

植物病原微生物的 电镜学研究及关键技术

Electron Microscopy of
Plant Pathogens and Essential Techniques

徐绍华 著



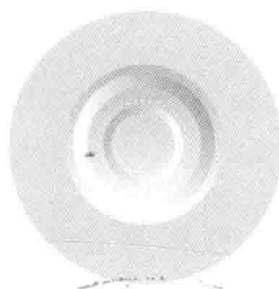
化学工业出版社

植物病原微生物的 电镜学研究及关键技术

Electron Microscopy of
Plant Pathogens and Essential Techniques

徐绍华 著

200nm



化学工业出版社

· 北京 ·

本书是一部囊括电镜方法学、病原物形态结构、细胞病理学三位一体的研究技术专著，内容源自作者35年的研究工作成果。共分两部分。第一部分为病原微生物的电镜观察，包括植物病毒、昆虫病毒、真菌病毒及类菌原体、类细菌体等，详细分析了感病细胞的结构及各种胞器的病理变化，病原物在细胞内的分布形式与侵染区域位置的定位等。第二部分阐述电镜制样技术的关键因素分析及策略，结合电镜方法学进行详细的描述和解读，包括负染技术、超薄切片技术、免疫电镜技术、放射自显影技术等。

本书收录珍贵的植物病原微生物电镜照片410多帧，文中提出了很多新的学术观点，如病毒及内含体与细胞膜系统（胞质膜、液泡膜、内质网膜、核膜、线粒体膜等）在侵染与复制中相互间的关联性，在菜豆畸矮病毒中发现世界最小的单链DNA病毒（直径9 ~ 11nm）等。

本书内容原创度高，可供生物学、植物病理等领域从事电镜学研究的人员阅读参考。

图书在版编目（CIP）数据

植物病原微生物的电镜学研究及关键技术 / 徐绍华著.
北京：化学工业出版社，2017.4
ISBN 978-7-122-29131-8

I. ①植… II. ①徐… III. ①植物-病原微生物-
电子显微镜分析 IV. ①S432

中国版本图书馆CIP数据核字（2017）第033953号

责任编辑：傅四周	文字编辑：向 东
责任校对：边 涛	装帧设计：王晓宇
出版发行：化学工业出版社（北京市东城区青年湖南街13号 邮政编码100011）	
印 装：三河市航远印刷有限公司	
787mm×1092mm 1/16 印张22 ¹ / ₂ 字数509千字 2017年7月北京第1版第1次印刷	
购书咨询：010-64518888（传真：010-64519686）	售后服务：010-64518899
网 址： http://www.cip.com.cn	
凡购买本书，如有缺损质量问题，本社销售中心负责调换。	

定 价：199.00元 版权所有 违者必究

植物病原微生物的電
鏡學研究暨關鍵技術

演覺



作者简介

徐绍华，1940年生，中国科学院微生物研究所高级工程师，中国农业科学院研究生院分子病毒学客座教授。主要从事病毒超微结构及细胞病理变化的电镜学研究和病原微生物的分离鉴定工作。参与多项国家级及市级重大攻关课题的研究，先后获中科院科技进步三等奖、中科院重大科技成果二等奖等。



序一 PREFACE

当我面对厚厚一摞文稿：410多帧照片及17万多字稿纸时，我脑子中浮现的是一位兢兢业业、气质睿智而谈吐不失幽默的资深研究员，文稿中照片之精美，文字书写之工整，犹如其正装革履、纹丝不乱之堂堂外表。

在阅读文稿过程中，可感受到字里行间透射出作者对电镜工作的热爱及高品质电镜图像的追求，其把手头的技术工作做得极致的科学工匠精神，其对美化程度的追求甚至可称为“艺匠”。

翻过末页，掩卷抬头，深为作者35年来辛勤耕耘所得到的累累硕果感到高兴和敬佩，这不仅是记录和承载了作者的科学生涯，而且从一个角度反映出中国科学院微生物研究所的植物病毒学/植物病理学研究的发展进程，从作者研究中前进的步伐可感受到学科发展跳动的脉搏。

