



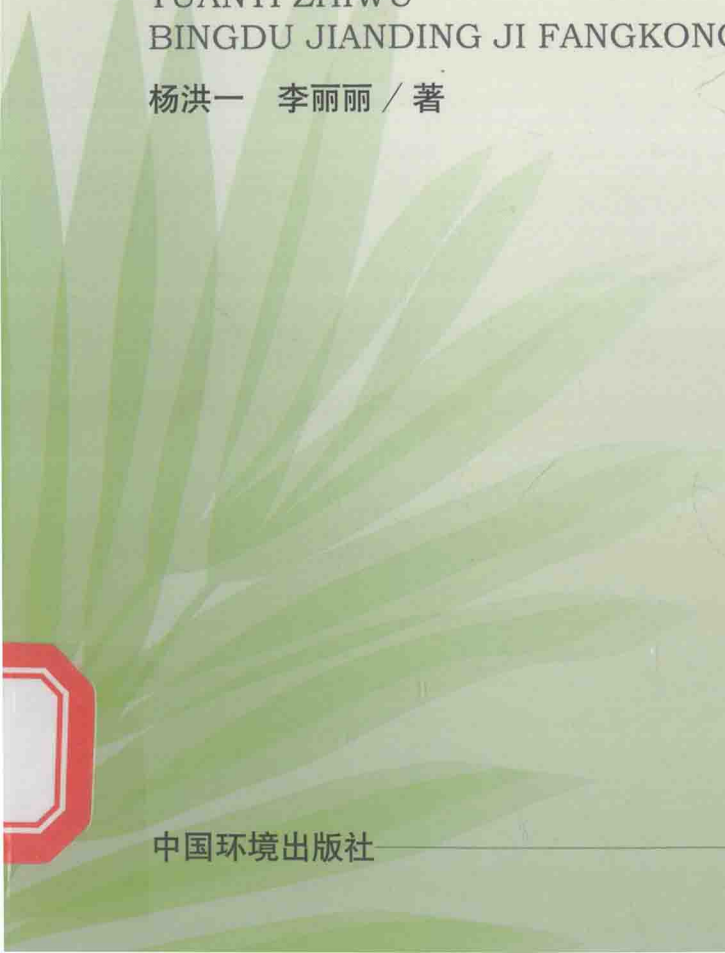
# 园艺植物

## 病毒鉴定及防控策略

YUANYI ZHIWU

BINGDU JIANDING JI FANGKONG CELÜE

杨洪一 李丽丽 / 著



中国环境出版社

中央高校基本科研业务费（DL13EA06-3）资助

# 园艺植物病毒鉴定及 防控策略

杨洪一 李丽丽 著

中国环境出版社·北京

图书在版编目 (CIP) 数据

园艺植物病毒鉴定及防控策略/杨洪一, 李丽丽著. —北京: 中国环境出版社, 2015.9  
ISBN 978-7-5111-2469-2

I. ①园… II. ①杨…②李… III. ①园林植物—植物病毒—鉴定②园林植物—植物病毒—防治 IV. ①S432.4

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2015) 第 158790 号

出版人 王新程  
责任编辑 孟亚莉  
责任校对 尹芳  
封面设计 岳帅

---

出版发行 中国环境出版社  
(100062 北京市东城区广渠门内大街 16 号)  
网 址: <http://www.cesp.com.cn>  
电子邮箱: [bjgl@cesp.com.cn](mailto:bjgl@cesp.com.cn)  
联系电话: 010-67112765 (编辑管理部)  
010-67112735 (环评与监察图书分社)  
发行热线: 010-67125803, 010-67113405 (传真)

印 刷 北京中科印刷有限公司  
经 销 各地新华书店  
版 次 2015 年 11 月第 1 版  
印 次 2015 年 11 月第 1 次印刷  
开 本 880×1230 1/32  
印 张 6.75  
字 数 180 千字  
定 价 25.00 元

---

【版权所有。未经许可, 请勿翻印、转载, 违者必究】

如有缺页、破损、倒装等印装质量问题, 请寄回本社更换

## 前 言

园艺植物病害的病原包括真菌、细菌和病毒，人们普遍对真菌和细菌关注较多，除了植物病毒研究人员，人们对园艺植物病毒一般知之甚少。此外，由于园艺植物病毒尚难以利用化学药剂进行有效防治，也影响了一些农业科技工作者的研究积极性。

