

ZHIWU
BINGDUXUE
GAIYAO

[澳]A.J.吉布斯 [英]B.D.哈里森 著

植物病毒学概要

上海科学技术出版社

植物病毒学概要

〔澳〕A. J. 吉布斯 〔英〕B. D. 哈里森 著

中国科学院上海生物化学研究所病毒组 译

张友尚 校

上海科学技术出版社

Plant Virology

The Principles

A. J. Gibbs

B. D. Harrison

Edward Arnold 1976

植物病毒学概要

〔澳〕A. J. 吉布斯 〔英〕B. D. 哈里森 著

中国科学院上海生物化学研究所病毒组 译

张友尚 校

上海科学技术出版社出版

(上海瑞金二路450号)

新华书店上海发行所发行 上海中华印刷厂印刷

开本 787×1092 1/16 印张 16.5 插页 14 字数 380,000

1982年11月第1版 1982年11月第1次印刷

印数: 1—6,150

统一书号: 13119·980 定价: (科五)2.30元

译 者 的 话

国际著名植物病毒学家 Adrian Gibbs(澳大利亚)和 Bryan Harrison(英国)所著《植物病毒学概要》是一本深受读者欢迎的书籍。作者根据植物病毒学研究的进展,较系统地介绍植物病毒学的基本知识。叙述了病毒的成分和结构,病毒在植物体内的作用,病毒株系和传播,病毒的生态学和防治途径;并介绍了几种近代研究方法:病毒的提纯,抗血清的制备和应用技术,病毒试验中的物理和化学方法等。本书可供植物病毒研究工作者和有关专业大专院校师生参考。

中国科学院上海生物化学研究所曹天钦教授向译者们介绍了本书。译文由张友尚教授审阅校订。

参加本书翻译工作的有(按姓氏笔划为序):朱本明、孙玉昆、邹永水、陈作义、龚祖坝、熊立民、戴仁鸣等同志。

为保持原书的系统性,原书的序言、附录部分以及全书的参考文献均一一保留,以便读者查阅。原书所附“病毒名称索引”包括病毒、类似病毒病原和病毒组等,翻译为中英文对照的“病毒名称”,附列书后,以供参考。原书中的总索引和致谢部分均省略了。

本书的病毒名称大多参照《病毒名称》(科学出版社,1979)和《病毒的分类与命名》(澳)F.芬纳编著、廖延雄等译(科学出版社,1980)的命名译出。

书中一些电子显微镜照片等,为求图片清晰,集中于书末,采用图版印刷。

本书内容丰富,涉及植物病毒学知识面较广,引用材料也较全面,由于译者水平有限,错误之处在所难免,敬请读者批评指正。

译 者

一九八〇年十月于中国科学院上海生物化学研究所

原版序言

我们是受已故 Frederick Bawden 先生的引导而喜爱病毒工作的。Frederick Bawden 先生的具感染力的热忱、广博的知识和清晰的思路所产生的影响，只有少数年青研究工作者有幸能蒙受其教益。

后来，当我们要把自己的知识传授给别人时，我们发现还没有一本适合于大学生或早期研究生的介绍植物病毒学一般内容的书籍，而缺少这种书籍可能会使英国（也许还有别处）大学里对植物病毒研究的兴趣相应减少。虽然这方面已有其他著作，可是对这门学科所需要的基础知识来讲，内容不是太专，就是较烦琐。我们编写本书是弥补这个缺陷的一个尝试。本书对象不仅是那些植物病毒的专门研究者，而且也包括那些对普通生物学有兴趣者。我们认为用植物病毒进行实验，能以一种有趣而实际的方式向学生介绍生物化学、遗传学、大分子及机体生态学等多方面的研究，而用其他材料进行考察则往往是比较困难的。

我们的目的是叙述和讨论所发现的主要现象和使用的方法，并不试图讨论关于植物病毒的整个领域，也不讨论个别作物的病毒。在书末列出了引用的参考文献，其中一些是原始文献，另一些则为较近的总结。虽然我们的选择可能有些任意性，但是大多数的重要文献都已包括在内。在附录中还刊出了综述、书籍的目录和从事病毒工作所需要的其他资料。一般地说，本书对概括病毒性质和详述特定病毒资料的《植物病毒志》(C. M. I. / A. A. B. Descriptions of Plant Viruses) 和 Noordam(1973)所描述的一些实际操作，都有所补充。

在书中，我们都用 Martyn(1968, 1971)所整理的植物病毒的俗名，并列出现每种病毒的密码。书中提到的病毒及其密码，在“病毒名称索引”中列出。书中烟草花叶病毒均缩略为 TMV，核糖核酸缩略为 RNA，脱氧核糖核酸缩略为 DNA。

我们要感谢许多人对本书著作给予帮助。我们自己实验室和其他实验室的同事慷慨地提供了许多照片，其中一些未曾发表过，这在插图说明中均已注明。我们特别要感谢苏格兰园艺学研究中心的 Ian Roberts 和 Rothamsted 试验站的 Roy Woods，没有注明作者的大部分电子显微镜照片都是他们提供的，其他没有注明来源的照片取自 Rothamsted 试验站、苏格兰园艺学研究中心和澳大利亚国立大学。我们感谢出版机构的摄影人员和科学绘图者不辞辛劳的帮助。我们也要感谢帮助本书打字、编制索引和校对的人，特别是英弗高里(Invergowrie)的 Margaret Campbell 和堪培拉(Canberra)的 Teresa Radford。最后，我们要感谢 Pat Gibbs 和 Elizabeth Harrison 在本书编写期间给予大力支持。