纵观全文，可总结出两条鲜明的主线。

一是基础研究和应用研究的结合。这离不开在中科院大环境中的熏陶，面向科学前沿和面向生产实践一直是中科院办院方针的精髓。作者在研究植物DNA病毒中，既抓住当时国际上分子病毒学研究热点——双生病毒，又瞄准生产上危害严重的香蕉束顶病毒。在花椰菜花叶病毒方面的工作为实验室后来开发该病毒的35S启动子用于植物生物技术和基因表达的研究做了很好的铺垫。又如作者发现在被植物RNA病毒侵染的植物细胞核中有复制的现象，这对普遍认为植物RNA病毒在植物细胞质中复制的概念提出了挑战。作者根据田间病害发生的实际情况，将研究对象从病毒扩展到类病原体（MLO）和类细菌体（BLO），从植物寄主扩展到昆虫和真菌，这不仅是技术上的挑战，也是学术领域的拓展。

二是精美的电镜照片与实用的电镜技术相结合。作者以自己多年的经验，从取样到包埋，从切片到染色，从免疫法到放射自显影，详尽地叙述了操作要点和技术细节，可以说是“以身相许”、全盘托出，循循善诱之心溢于言表，读起来很有亲切感。如此详细的电镜技术介绍，使有心的读者不仅获得了有关病毒和病原体的知识，而且有了自己动手操作

的蓝本，这在国内外病毒图鉴的书籍中是少见的。

总之，这是一本介绍植物病毒和其他病原体的科技书，是一本学用二便的书，是一本承载了作者多年成果和经验的书，是一本给人启迪、催人奋进的书，我作为作者多年的同事和挚友，得以阅读此书的先机并乐于写下心意为序。



中国科学院微生物研究所研究员，中国科学院院士

方荣祥

2017年2月

序二 PREFACE

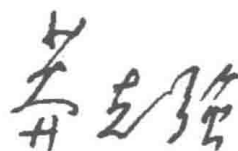
《植物病原微生物的电镜学研究及关键技术》这本书有如下三大特点。

① 研究对象广阔：包括植物病毒、真菌病毒、类菌原体（mycoplasma-like organism, MLO）和类细菌体（bacterium-like organism, BLO），如土传小麦花叶病毒（SBWMV），唐菖蒲花叶病毒（gladiolus mosaic virus，北京、深圳、沈阳分离株）、交脉蚜、海带叶卷病、枣疯病、香蕉花叶病毒、蚕豆萎蔫病毒、木瓜环斑病毒（papaya ringspot virus）等20多种，多是我国流行的病原微生物。

② 研究内容广泛：不仅是病毒、MLO、BLO的电镜形态观察，也包括感病细胞的细胞器的病变，病毒在细胞中的存在方式等。此外，还介绍了电镜制样技术中的一些关键因素，如取材问题，超薄切片技术，电镜负染技术，电镜放射自显影技术，样品树脂包埋技术，切片染色过程中如何控制污染，病毒提纯液负染技术与提纯技术相关性等问题。

③ 最宝贵的是该书所介绍的方法和经验，都是作者30多年亲身实践的总结，是自拍1000多张电镜图片与电镜制样技术中有独创性实践经验的总结，而不是国内外已发表资料的汇总。因此，有不少新发现，如菜豆畸矮病毒是最小的单链DNA病毒，海带叶卷病的病叶表皮细胞的电镜图像等等。

上述三大特点能帮助初学者较快地入门，使熟练者获得更多的启发和借鉴，希望能帮助读者对病毒研究与电镜技术获得一些新颖的了解，并能将研究与技术两者达到相融兼顾的水平。



中国科学院微生物研究所研究员

莽克强

2017年1月

前言

FOREWORD

此时完成这部专著，笔者已是古稀过半之人了。唯一的动力还是来自在中国科学院微生物研究所，35年的科研实践所积累的千余幅电镜图片资料，与在电镜制样技术中具有独创性的实践经验总结，如果让它随时光的流逝而灭迹，那将是人生最大的遗憾。因为知识技能的积累，是属于社会的，而不是私产，所以应该让更多的人分享、借鉴，并有更大的发展，这一心愿也正是本书问世的原动力。