园艺植物病毒造成的经济损失是难以估测的。对于一些以无性繁殖为主的多年生园艺植物，一旦被病毒侵染，则终生受害。病毒侵害园艺植物后，破坏植物生理机能，导致园艺植物生长衰退，品质、产量下降，严重者甚至导致植株死亡，给生产带来巨大损失；而对一些以种子繁殖的园艺植物来说，一些种传病毒又会对它造成巨大危害，一方面病毒作为初侵染源感染子代植株，同时又会经蚜虫等介体传播而扩散危害。

人类对园艺植物病毒病的研究已将近一个世纪，世界各国相继开展了相关研究。现已探明，几乎所有园艺植物都有数种乃至数十种病毒危害。此外，随着研究的深入，一些新病毒陆续被发现，多种病毒复合侵染的报道逐渐增多。为了使广大农业科技工作者进一步了解园艺植物病毒，同时也为了使大家掌握一些园艺植物病毒鉴定及防控的有效方法，作者在多年科学研究及广泛收集国内外有关资料的基础上，撰写了以阐述园艺植物病毒学基础知识、说明病毒鉴定及防控新方法、展现研究结果为一体的《园艺植物病毒鉴定及防控策略》一书，希望能够吸引广大农业科技

工作者的关注,吸引更多科技工作者加入到园艺植物病毒病的研究队伍当中。

本书内容包括主要园艺植物病毒简介、病毒抗血清制备、病毒常规检测技术及新方法、病毒变异及株系分化、病毒种群遗传结构分析、病毒基因组序列解析、病毒组织定位技术、病毒种传机制、病毒防控策略等内容。此外,本书添加了较多研究实例,内容力争准确、详尽,利于研究人员快速掌握并直接将一些研究手段应用于科学研究及生产实践。

本书第1章、第2章、第4章、第6章由李丽丽撰写,其余由杨洪一撰写。本书由中央高校基本科研业务费(DL13EA06-3)资助,此外,东北林业大学研究生庄鑫、郭世辉、张娜娜同学为本书的资料收集、实验流程描述做了大量工作,在此深表谢意。

作者

2014年1月于哈尔滨

# 目 录

|                                    |    |
|------------------------------------|----|
| 第 1 章 绪 论.....                     | 1  |
| 1.1 病毒概述 .....                     | 1  |
| 1.2 园艺植物病毒病.....                   | 2  |
| 1.3 病毒与植物的相互作用.....                | 4  |
| 1.4 主要园艺植物病毒简介.....                | 7  |
| 第 2 章 利用血清学技术检测园艺植物病毒.....         | 26 |
| 2.1 提纯病毒粒子为抗原制备抗血清.....            | 26 |
| 2.2 原核表达重组蛋白为抗原制备抗血清.....          | 27 |
| 2.3 基于抗原表位策略制备抗血清.....             | 28 |
| 2.4 研究实例 1: 利用原核表达技术制备病毒抗血清.....   | 31 |
| 2.5 研究实例 2: 基于抗原表位策略制备抗血清.....     | 38 |
| 第 3 章 园艺植物病毒 PCR 检测 .....          | 48 |
| 3.1 生物学方法 .....                    | 48 |
| 3.2 园艺植物病毒的 PCR 检测 .....           | 51 |
| 3.3 利用分子杂交技术检测病毒.....              | 62 |
| 3.4 研究实例 1: 草莓主要病毒的 PCR 检测 .....   | 63 |
| 3.5 研究实例 2: 草莓主要病毒的多重 PCR 检测 ..... | 74 |
| 3.6 研究实例 3: 利用通用引物检测园艺植物病毒.....    | 76 |