A. J. 吉布斯

B. D. 哈里森

堪培拉(Canberra)和邓迪(Dundee), 1975

(朱本明译)

目 录

第 1 章 植物病毒学的历史和范围	1	4.2.1 嫁接传播	24
1.1 病毒学和病毒	1	4.2.2 利用菟丝子传播	25
1.2 病毒的本质	2	4.2.3 机械摩擦接种传播	26
1.3 植物病毒侵染的专一特征	4	4.3 利用媒介传播	30
1.4 植物病毒在自然界中如何传播	5	4.3.1 媒介的饲养	30
1.5 植物病毒学的重要性	6	4.3.2 处理媒介	32
第 2 章 植物病毒及其名称	8	4.3.3 利用媒介获得病毒	32
2.1 命名	8	4.3.4 试验或诱饵植物	33
2.2 某些病毒和病毒组	9	4.4 侵染培养细胞	34
2.2.1 具有螺旋结构的管状或纤维状质粒的病毒	10	4.4.1 植物细胞	34
2.2.2 球形病毒	12	4.4.2 昆虫细胞	34
2.2.3 具有杆状或弹状质粒的病毒	15	4.5 污染	35
2.2.4 类病毒	16	第 5 章 植物病毒质粒的组成和结构	36
2.3 结论	16	5.1 植物病毒质粒的组成	36
第 3 章 病毒对植物的影响	17	5.2 核酸的组成和结构	36
3.1 一般特征	17	5.3 蛋白质的组成和结构	42
3.2 对植物外观状态的影响	18	5.4 类脂质	46
3.2.1 坏死	18	5.5 病毒质粒的结构	46
3.2.2 对植物形态学、生长程度和类型的影响	18	5.5.1 球状病毒	47
3.2.3 对植物颜色的影响	19	5.5.2 螺旋结构的质粒	50
3.3 对植物组织学和细胞学方面的影响	19	5.5.3 复杂病毒	51
3.4 对寄主生理学方面的影响	21	5.5.4 未知结构的质粒	51
3.5 其他原因引起的类似病毒病症状	22	5.6 病毒质粒解离为它们的组成部分	52
第 4 章 传播实验	23	5.6.1 病毒核酸的制备	52
4.1 一般特点	23	5.6.2 病毒蛋白质的制备	53
4.2 由实验者接种植物	24	5.7 病毒质粒在体外的重装配	53
		5.7.1 TMV 质粒的重装配	53
		5.7.2 雀麦花叶病毒组病毒质粒的重装配	55
		第 6 章 病毒质粒的纯化和纯化制	

剂的一些性质	57	8.5.2 叶绿体、乳胶和红血球凝聚试 验	84
6.1 病毒纯化的原理	57	8.5.3 试管沉淀试验	85
6.2 病毒的繁殖	58	8.5.4 定量沉淀试验	88
6.3 从植株中抽提病毒	58	8.5.5 补体结合试验	88
6.3.1 缓冲液	58	8.5.6 环状界面试验	88
6.3.2 其他添加物	59	8.5.7 凝胶扩散试验	89
6.4 分离纯化含病毒的抽提液	60	8.5.8 免疫渗透电泳	90
6.4.1 离心	60	8.5.9 抗体示踪技术	91
6.4.2 限制性扩散: 透析和凝胶层析	62	8.5.10 感染力中和试验	91
6.4.3 电泳	62		
6.4.4 液体的两相体系	63	第 9 章 物理化学的分析测定方法	93
6.4.5 加热	63	9.1 化学方法	93
6.4.6 沉淀剂	63	9.1.1 蛋白质	93
6.4.7 吸附剂	64	9.1.2 核酸	94
6.4.8 抗宿主血清	65	9.1.3 其他化合物	94
6.5 病毒制剂的浓缩	65	9.1.4 放射性示踪剂	94
6.6 纯化途径	66	9.2 酶的方法	95
6.7 纯化的病毒制剂	66	9.3 光学方法	96
6.7.1 悬浮介质	66	9.3.1 光散射	96
6.7.2 保存	66	9.3.2 对偏振光的影响	96
6.7.3 病毒质粒制剂的组分	66	9.3.3 折射率	97
6.7.4 病毒基因组核酸制剂的组分	68	9.3.4 光吸收	97
6.7.5 病毒质粒和病毒核酸性质的比 较	69	9.3.5 荧光	99
6.8 植物病毒的结晶作用	70	9.4 离心	100
第 7 章 侵染性鉴定	72	9.4.1 基本知识	100
7.1 基本情况	72	9.4.2 离心的方法	101
7.2 侵染性试验的类型	73	9.4.3 离心数据的使用与解释	102
7.3 接种浓度	74	9.5 电泳	105
7.4 试验设计	75	9.5.1 病毒质粒的电泳	105
7.5 结果分析	76	9.5.2 病毒的蛋白质与核酸	105
第 8 章 血清学方法	79	9.6 扩散	106
8.1 原理	79	9.7 电子显微镜	107
8.2 植物病毒的抗原性	80	9.7.1 引言	107
8.3 血清学试验的应用	81	9.7.2 电子显微镜技术与方法	107
8.4 抗血清的制备	81	9.7.3 定量测定	109
8.4.1 影响抗血清中抗体内容的因素	82	9.7.4 图像分析	109
8.4.2 抗血清的收集和贮藏	83	9.8 X-射线衍射的研究	110
8.5 血清学技术	84	9.9 分析方法的灵敏度	110
8.5.1 基本原理	84	第 10 章 钝化剂对病毒的作用	111
		10.1 汁液性质的常规检验	111
		10.1.1 稀释终点	111

