N-末端保守区域同源
1984	Tien (田波)等	应用CMV卫星RNA作为生防制剂
1985	西口正道等	TMV弱株系(L11A)病毒RNA的核苷酸序列的确定
1987	Beachy等	将TMVU1株系的外壳蛋白基因转入烟草和番茄中,获得转基因植物
1990	裘维蕃等	阐明了植物病毒的人工免疫原理
1991	陈剑平等	小麦和性花叶病毒在禾谷多粘菌体内的存在和增殖的发现

何发现它、探究它并不断深化认识它呢?在此不准备细述,但有几个标志性的工作是值得一提的(表1—1)。

1. 传染性 在17—18世纪,人们从天花的迅速传播、流行和马铃薯退化种薯的传病现象中已经认识到病害的传染性。Anderson (1792) 建议通过拔除田间病株来防除马铃薯退化就是根据这一构思提出的。问题是如何证明它的传染性?第一个把烟草花叶现象命名为烟草花叶病的德国学者Mayer (1886), 采用毛细管玻璃针将病株汁液注射到健株叶脉中, 证明了这种病害能传染; 如将病株汁液煮沸, 就失去了传染性。1891年, Smith证明桃黄化病 (Peach Yellow) 可用嫁接方法传染, 而未见有真菌和细菌的迹象。但是传染性是病原微生物的共性, 这工作并未能把病毒和其它病原生物区别开来, 虽然Mayer按照Koch's法则并未找到任何细菌, 但仍坚持认为这种病害是由细菌所致。尽管如此, 两位学者所首创的人工接种传病方法, 却对后来直至今天的病毒研究仍十分有用。

2. 滤过性 1886年俄国学者加马列亚把患有牛瘟的牛血通过细菌滤器, 取其滤液感染健康小牛, 结果引起典型的牛瘟。1892年俄国的另一位学者Ivanowski把患有花叶病的烟草汁液通过细菌滤器, 取其滤液

感染健康烟草, 结果引起与原来病叶相同的花叶症状(图1—1); 进一步的反复继代感染, 也都出现相同的症状, 证实了Mayer的结论。

两位学者的试验方法正确、富有独创, 但是他们都得出了错误的结论, 认为是细菌或细菌毒素, 而始终没有认识到自己工作的重要意义, 甚至当Ivanowski读了荷兰学者Beijerinck (1898) 发表的论文之后, 也仍然拒绝接受他对这一发现的正确结论。相反, Beijerinck根据自己的试验所得, 不仅证实了Ivanowski的试验结果, 而且明确指出烟草花叶病的致病因子具有三种特性——能通过细菌滤器, 能通过琼脂扩散, 只能在感染细胞内增殖而不能在机体外培养。于是使他确信, 这种致病因子与其它病原物有本质的区别, 它不是细菌, 而是一种新的“传染活液”(Contagium vivum fluidum), 或者叫做“病毒”。由此可见, 在科学实践中, 仅仅有了新的发现还是不够的, 重要的是敢不敢或能不能面对自己发现的事实, 做出客观的分析, 提出恰当的新概念、新理论, 才予科学发展更为有益。Beijerinck就是这样, 因此他被认为是“真正的病毒学之父”(吉布斯等, 1976)。我们把病毒学作为一门科学, 也应该从Beijerinck的这一报告开始的。

3. 虫传性 病毒的自然传播, 最早受到注意的是水稻矮缩病, 此病于1883年在日本滋贺县被一位农民Hashimoto所发现, 他怀疑病害发生与叶蝉有关。1894年他试验证实了叶蝉能传此病, 但所属种类未作鉴定。1895年Takata首次报告了电光叶蝉 (*Recilia dorsa-*

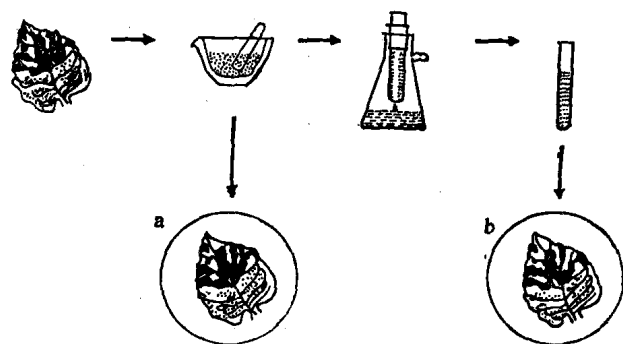


图1—1 Ivanowski的病毒滤过性试验
烟草病叶经研碎后汁液接种(a)和通过细菌滤器后滤液接种(b)
产生与原来病叶相同的症状
(仿平井笃造等, 1988)