|                                        |     |
|----------------------------------------|-----|
| 第 4 章 植物病毒检测新技术: NASBA 和转录增强技术 .....   | 79  |
| 4.1 NASBA 技术 .....                     | 79  |
| 4.2 转录增强技术 .....                       | 81  |
| 4.3 研究实例 1: 利用转录增强技术检测草莓病毒 .....       | 81  |
| 4.4 研究实例 2: 利用 NASBA 技术检测草莓斑驳病毒 .....  | 83  |
| 第 5 章 园艺植物病毒的变异及株系分化 .....             | 86  |
| 5.1 病毒的变异 .....                        | 86  |
| 5.2 植物病毒株系分化 .....                     | 88  |
| 5.3 研究实例 1: 苹果茎痘病毒的株系分化 .....          | 92  |
| 5.4 研究实例 2: 草莓主要病毒的分子变异 .....          | 111 |
| 第 6 章 病毒种群遗传结构分析 .....                 | 121 |
| 6.1 植物病毒种群遗传结构特征 .....                 | 121 |
| 6.2 病毒群体结构在选择压力下的进化模式 .....            | 122 |
| 6.3 植物病毒种群遗传结构分析方法 .....               | 123 |
| 6.4 研究实例: 苹果茎痘病毒种群遗传结构分析 .....         | 124 |
| 第 7 章 基于 dsRNA 技术的病毒鉴定及基因组序列解析 .....   | 133 |
| 7.1 dsRNA 技术原理 .....                   | 134 |
| 7.2 利用 DOP-PCR 技术进行病毒基因组的解析 .....      | 136 |
| 7.3 研究实例: 利用 DOP-PCR 技术鉴定辣椒轻斑驳病毒 ..... | 137 |
| 第 8 章 病毒组织定位技术 .....                   | 143 |
| 8.1 原位 PCR 基本原理及主要类型 .....             | 143 |
| 8.2 原位 PCR 主要步骤 .....                  | 144 |
| 8.3 原位 PCR 的应用 .....                   | 145 |
| 8.4 研究实例: 基于原位 PCR 技术的病毒组织定位技术 .....   | 146 |

|                                               |     |
|-----------------------------------------------|-----|
| 第 9 章 病毒种传机制及研究策略.....                        | 157 |
| 9.1 种传病毒主要类型.....                             | 157 |
| 9.2 病毒种传机制研究进展.....                           | 158 |
| 9.3 研究实例 1: 基于原位 PCR 技术分析辣椒轻斑驳<br>病毒种传机制..... | 160 |
| 9.4 研究实例 2: 辣椒杂交后代种子带毒率分析.....                | 164 |
| 第 10 章 园艺植物病毒防控策略.....                        | 169 |
| 10.1 抗性基因的应用.....                             | 169 |
| 10.2 弱毒疫苗的应用.....                             | 170 |
| 10.3 基因工程 .....                               | 171 |
| 10.4 组织培养脱毒技术.....                            | 172 |
| 10.5 种子热处理脱毒.....                             | 176 |
| 10.6 研究实例 1: 草莓病毒脱除方法研究.....                  | 177 |
| 10.7 研究实例 2: 辣椒种子内辣椒轻斑驳<br>病毒加热灭活研究.....      | 180 |
| 参考文献 .....                                    | 183 |
| 附录 病毒名称中英文对照.....                             | 204 |

# 第1章 绪论

## 1.1 病毒概述

病毒（Virus）是一种由核酸和蛋白质外壳组成的具有侵染活性的细胞内寄生病原体。病毒粒子是指完整成熟的、具有侵染力的病毒个体，主要由两类生物大分子即核酸与蛋白质组成，其中具有侵染性的核酸常称作基因组，核酸携带病毒复制所必需的遗传信息，被包裹在蛋白质外壳内。病毒的基因组较小，一般仅由几千个核苷酸组成。

病毒具有以下特点：形体微小，多为几十纳米，一般需在电子显微镜下才能观察到；结构简单，缺乏细胞结构；基因组只含一种核酸（DNA 或 RNA），并依靠自身的核酸进行复制；缺乏完整的酶和能量系统；严格寄生性的细胞内专性寄生物。病毒形态各异，有球状、杆状、线状、弹状等，在植物病毒中，杆状和球状的种类较多，如烟草花叶病毒（*Tobacco mosaic virus*, TMV）为杆状，草莓斑驳病毒（*Strawberry mottle virus*, SMoV）为球状（图 1-1）；病毒的形态是电镜下对病毒进行鉴定、分类的重要依据。

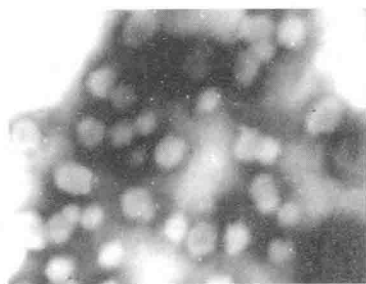


图 1-1 草莓斑驳病毒粒子电镜观察（58 000×）

根据侵染宿主的不同,一般将病毒分为动物病毒、植物病毒和噬菌体三类。其中,动物病毒和噬菌体在侵染时涉及严格的受体识别,因而绝大多数具有极其严格的宿主专化性,而植物病毒宿主专化性不强,如黄瓜花叶病毒(*Cucumber mosaic virus*, CMV),可侵染数百种植物,此外,也有一些病毒仅侵染一种或少数几种植物。