谈到积累二字，又使我不能不提在我人生事业成长的道路上，不能忘记的三个人，他们是微生物所电镜室的奠基者徐浩先生，病毒研究室前主任莽克强研究员和现主任方荣祥院士。正是他们的认可与支持，使我成为当时我所唯一的例外，作为研究室人员可进入电镜技术室直接操作使用LKB超薄切片机、电子显微镜和同位素实验设备。正是这一特殊的身份，才使我得以把本应分隔的两个不同的工作体系自然贯通于一人身上，使病毒学研究的各项技术与电镜技术融会贯通成一个整体，使从病毒学症状调研开始，直至样品采集、生物学检测、病毒提纯鉴定、电镜样品制备、超薄切片、放射自显影、电镜观察、图片分析等众多的环节，始终由一人完成。所以在数十年的科研实践中能有大量的经验积累，不能否认是受益于这个特殊的身份所给予我的这个独具优势的实验环境。

除客观的优越条件外，有无笔者内因的条件呢？回答很简单，就是“珍爱”与“细节”四个字，珍惜难得的机遇，热爱自己的工作，在实验过程中注意细节的变化，一个成功的科技工作者（包括其他行业工作者）必须是一个注重细节的人，这一理念也是本书将要阐述的重点。

在写作过程中也曾有过犹豫、彷徨。曾有好心的同事善意地提醒，在21世纪的今天，生物学领域已进入分子水平和基因工程时代，此时撰写与电镜技术相关的细胞病理变化的专著是否有过时之感。这一席话使我沉静了一段时间，但深思之后，还是坚定了写下去的决心，原因是虽然人们已把21世纪定义为生物工程世纪，病毒学研究也已进入了分子水平，如核酸测序，基因的重组、表达、编码、调控等新技术的研究已成潮海之势，但客观地说这只是科学发展的不同阶段，在科研领域中不应该存在贵贱高低之分，前沿学科与基础学科是相辅相成的，越是在分子水平的高端时代，就越不能忽视细胞水平的研究发展。因为从理论上讲，所有生命现象的解释最后都要回到细胞内才能得到终极的解答。同样，所有的生物大分子所表现的各种属性，也只有在细胞体系里才能真正反映出生命的意义，

所以不能忽视作为生物体最基本的结构单位即细胞的具体反应。从生命科学的角度看，细胞作为一个独立的整体而存在，分子对于细胞来说总是从属关系，二者是相辅相成又是不可分的，而电镜技术在其中承担着不可取代的作用，所以笔者相信随着生命科学研究的不深入，本书内容也将会逐渐显现出可供借鉴参考的价值。这也可算是完成此书的第二动力吧。

在本书出版之际特向多位朋友的支持与帮助表示由衷的感谢。

感谢方荣祥院士对本书的内容进行了精心的修正，并作序。

感谢莽克强教授对本书的内容提出很多宝贵意见，并作序。

感谢马筠副教授给予的合作与支持。

感谢赵胜桃、王忠勤两位年轻朋友为本书的图文录入和整理做了大量工作。

感谢韩雪峰挚友为本书的出版提供的全力支持与帮助。

感谢中国佛教学会驻会副会长、北京广济寺方丈演觉法师为本书题写书名。

著 者

2017年5月

第一章 土传小麦花叶病毒的电镜研究 / 001

一、概论 / 002

二、电镜观察 / 002

1. 负染的病毒粒子（杆状）/ 003
2. 单体细胞的放大 / 003
3. 胞质内的病毒 / 003
4. 病毒的纵横切面 / 003
5. 放大的病毒横切 / 003
6. 健株的叶绿体 / 004
7. 病株的叶绿体 / 004
8. 淀粉粒淤积 / 005
9. 叶绿体多种病变形态 / 005
10. 叶绿体片层解体 / 005
11. 病健细胞核对比 / 005
12. 细胞核畸变 / 006
13. 结晶状内含体 / 007
14. 不定形体与髓鞘样结构 / 007