10.1.2 热钝化点	111	12.4.2 比较病毒时所用的一些性质 ..	148
10.1.3 活体外存活终点	111	12.4.3 分类方法	151
10.2 病毒质粒在体外的钝化	112	12.4.4 用电子计算机分类	152
10.2.1 物理钝化物	112	12.4.5 组中病毒的亲缘性; TMV 组...	154
10.2.2 物理化学钝化	115	12.4.6 病毒组的描述	158
10.2.3 化学和生物化学钝化	116	12.4.7 分类的用处, 病毒的鉴定	158
10.3 侵染作用的抑制剂	118		
第 11 章 病毒在植物中的表现	119	第 13 章 通过媒介以及其他自然途	
11.1 引言	119	径传毒	161
11.2 感染的早期阶段	120	13.1 无媒介传毒	161
11.3 病毒复制的生物化学	122	13.1.1 接触传毒	161
11.3.1 病毒核酸的合成	122	13.1.2 种子与花粉传毒	161
11.3.2 病毒蛋白合成	125	13.2 媒介传毒	162
11.4 病毒复制以及病毒质粒的		13.2.1 在生物体的分布范围	162
装配和蓄积所在的细胞部		13.2.2 有关病毒及其媒介研究的术	
位	128	语	164
11.5 病毒在植物中的移动和蓄		13.2.3 蚜虫传毒	165
积	130	13.2.4 叶蝉, 飞虱与角蝉传毒	168
11.5.1 移动	130	13.2.5 粉虱传毒	169
11.5.2 蓄积	131	13.2.6 鞘翅目甲虫传毒	170
11.6 混合感染植物中病毒的相		13.2.7 其他昆虫传毒	170
互作用	133	13.2.8 螨类传毒	171
11.6.1 相关病毒	134	13.2.9 线虫传毒	172
11.6.2 不相关病毒	136	13.2.10 真菌传毒	173
11.7 病毒复制的抑制剂	136	13.2.11 媒介传毒的专一性	174
第 12 章 变异、株系和分类	138	13.2.12 有赖第二种病毒的传毒	176
12.1 植物病毒变异株的类型	138	第 14 章 病毒生态学	178
12.2 变异株的产生和维持	139	14.1 引言	178
12.2.1 鉴定和分离变异株的方法	139	14.2 农作物的病毒源和病毒媒	
12.2.2 用实验方法产生突变株	140	介	178
12.2.3 用实验方法产生假重组	142	14.2.1 栽培材料	178
12.2.4 缺陷和缺失变异株	143	14.2.2 带毒媒介或前茬遗留的感病	
12.2.5 互补变异株, 异种外壳质粒	144	植株	178
12.2.6 自发的或天然变异株	144	14.2.3 被媒介从作物生长地以外的	
12.3 遗传分析	145	毒源携来的病毒	179
12.3.1 TMV 外壳蛋白变异株	145	14.3 病毒在作物上蔓延的形式	
12.3.2 TMV 基因图	146	和数量	182
12.3.3 多基因组病毒的假重组株	147	14.3.1 传毒媒介的活动	182
12.4 病毒的分类; 目的、方法和		14.3.2 发病率的模式和梯度	182
用途	148	14.3.3 流行传染的过程	185
12.4.1 目的	148	14.4 影响病毒在作物中蔓延的	
		因素	185

14.4.1 农艺学因素和寄主因素	185
14.4.2 病毒和媒介因素	186
14.5 自然界里主要媒介的发现	187
14.6 无媒介传染的病毒	189
14.7 生态系统	189
14.8 病毒感染对其他植物病原体的作用	190
第 15 章 预防作物减产的方法	191
15.1 病毒感染对产量的影响	191
15.2 防止减产的途径: 理论基础	192
15.3 无毒种植材料的获得	192
15.3.1 简单的方法	192
15.3.2 热处理	193
15.3.3 顶端分生组织和顶梢的培养	193
15.3.4 化学治疗	194
15.4 作物的外界毒源和外界媒介源的控制	194
15.5 制止病毒侵入作物及在作物里蔓延	195
15.5.1 农业措施	195
15.5.2 鉴定制度	196
15.5.3 植物的种类	196
15.5.4 无毒株病毒的预防接种	198
15.5.5 保护作物的化学药物	198
15.5.6 其他各种材料	200
15.6 结论	201

第 16 章 高等植物以外的有机体的病毒, 病毒的起源	202
16.1 病毒的寄主	202
16.2 原核生物的病毒	203
16.3 低等植物的病毒	205
16.3.1 藻类病毒	205
16.3.2 真菌病毒	205
16.3.3 其他植物的病毒	208
16.4 动物病毒	209
16.4.1 节肢动物的病毒	209
16.4.2 脊椎动物的病毒	210
16.4.3 其他动物的病毒	212
16.5 病毒的起源	213
第 17 章 与病毒混淆的植物病原	216
17.1 病原范围	216
17.2 菌原体的特性	216
17.3 侵染植物的类菌原体	217
17.3.1 特性	217
17.3.2 对植物的作用	219
17.3.3 传病媒介中的类菌原体	220
17.3.4 生态学和控制	221
17.4 类立克次氏体病原	222
参考文献	223
附录	239
图版	251