根据病毒基因组特点,病毒分为 DNA 病毒和 RNA 病毒, DNA 病毒可分为双链 DNA (dsDNA) 病毒和单链 DNA (ssDNA) 病毒, RNA 病毒也可分为双链 RNA (dsRNA) 病毒和单链 RNA (ssRNA) 病毒。RNA 病毒的 RNA 分子极性与 mRNA 极性相同时,这类病毒被称为正义 RNA 病毒,反之,则称为负义 RNA 病毒。负义 RNA 病毒进入植物细胞后,必须转录产生 mRNA,然后才能产生病毒的蛋白质,在对此类病毒进行 PCR (Polymerase chain reaction) 检测时,既可以扩增负义 RNA,也可扩增转录产生的 mRNA,且有报道认为扩增转录产生的 mRNA 效果更好。

总体来说,在植物病毒中,正义 ssRNA 病毒最多,负义 ssRNA 病毒、ssDNA 病毒次之,dsRNA 病毒、dsDNA 病毒较少。

## 1.2 园艺植物病毒病

园艺植物病害主要有真菌病害、细菌病害和病毒病害,但人们多注意到前两类病害,而对病毒病危害普遍认识不足。植物病毒核酸多数为 RNA,少数为 DNA,但都是由 mRNA 起作用的,它决定了病毒在植物体内的复制,这种复制利用了植物细胞的成分和蛋白质合成机制,干扰了植物细胞正常的生理代谢。园艺植物中较多为多年生无性繁殖作物,如果树类植物和一些球茎花卉,一旦被病毒侵染则终生受害,而嫁接等农艺措施加速了病毒的传播;病毒侵害园艺植物后,导致园艺植物生长衰退,品质、产量下降,严重者甚至导致整株死亡,给生产带来巨大损失。而对一些以种子繁殖的园艺植物来说,一些种传病毒又会对其造成巨大危害,一方面作为初侵染源感染子代植株,同时又会经蚜虫等介体传播而扩散危害。

按病毒危害特点,园艺植物病毒可分为非潜隐病毒和潜隐病毒。非潜隐病毒侵染植物后,大部分栽培品种都有明显症状,如苹果花叶病毒(*Apple mosaic virus*, ApMV)侵染苹果所致的典型花叶症状,较容易识别。非潜隐病毒除少数只引起植株生长衰退、减产外(如花叶病等),大多数都使植株丧失栽培价值。这类病毒引起的病害对园艺作物来说是毁灭性的,但一般只是零星发生,而且病株容易被识别,所以及时去除病株就可解决。潜隐病毒在栽培品种上单独侵染时一般不表现明显症状,但其在植株的叶片、叶柄、维管束里有大量的病毒(图 1-2),一般能使生长量减少 20%~50%,产量降低 20%~60%,且发生普遍,田间带毒率较高。园艺植物病毒中多数为潜隐病毒,通过潜隐侵染的方式危害生产并随繁殖材料扩散。

人类对园艺植物病毒病的研究已将近一个世纪,世界各国相继开展了相关研究。现已探明,几乎所有园艺植物都有数种乃至数十种病毒危害。此外,随着研究的深入,一些新病毒陆续被发现,多种病毒复合侵染的报道逐渐增多。

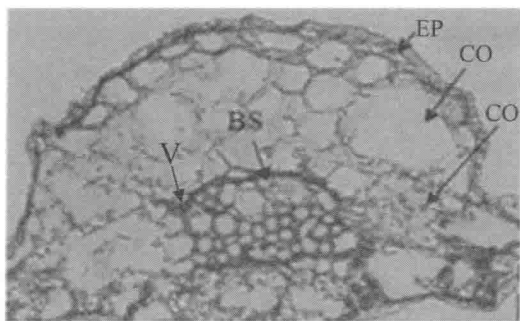


图 1-2 利用原位 PCR 技术对辣椒叶柄中辣椒轻斑驳病毒  
(*Pepper mild mottle virus*, PMMV) 的定位

采用碱性磷酸酶显色系统,在碱性磷酸酶作用下,NBT/BCIP(Nitroblue Tetrazolium/5-Bromo-4-chloro-3-Indolyl Phosphate)发生氧化还原反应形成蓝紫色沉淀,显示病毒在组织中存在的位置。