第二章 唐菖蒲花叶病毒（北京分离株）的电镜观察 / 023

一、概论 / 024

二、电镜观察 / 025

15. 负染的病毒粒子（特长杆状）/ 025
16. 表皮细胞的不同变化 / 025
17. 表皮细胞的局部放大 / 025
18. 筛管细胞中的核损伤 / 025
19. 胞质区的病毒分布 / 026
20. 病毒与质膜、液泡膜的相关性 / 026
21. 细胞核严重病变 / 026
22. 细胞核解体，次生液泡增生 / 027
23. 线粒体增殖、空泡化 / 027
24. 结晶状内含体 / 027

第三章 唐菖蒲花叶病毒（深圳分离株）的电镜观察 / 039

一、概论 / 040

二、电镜观察 / 040

目录

CONTENTS

此为试读, 需要完整PDF请访问: www.extongbook.com

25. 负染的病毒粒子 (线状) / 040	
26. 内含体侵蚀核膜 / 040	
27. 多个细胞内的病毒及内含体 / 041	
28. 病毒内含体与线粒体 / 042	
29. 线粒体内外膜崩解 / 042	
30. 叶绿体、线粒体畸变 / 042	
31. 线粒体增生 / 043	
32. 线粒体、叶绿体严重损伤 / 044	
33. 细胞核崩解 / 044	
34. 病毒内含体侵入细胞核 / 045	
35. 细胞核畸形, 核膜瓦解 / 045	
36. 病毒在胞质区的分布 / 045	
37. 结晶状内含体 / 045	
第四章 唐菖蒲花叶病毒 (沈阳分离株) 的电镜观察 / 060	
一、概论 / 061	
二、电镜观察 / 061	
38. 负染的病毒粒子 (线状) / 061	
39. 多个细胞内的病毒及内含体 / 061	
40. 病毒、内含体与线粒体解体 / 061	
41. 病毒、内含体与叶绿体崩解 / 062	
42. 线粒体、叶绿体解体与不定形体、环状物 / 062	
43. 多个细胞中线粒体受损 / 063	
三、小结 / 063	
第五章 大豆花叶病毒超微结构的研究 / 070	
一、概论 / 071	
二、电镜观察 / 071	
44. 负染的病毒粒子 (线状) / 071	
45. 完整的风轮内含体 / 071	
46. 管状、卷轴状内含体 / 072	
47. 带状、束状内含体与病毒粒子 / 073	
48. 内含体在胞质内的分布 / 073	
49. 细胞核、叶绿体严重病变 / 073	
50. 风轮内含体侵入细胞核 / 074	

- 51. 细胞核内的不定形体、与液泡膜相融 / 074
- 52. 线粒体畸变、大量增生 / 075
- 53. 环状内含体、髓鞘样结构 / 075

第六章 四季参卷叶病毒的电镜观察 / 086

一、概论 / 087

二、电镜观察 / 087

- 54. 完整的风轮内含体 / 087
- 55. 病毒在细胞内的分布 / 088
- 56. 核膜上见风轮内含体 / 088
- 57. 细胞核畸变 / 089
- 58. 叶绿体畸变 / 089
- 59. 畸形的叶绿体、球状体外溢 / 090
- 60. 淀粉粒淤积, 病毒侵染胞壁 / 090
- 61. 叶绿体横切面及多泡体结构 / 091

第七章 玉米矮花叶病毒的电镜观察 / 100

一、概论 / 101

二、电镜观察 / 101

- 62. 特殊形态的风轮状内含体 / 101
- 63. 内含体在细胞内的分布形式 / 102
- 64. 线粒体、叶绿体严重畸变 / 102
- 65. 叶绿体崩解散落过程 / 103
- 66. 细胞核的病变 / 103