第 1 章

植物病毒学的历史和范围

1.1 病毒学和病毒

病毒学一词意指“病毒的研究”。因此,植物病毒学就是指对侵染植物的病毒的研究。植物病毒引起的影响或症状是多种多样的,并且可以在很多种植物中发现,其中包括大多数在经济上非常重要的植物。如将病毒侵染的植物和未受病毒侵染的植物相比,前者可能矮缩,生长形式不正常,它们的色素形成也有变化,以至在叶片上可能出现亮绿和暗绿相嵌的区域。关于由病毒侵染而引起的这些症状将在本书第 3 章中介绍。

现在仍然不了解病毒的起源,没有理由可以相信,我们现代发现的病毒是最近才存在的。在一些最早期的著作中,曾经提到一种似乎是天花的人类疾病,其他一些病毒性疾病在几世纪以前也曾有所记录。关于植物病毒病第一个令人信服的记录是关于郁金香的花裂现象。没有一种病毒病曾用插图较好地表现过,在十七世纪早期,荷兰名画家所作的静物画中,就常有受病毒感染的郁金香花卉(图版 1)。在那时,荷兰人对病毒侵染植株后形成的具条斑花朵比未被侵染的单色花更为珍视。Dubos(1958)曾描述了当时流行的“郁金香热”,叙述一株受侵染植株的球根可以换到数头公牛、猪或绵羊,几吨谷物,成千磅干酪,甚至一个磨坊。一个年青的姑娘以有一簇感染的花株作为她的嫁妆而感到幸福。

一些荷兰的郁金香种植者当时已经知道,如果将正常郁金香的球根接种到已有花裂现象的植株球根上,可以诱发花卉的条斑。但是直到 1886 年,才第一次介绍了有关植物病毒的传毒试验。一位在荷兰工作的德国人 Adolf Mayer 发现,用已受侵染植株的叶脉连同它的汁液注射进烟草,能够引起后者的花叶病(图版 2)。他还发现,如果将汁液煮沸,会使侵染因子失活。但是从这些和其他的一些实验,Adolf Mayer 却断定,烟草花叶病是由细菌引起的。

当时在克里米亚工作的俄国人 Dmitrii Ivanowski 完成了此后的一些关键性实验。1892 年,他报道证实了 Mayer 的传毒试验,而且还进一步发现,烟草花叶病的病原物可以通过微孔漏斗,而这样的微孔足以阻止细菌滤过。虽然 Ivanowski 也发现了“对细菌发展非常有利的一些液体,在经过这一漏斗过滤后的几个月内,可以完全不起变化,”但是他并未认识到他的实验结果的重要性,还认为他的过滤漏斗可能有缺陷。在当时, Pasteur 关于细菌引起疾病的见解显得如此突出,因而 Ivanowski 的怀疑是完全可以理解的。直到荷兰人 Martinus Beijerinck 根据他自己和 Ivanowski 的实验结果,才推断烟草花叶病的病原物是某些新的东西。1898 年,Beijerinck 证实了 Mayer 的观察结果,并且如同 Ivanowski 一样,他发现烟草花叶病病原能够通过瓷漏斗,而且还证明了这一病原物能扩散进琼脂凝胶。这些实验和其他一些实验使他确信,这种无从捉摸的病原物并不是细菌,而是一种有传染活力

的液体物质,因此可以认为 Beijerinck 是真正的病毒学之父。

就在这一年, Loeffler 和 Frosch(1898)指出,牲口的口蹄疫病原物能通过细菌漏斗,而且很快地发现了其他一些植物或动物的疾病都可以由相似的病原物引起。

这些最初称为超过滤病毒的本质在长逾三十年之后仍然是一个谜,甚至到本世纪三十年代初期,在植物抽提液中寻找病毒尚犹如企图“在暗窖中找寻一头黑猫,而且还不知道它是否在窖中”一样困难。

1.2 病毒的本质

不幸的是,植物、动物和细菌的病毒病研究各自独立地向前发展几乎达五十年之久,而且某些动物病毒专家强烈地否定动物病毒同植物或细菌病毒(也称噬菌体)有任何相似之处。近年来,发展趋势又重新倾向一致。已经认识到侵染各种不同种类寄主的病毒之间有很多共同特征。由于某些植物病毒质粒能够比较容易地大量获得和提纯,因此很多有关病毒质粒结构方面的先驱工作以植物病毒作为对象,其中特别要提到的是烟草花叶病毒(TMV)。相反,关于病毒的遗传以及病毒复制的生物化学方面的先驱工作,则主要以细菌病毒和动物病毒为对象。这是由于在人工培养时,它们的寄主细胞比植物细胞容易成长,并且易于操作缘故。

所有的植物病毒质粒,以及大部分其他病毒质粒都太小,所以不能在光学显微镜下看到。但从病毒制剂的光学双折射(Takahashi 和 Rawlins, 1932)、沉降性质和粘度(Lauffer, 1938),以及X光衍射(Bernal 和 Fankuchen 1937)等研究,可以间接证明 TMV 的质粒呈细长棒状。1939 年 Kaushe, Pfankuch 和 Ruska 等证实了这一结果。他们利用了刚刚发展的电子显微镜技术,获得了 TMV 的图象(图版 3)。以后又有人证明, TMV 质粒是一种长约 300 毫微米(nm)、直径约 16 毫微米的棒(图版 4),别的病毒有其他的形状特征和大小。很多病毒的质粒是一种直径 17~75 毫微米的近于球状的粒子,而另外的病毒质粒可以从 2000×10 毫微米的线状质粒到 250×70 毫微米的杆状质粒。关于病毒的结构以及它们基本的“设计原则”将在本书第 5 章中讨论。

同样,很多关于病毒质粒组成方面的先驱工作也是以植物病毒为对象的。Helen Purdy (1929)曾经指出,血清学方法可以用来检测 TMV 质粒,他认为 TMV 质粒含有蛋白质或多糖,或两者皆有。以后,在美国工作的 Stanley(1935)利用当时最新引进的分离蛋白质(特别是分离酶)的技术,成功地分离了 TMV 病毒质粒,并且证明 TMV 病毒含有蛋白质成分。由于这一成就,他后来获得了诺贝尔奖金。但 Stanley 忽视了 TMV 质粒的主要成分。这一成分首先由在英国工作的 Bawden 和 Pirie 于 1937 年确定。他们指出,在 TMV 病毒制剂内含有磷,并且发现,它来源于一种核酸,后者同早已报道过的从酵母获得的核糖核酸(RNA)属于同一类型。TMV 质粒含有 5% 的 RNA 和 95% 的蛋白质。除少数例外,所有其他研究过的植物病毒质粒均含有这两种成分,很多侵染性的动物或细菌病毒也是如此。但是花椰菜花叶病毒以及其他的很多动物和细菌病毒都含有脱氧核糖核酸(DNA),而不是核糖核酸(Shepherd, Wakeman 和 Romanko 1968)。早在 1934 年, Schlesinger 的工作就预示这一结果的出现,因为他在噬菌体的制剂中曾经检出过 DNA。

一些早期被提纯的 TMV 质粒制剂均是类晶体,也就是说,它们含有以二维规则排列的质粒。以后,在 1938 年 Bawchen 和 Pirie 获得了另一种病毒——番茄丛矮病毒的真正的

三维晶体(图版5)。这些发现进一步促进了本已白热化的争论,即病毒质粒是不是一种活体?在生物和非生物之间,何处是它们神秘的界限?但这不过是一种无结果的争论,因为它完全取决于对“生命”所作的定义。

1949年,Markham和Smith发现在芜菁黄花叶病毒制剂中,存在两种类型球状质粒,其中仅有一种含有核酸。极为重要的是,只有含有核酸的一种质粒才具有侵染性。阐明核酸重要性的另一个线索是Hershey和Chase(1952)的发现,即噬菌体T2在侵染细菌时,只有T2的DNA进入细菌,而它的大部分蛋白质并不进入。但是直至1956年,Gierer和Schramm,以及Fraenkel-Conrat才证明病毒的核酸,即如果事先采取措施不使TMV的RNA失活,其本身就有侵染力。当TMV的RNA接种于植物以后,它不仅能引起合成更多的病毒RNA,而且也能合成病毒蛋白质,这两种成分可装配成典型的TMV质粒。在植物病毒质粒中,蛋白质的主要作用显然是为核酸提供一个保护外壳。TMV的RNA看来是这一病毒遗传信息的唯一携带者。在RNA受到化学改变以后,病毒在遗传上也能发生变化。例如Gierer和Mandry(1958)在用亚硝酸处理TMV的RNA使其碱基发生变化之后,检测出TMV的变异株(§12·2·2)。

芜菁黄花叶病毒不是产生一种以上类型质粒的唯一病毒,另外一些病毒也能产生不止一种类型的核蛋白体质粒。例如烟草脆裂病毒CAM株系的管状质粒,它的长度大部分约50毫微米,或约200毫微米。在一段时间内,人们并不了解这较短的质粒具有何种功能。最近的工作表明,这一病毒的基因组分成两个部分,一部分在短的质粒内,另一部分在长的质粒内。很多其他植物病毒,包括一些具有球状和弹状质粒的病毒同样也已证明具有多组分的基因组。基因组的分裂是一种具有特殊意义的事情,因为它能够扩大由有限数目突变引起变异的可能范围。

不言而喻,关于病毒本质的概念,以及由此而来的“病毒”一词的含义曾经历了不少的变化。对于古罗马人来说,病毒意指毒物。而在十九世纪,病毒一词用来表示“能传播感染的毒素”或直称“微病原”。但从本世纪以来,病毒一词愈来愈专一地应用于一组混杂不一的、细小的特异性寄生病原体。在这一时期内,对病毒下过各种定义,但在已发表(Bawden, 1950; Lwoff, 1957; Pirie, 1962)的定义中,没有一个是理想的,因为它们各自或者排除了具有大的质粒的病毒,如痘病毒组(poxviruses),或者包括进了类菌原体,细菌的可转移的游离体和质体。它们强调病毒质粒的一些主要特性,诸如质粒的微小,潜在的病原性,侵染性,核酸的存在,或者在离开活的有机体以后不能繁殖,等等。

根据本书的目的,我们给病毒下这样一个定义,即:病毒是“能传播的寄生物,其核酸基因组的分子量小于 3×10^8 道尔顿,而且为了自身的繁殖需要寄主细胞的核蛋白体或其他成分。” 3×10^8 这一数字之大足以包括噬菌体,痘病毒组和虹色病毒组(iridoviruses)(第16章)。此处没有提病原性这一点,因为并不是所有的病毒对其寄主来说,都具有害作用,而且似乎没有必要去区分无病原性类型和本质上与它相似的病原性类型的病毒。需要活细胞这一点也不是特异的,因为目前病毒合成的好几个步骤均可在试管内进行,可以用细胞的一些组分来代替完整的细胞。我们的定义也包括了被称为类病毒(viroids)的病原物(Diener, 1972)。类病毒引起马铃薯纤块茎病,这一类病原物可传播的RNA,其分子量为 10^5 道尔顿或者更小,而且没有蛋白质外壳。