第八章 木瓜环斑病毒的电镜观察 / 110

一、概论 / 111

二、电镜观察 / 111

- 67. 负染的病毒粒子 / 111
- 68. 筛管细胞中的风轮状内含体 / 112
- 69. 胞质内的风轮、卷轴、环状内含体 / 112
- 70. 质膜、液泡膜附近的病毒内含体 / 112
- 71. 线粒体崩解与囊泡结构 / 113
- 72. 细胞核、线粒体周边的风轮状、环状内含体 / 113
- 73. 细胞壁、胞间联丝结构畸变 / 114
- 74. 叶绿体片层结构解体, 胞壁崩解 / 114

目录

CONTENTS

- 75. 叶绿体片层结构异变及多层环状结构 / 114
- 76. 细胞结构破损及大量囊泡、环状物 / 115
- 77. 细胞核的严重病变 / 115
- 78. 畸形的细胞核呈分枝状 / 115
- 79. 多层环的髓鞘样结构 / 115

第九章 蚕豆萎蔫病毒的电镜观察 / 130

一、概论 / 131

二、电镜观察 / 131

- 80. 负染的病毒粒子（球状）/ 131
- 81. 病毒结晶聚集体 / 132
- 82. 褪绿斑症状区病毒聚集体 / 132
- 83. 病毒聚集体形成的不同阶段 / 132
- 84. 褪绿斑症状区的板式结晶体 / 132
- 85. 病毒聚集体的形成过程 / 132
- 86. 褪绿斑症状区结晶状内含体 / 132
- 87. 细胞核内的病毒聚集体 / 133
- 88. 病毒聚集体侵入细胞核，线粒体增生 / 133
- 89. 核仁区见病毒粒子 / 133
- 90. 病毒多种形式分布于胞质区及囊泡、管状结构 / 134
- 91. 病毒聚集线粒体周围 / 134
- 92. 线粒体与多层环状内含体的相关性 / 135
- 93. 细胞中的高尔基体 / 135

第十章 花椰菜花叶病毒的电镜观察 / 151

一、概论 / 152

二、电镜观察 / 152

- 94. 负染的病毒粒子（球状）/ 152
- 95. 病毒以包含体形式存在于细胞中 / 152
- 96. 包含体病毒与多泡体结构 / 152
- 97. 包含体在细胞内的分布与胞间联丝的相关性 / 153
- 98. 细胞中的膜状体结构 / 153
- 99. 质膜系统受损，胞间联丝畸变 / 154
- 100. 多泡体与质膜系统的相关性 / 154
- 101. 髓鞘样结构的两种形态 / 155
- 102. 髓鞘样结构与胞质膜、液泡膜的相关性 / 155

第十一章 菜豆畸矮病毒的电镜观察 / 166

一、概论 / 167

二、电镜观察 / 167

- 103. 负染的病毒粒子（球状）/ 167
- 104. 细胞核内的病毒粒子 / 167
- 105. 完整的表皮细胞中病毒的分布，结构的变异 / 168
- 106. 细胞核内大量的病毒颗粒及不定形体 / 168
- 107. 细胞核、线粒体周边密集大量病毒 / 168
- 108. 核膜孔破裂，内质网增生、畸变 / 168
- 109. 细胞核膜、线粒体内外膜密集大量病毒 / 168
- 110. 病毒与组织内膜结构紧密相连 / 169
- 111. 病毒在胞质区内不同的分布形式 / 169
- 112. 呈长轨式排列的病毒 / 170
- 113. 放大的病毒在细胞内的存在形式 / 170
- 114. 病毒以叠加的形式形成结晶团块 / 170
- 115. 病毒密集于线粒体、液泡膜周边，见髓鞘样结构 / 170
- 116. 液泡膜上密集病毒与结晶聚集体 / 170

第十二章 白粉虱体内菜豆畸矮病毒的电镜观察 / 185

一、概论 / 186

二、电镜观察 / 186

- 117. 白粉虱唾腺体细胞结构 / 186
- 118. 细胞结构的局部放大 / 186
- 119. 弥散分布于胞质中的病毒 / 186
- 120. 弯曲的管状结构上排列着病毒 / 187

第十三章 香蕉花叶病的电镜观察 / 192

一、概论 / 193

二、电镜观察 / 193

- 121. 负染色与组织切片中的病毒粒子（杆状）/ 193
- 122. 免疫电镜技术下的病毒形态特征 / 194
- 123. 感病细胞结构的病理变化 / 194
- 124. 细胞核的畸变 / 194
- 125. 细胞中呈三角形的结晶状内含体 / 195
- 126. 线粒体大量增生与六角形结晶状内含体 / 195
- 127. 输导组织中的质膜体结构 / 195

目录

CONTENTS

第十四章 香蕉束顶病的电镜观察 / 204

一、概论 / 205

二、电镜观察 / 205

128. 香蕉叶脉输导组织中的BLO / 205

129. 茎段输导组织中的BLO / 206

130. 分裂式繁殖的BLO / 206

131. 类细菌体典型的细胞壁结构 / 206

132. BLO的不同形态 / 207

133. BLO二分裂式的繁殖方式 / 207

134. 负染色的BLO颗粒 / 207

第十五章 交脉蚜体内类细菌体的电镜观察 / 216

一、概论 / 217

二、电镜观察 / 217

135. 唾腺体内脂肪滴及不定形体 / 217

136. 口器中的BLO颗粒 / 217

137. 口器中多形态的BLO / 217

138. BLO颗粒的纵横切面 / 217

第十六章 海带叶卷病的电镜观察 / 222

一、概论 / 223

二、电镜观察 / 223

139. 海带叶部细胞全图 / 223

140. 海带叶脉组织中多形态类菌原体 / 225

141. MLO袋状式的聚集, 从胞间联丝中通过 / 225

142. 二分裂式的繁殖过程 / 226

第十七章 枣疯病的电镜观察 / 231

一、概论 / 232

二、电镜观察 / 232

143. 韧皮部细胞MLO的分布情况 / 232

144. 根部输导组织中的MLO颗粒 / 232

第十八章 聚合草矮缩病的电镜观察 / 236

一、概论 / 237

二、电镜观察 / 237

- 145. 筛管细胞中多形态的MLO颗粒 / 237
- 146. 茎段表皮细胞中的螺旋丝状体及分裂式繁殖过程 / 237
- 147. MLO颗粒从胞间联丝中通过 / 237
- 148. 细胞核的特异变化 / 238

第十九章 黄地老虎颗粒体病毒的超微结构 / 244

一、概论 / 245

二、电镜观察 / 245

- 149. 脂肪体内颗粒体病毒的分布 / 245
- 150. 病毒的形态结构组成 / 245
- 151. 颗粒体病毒双粒子核髓的排列方式 / 246
- 152. 病毒在昆虫体内装配的全过程由病毒基质聚集开始 / 246
- 153. 逐步形成病毒核髓 / 246
- 154. 形成完整的病毒粒子, 开始套装蛋白外壳 / 246
- 155. 颗粒体病毒装配的全过程分解图示 / 247

第二十章 大菜粉蝶颗粒体病毒的超微结构 / 255

一、概论 / 256

二、电镜观察 / 256

- 156. 颗粒体病毒体内装配的初始阶段 / 256
- 157. 形成病毒粒子 / 257
- 158. 套装蛋白外壳最后形成完整的病毒 / 257
- 159. 病毒的形态特征 / 257
- 160. 双粒子的包含体结构 / 257
- 161. 颗粒体病毒纵、横切面的标准图像 / 257

第二十一章 感染病毒的小麦全蚀菌超微结构 / 265

一、概论 / 266

二、电镜观察 / 267

- 162. 培养7天的小麦全蚀菌形态结构 / 267
- 163. 培养20天的菌体结构 / 267
- 164. 小麦全蚀菌形态结构特征 / 267
- 165. 菌体细胞核、核膜区出现破损 / 267
- 166. 菌体的细胞壁结构特征 / 267

目录

CONTENTS