虽然可能下一个定义,概括病毒学家所研究的全部生物体,但是没有理由令人相信,所

有病毒在系统发育上是彼此有关的, 相反的考虑倒是更为真实一些。因此病毒可能应看作生命的一种方式, 而不是分类学上的一个族系。但是也愈来愈清楚, 很多植物病毒可以分成几个界线分明的组。Brandes 和 Wetter(1959)证明, 管状或线状质粒的植物病毒能够根据它们质粒最通常的长度来分组, 并且根据这一特征分组的病毒还具有很多其他的共同特征, 例如传播的模式和稳定性, 等等。很多已知的植物病毒目前已经能够分类(Tharrison 等, 1971)。虽然这种分类所导致的综合概念有过于简单化的危险, 但看来还是利多于弊。在第 2 章中, 我们将介绍几个这样的病毒组。

并非所有能通过嫁接和其他有机体传播的亚显微植物病原都是病毒。长期以来, 翠菊黄化或其他相似病症的病原体曾被认为是病毒, 并当作病毒进行研究。但是 Doi 等(1967)发现, 在电子显微镜下, 被感染植株的超薄切片内含有一种生物体, 很象菌原体和 L 型细菌。同样有意思的是, 人的原发非典型性肺炎的病原一直被认为是一种病毒达二十年之久, 而最终证明却是一种菌原体。这表明不适当臆测的危险。实际上, 被认为是病毒并已命名的 600 多种植物病原物(Martyn, 1968)中, 有 2/3 以上尚未经严格证明是病毒, 而可能是其他类型的病原物。在本书中, 我们将已证明为病毒的病原和尚缺乏严格证明的病原区别开来, 并把后者称为“类似病毒的病原”或诸如此类的字眼。某些常与病毒混淆的病原体将在第 17 章中介绍。

已知能被病毒侵染的不单是被子植物, 在裸子植物和蕨类植物中也曾经检出病毒; 而且在菌类, 甚至在藻类生物中, 也有愈来愈多的证据说明有病毒或类似病毒质粒的存在。有关这些病毒和其他类型寄主的病毒将在第 16 章中讨论。

1.3 植物病毒侵染的专一特征

人们现在已经认识到, 植物病毒和动物或细菌病毒有很多共同的性质。1952 年 Black 和 Brakke 发现: 三叶草伤瘤病毒不仅能在植物体内繁殖, 而且能够在携带这一病毒并在植株之间传播的昆虫——叶蝉 (*Agallia conotricla*) 体内繁殖。这一发现大大促进了这一认识, 某些个别病毒寄主范围可以超越植物和动物之间的界限。虽然目前已经了解到有这样一些超越界限的例子, 但是相对说来, 这还不是普遍情况, 而且也没有确切证据证明有哪一种病毒能在植物和脊椎动物两者体内, 或者能在植物和细菌两者体内都能完成它整个生活周期。

在许多方面植物病毒侵染和动物及细菌病毒侵染不同。一个不同处, 在于侵染寄主细胞的方式。植物病毒侵染植株一般只通过伤口, 这是由于病毒质粒无法渗透植物的硬细胞壁, 细胞壁必须破损, 病毒才能侵染。如果把病毒的悬浮液轻轻地喷到植株上面, 将不会侵染植株。相反, 大部分动物病毒能够侵染未受损伤的动物细胞, 并能经过各种通道进入细胞而不引起损伤。有些噬菌体以相似的方式来侵染细菌, 如利用细菌的性鞭毛, 而另外一些噬菌体的质粒则具有把其核酸注进细菌的装置。植物细胞用酶处理以后, 能从细胞壁中分离出来(此时称为原生质体), 将病毒加入到原生质体悬浮的介质中, 原生质体就象动物细胞那样能被病毒侵染(Takebe 和 Otsuki, 1969)。

在实验室中, 能用各种方法把植物病毒从一株植物传播到另一株植物。方法之一是用已被病毒侵染的同一种系或有关种系植株的嫩穗接到未被侵染的植株上。很多病毒都能用在植株叶面上摩擦含有病毒质粒液体的方法传播至其他植株, 因为摩擦的作用, 能造成叶细

胞极小的伤口,病毒粒子通过它们而侵染植物。摩擦接种比接穗侵染速度要快得多,但效率较低,因为为了使一个植株感染至少需要 10^5 个病毒质粒。与此相比,侵染动物细胞仅需 10~100 个病毒质粒,而侵染一个细菌则只需 1~10 个噬菌体质粒。这些差异可能主要反映了在植物细胞壁上造成合适伤口的效率较低。植物病毒的实验性传播情况将在第 4 章中详细介绍。

Holmes(1929)关于植物病毒的定量试验是这一方面的最大进展。他发现, TMV 在接种的心叶烟 (*Nicotiana glutinosa*) 叶片上能引起坏死点(图 4.5a)。这些代表侵染位置的坏死点即局部坏死斑的数目,决定于接种物中病毒质粒的浓度。在第 7、第 8、第 9 章中将介绍局部坏死斑的测定方法和其他一些试验方法。

植物病毒侵染的一个特征是当植株一旦被感染以后,一般在其生命的剩余时间内一直保持感染。和脊椎动物相反,植物不能产生循环系统中可使病毒失活的抗体,因此很多病毒可以无限期地存活下来,从而在无性繁殖的植物,例如果树、马铃薯、草莓和甘蔗中引起很大的损害。典型的情况是,病毒侵染寄主植物的所有组织,只有根和梢的组织可能例外。有些病毒有其他的组织专一性。

幸运的是,对大多数植物病毒来讲,是不会通过种子传到子代实生苗的。有关病毒对植物侵染的种种不同和具特征性的影响将在第 3 章中讨论。

1.4 植物病毒在自然界中如何传播

虽然感染病毒的个体植株常常在存活的大部分时间内会作为病毒毒源,但它们是静止的,所以需要一个活动的因子,即所谓“媒介”来把病毒从一个植株传播到另一个植株。关于存在这样的“媒介”的第一个证据来自日本。Fukushi (1965)曾经叙述志贺县的一个水稻种植者桥本,在 1883 年发现了水稻矮缩病,并且怀疑与叶蝉有关,因为哪里叶蝉多,那里病害也多。1893 年桥本把一批盆栽稻苗和一些叶蝉一起放入一个粗布笼里,这些水稻成为被感染植株。他在翌年再次证实了这一结果,但没有发表。1895 年,高田命名这一叶蝉为 *Inazuma dorsalis*。1901 年, Takami 的工作总结表明虽然他尚未认识到这一病原是病毒,但证明水稻矮缩病病原是由黑尾叶蝉携带的,而 *I. dorsalis* 被否定。直至 1937 年有关 *I. dorsalis* 的工作才被 Fukushi 所证实。

二十世纪初,证明了由病毒引起的黄热病是由蚊子传播到人的,从而奠定了关于“媒介”的概念。其后的植物病毒工作,病毒媒介涉及到一系列吸食植物的昆虫,如蚜虫、胭脂虫、叶蝉等和某些咬啮类昆虫,如食叶甲虫等。1927 年获得了第一个证据,证明瘿螨 (*Phytoptus ribis*) 是引起红醋栗返祖病变的类似病毒病原的媒介。很久以后,又发现完全不同的另一类媒介,它们生活在土壤中,而不是处于植株的地上部分。Hewitt、Raski 和 Goheen(1958)证明,线虫 (*Xiphinema index*) 传播葡萄扇叶病毒。1960~1961 年,几个实验室的科学工作者发现一种真菌 (*Olpidium*) 对烟草坏死病毒和引起烟草矮缩病、莴苣巨脉病的类似病毒病原的传播起作用。在这些类型的媒介中,目前还了解到其他一些例子。

虽然能够传播植物病毒的生物范围很广,但值得注意的是:如果一个病毒有 1 个以上的媒介种类,那末后者在分类学上总是密切相关的。例如,由蚜虫媒介传播的病毒,不能由叶蝉传播,相反也是如此。关于媒介的不同种类,它们相对的重要性和它们携带病毒的各种不同方式,将在第 13 章中讨论。

在自然界中,病毒传播的速度和方式,明显地决定于媒介和病毒相互间的关系,也就是决定于媒介数目及其活动能力,以及其他很多因素。关于这些因素如何相互作用的问题,将在第14章中讨论。有关病毒如何传播的知识导致我们力求阻止传播的发生,控制的措施常常是针对媒介的,但是也有很多病毒没有媒介的帮助,而是由于感染植株的无性繁殖能够不断保持。因此对于无性繁殖的粮食作物来讲,常常值得集中一些无病毒植株,在不能发生感染的条件之下进行繁殖,本书第15章将讨论控制病毒传播这一困难问题。

1.5 植物病毒学的重要性

植物病毒学的重要性表现在两个主要方面。植物病毒学研究将导致防止由于病毒性疾病而引起的农作物损失,这是植物病理学的一个方面。另一方面,它将提供信息,有助于阐明病毒及其寄主的一般性质和具有生物重要性的大分子,特别是蛋白质和核酸的结构和功能,这就是分子生物学。我们将举几个例子说明这两个方面的范围和重要性。

大部分重要的农作物,常易感受损害性的甚至流行性的病毒病。有一段时期,北美洲的马铃薯感染病毒是如此普遍,以致马铃薯X病毒竟被称为“健康的马铃薯病毒”,因为最健康的马铃薯仅含有X病毒一种。该病毒引起的产量损失约达10—15%,而健康较差的马铃薯还含有其他病毒,产量更低。

很多其他的无性繁殖和多年生作物,如果树,同样受到病毒的侵染。对柑桔而言,蚜虫传播的衰退病是一种广泛传播的病毒病,在巴西圣保罗州,单单衰退病就使600万株甜橙死亡(占总数75%)。这些甜橙是在十二年间用酸橙作为砧木嫁接获得的。在加纳,为了阻止以水蜡虫为媒介的可可树肿枝病毒蔓延,从1945年起砍掉了数达百万株以上的可可树。葡萄扇叶病毒是由线虫作为媒介,同时在葡萄无性繁殖时也能传播的一种病毒,在世界很多地方都有发现,它使每一单株减产10~50%。某些葡萄品种的每一棵植株都受感染。

在很多低温度的国家里,小麦、大麦、燕麦常为大麦黄矮病毒所感染,随着蚜虫媒介数量和活动能力不同,这一病毒的侵染范围逐年可以有很大的变化。由真菌传播的小麦花叶病毒在北美造成小麦收成的很大损失。在1957年,大量种植抗病品种前,仅在美国的堪萨斯州损失就达400万美元。在美国,由线虫传播的甜菜和性黄化和甜菜黄化病毒造成糖的年产量损失达15000~150000吨。

目前我们知道如何避免使上述作物受损失的某些措施,但对其他的很多情况仍然束手无策。随着世界人口的不断增长以及食物与其他自然产物供应日益紧张,必须大大加强植物病毒病的研究,以寻找方法减少损失。

近年来,在现在称之为“分子生物学”的这一领域内,人们的兴趣戏剧性地上升。在这一类研究的某些领域中,植物病毒作为研究对象,具有一些重要的特点:某些植物病毒能够获得相对大的量和足够的纯度,从而有可能进行细微的化学和结构分析;并且在处理植物病毒时,对实验者没有危险。TMV和芜菁黄花叶病毒质粒在结构上——也就是它们的蛋白质亚基是如何排列而形成核酸的蛋白质外壳,以及核酸的定位等等——比任何其他病毒都了解得更彻底。利用TMV及豇豆褪绿斑驳病毒质粒,有可能发现螺旋状及近似球状的病毒如何解聚和重组。由这一类性质的研究工作所显示的原则,可以更一般性地用于解决一些或多或少更复杂的问题,即一些结构如何由一种或几种不同的大分子构成的。

化学研究揭示了TMV质粒外壳蛋白的氨基酸顺序。由于测定了TMV不同变异株的

氨基酸组成，已间接地证实了植物和细菌利用相同的遗传密码——也就是核苷酸顺序决定蛋白质的氨基酸顺序的方式(参阅第 5 章及第 15 章)。因此植物病毒也可作为一个工具，研究植物及植物细胞的生物学。但是到目前为止，还仅仅触及表面，很多问题还有待于解释，诸如病毒复制和疾病发展时的生物化学步骤，决定侵染一种株系而不侵染其他株系能力的那些特点，病毒和媒介之间的专一性等，以及其他许多问题。从分子生物学的途径来研究这些和其他很多问题，前景是最有希望的。

(龚祖坝译)

第 2 章

植物病毒及其名称

2.1 命名

多数植物病毒首先是通过它们在若干植物上引起病害才被认识的。所以,人们常常以这些病害作为取名的依据,这是可以理解的。例如,最常见的能引起烟草叶子出现深浅不一绿色花斑的病毒是 TMV。然而,早年的工作,尤其是有关侵染马铃薯的病毒方面的一些工作表明:有几种病毒能侵染同一种植物。所以 Johnson 在 1927 年建议把植物病毒按其最先发现的寄主来取名,再标上号码以示区别。例如,从烟草上找到的第一种病毒就是烟草病毒 1 号(tobacco virus 1),第二种则为烟草病毒 2 号(tobacco virus 2),余则类推。Smith 在 1937 年建议把这些名称采用寄主的拉丁(属)名,在国际上当更容易接受,例如烟草病毒 1 号的拉丁属名为 *Nicotiana virus 1*,后来 Holmes (1939) 及 McKinney(1944)提出采用林纳的拉丁双名法(象烟草花叶病毒为 *Marmor tabaci*),再结合病毒的天然媒介,以及病毒引起的寄主症状类型作为分类基础。但是,因种种缘故,这些以及其他一些命名方案均未得到广泛采纳。目前,多数病毒学家仍然喜欢用“烟草花叶病毒”这类俗名。

许多植物病毒的俗名冗长,所以人们在使用时常常把它缩写成一些字母,如 TMV。不过,这些缩写尚未标准化。为了避免混乱,在使用时必须重新确定含义,否则象 AMV 用以表示苜蓿花叶病毒,南芥菜花叶病毒或者杏斑驳病毒(apricot mottle virus),都未尝不可。在本书里我们使用 Martyn(1968、1971)校勘过的通用名称。

我们和其他人(Gibbs 等, 1966a; Gibbs 和 Harrison, 1968)曾经提议可以进一步把俗名定得更明确一些,需要的时候加上“密码”,以便反映病毒的若干性质。许多病毒分属于若干确定的组,其密码所包括的性质似应最适用于区别所有各种(类)病毒,包括能侵染动物、细菌、真菌等一类病毒(可参阅本书第 16 章)以及侵染种子植物的病毒。本书所用密码由四对符号组成,其含义列于表 2.1。例如, TMV 以及一些与之密切相关的病毒密码是 R/1:2/5:E/E:S/0,也可以将密码与各组病毒的名称一起使用,便于表明该组病毒特征。但最好把用来表达类别的密码用某种方式区别开来,因为密码所代表的若干性质可能只对一个或一些病毒作过测定;在本书中,密码框以括号。

病毒组别常常是按该组病毒中人们最熟悉的病毒取名,例如烟草花叶病毒组或 TMV 组。本书将使用从各组典型的病毒俗名中引伸出来的缩写名,如烟草花叶病毒类称为烟草花叶病毒组[tobamovirus group 或 tobamoviruses, 见 Harrison 等人(1971)的报道]。在写一个病毒的全称时也可以加上该病毒所属组的组名,如葫芦花叶病毒(bottlegourd mosaic virus),*/*:*/*:E/E:S/*,烟草花叶病毒组。