EP: 表皮组织; V: 病毒粒子; CO: 皮层; BS: 维管束鞘

## 1.3 病毒与植物的相互作用

植物病毒与寄主之间存在着微妙的相互作用：病毒具有侵染性与致病性，寄主植物对其具有一定抗性，二者既相互对立又相互适应。从微生物学的角度来看，植物与病原微生物互相作用是一个复杂的过程。寄主很快地死去或者造成寄主种群的灭绝都不是病原微生物希望看到的，植物和病原物就是处在这样一个动态的平衡当中。在研究病毒与寄主互相作用的过程中，人类已积累了大量经验。早期用整个植株接种或嫁接，鉴定病毒的寄主范围，观察寄主植物的生理生化反应；通过研究介体种类，结合寄主范围鉴别病毒种类。近年来，通过将分子生物学、免疫组化、生物信息学等新技术引入病毒与寄主互相作用研究中，从病毒和寄主两方面进行病毒基因组结构、病毒蛋白质功能的研究，揭示相互作用的各个环节及其关系，从而探索在生产实践中采用一些简单实用的措施来减轻病毒病的危害。

### 1.3.1 病毒的传播

病毒传播是与寄主相互作用的第一步，一般一种病毒有一种主要的传播途径，如多数植物病毒主要是通过蚜虫传播。当病毒有多个传播途径时，对于病毒防治极为不利，且其与寄主的侵染关系也更为复杂。如李属坏死环斑病毒（*Prunus necrotic ringspot virus*, PNRSV）可通过蚜虫、花粉、种子传播，控制其危害较困难。图 1-3 显示了桃花粉中存在李属坏死环斑病毒。



图 1-3 桃花粉粒内的李属坏死环斑病毒的分布

利用原位杂交技术对病毒进行定位，花粉粒内的亮点即为杂交信号，显示病毒在花粉粒内的分布

病毒的传播方式可分为介体传播和非介体传播两大类,前者指昆虫、菟丝子等传播病毒,后者指通过微伤口、种子及其他非生物因素传染。由于植物病毒本身没有主动感染植物的能力,因而产生微伤口是病毒传播的重要环节。病毒传毒介体包括蚜虫、叶蝉、飞虱、真菌、螨类、线虫、菟丝子等,其中蚜虫是最重要的传毒介体之一,如桃蚜可传播 107 种植物病毒。在蚜虫取食过程中,蚜虫的口锥可以将病毒直接传送到韧皮部筛胞分子,然后病毒粒子通过转运流转移到植物的其他部位,在那里通过胞间连丝经由韧皮部筛胞分子和伴胞进入周围的细胞,从而进入叶肉细胞和维管束细胞。由于生产上缺乏抗病品种及有效防治措施,蚜传病毒长期危害农业生产并造成严重减产。对传播介体来说,如昆虫、菟丝子、土壤中线虫和真菌,都可通过口器或吸器来产生微伤口,从而促进了病毒的传播。

非介体传播主要包括嫁接传播、汁液摩擦接种传播、种子和无性繁殖材料传播。一些园艺植物病毒的远距离传播主要是通过嫁接和无性繁殖材料传播,如果树、花卉的接穗、球茎是病毒主要的传播载体,黄瓜花叶病毒、辣椒轻斑驳病毒等可通过种子进行远距离传播。人和动物的机械行为会造成植物微伤口,利于病毒侵入,如嫁接、修剪和分根蘖都会形成伤口,从而为病毒侵入健康植物提供更多的机会。如辣椒轻斑驳病毒本身并不能侵入胚,也不能直接侵入幼苗,主要在幼苗移栽时通过微伤口侵入幼苗。摩擦接种是病毒接种的常规技术,在摩擦接种过程中,当植物表皮形成微伤口时,会有少量原生质流出并立即吸回,病毒随之被带进植物细胞内。基于此,人们进行病毒摩擦接种就是创造这种微伤口用于植物病毒的种类鉴定、抗病性测定及生物测定(图 1-4)。

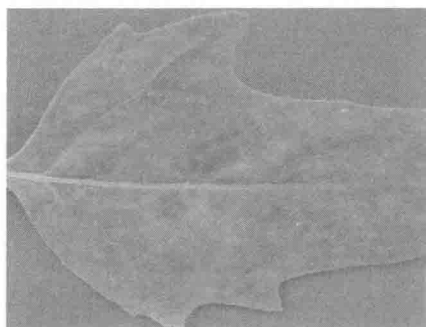


图 1-4 病毒摩擦接种昆诺藜所致的症状

### 1.3.2 病毒侵入对植物的影响

病毒侵入植物后，导致的表观症状可分为两大类：一类是由细胞和组织结构发生变化而引起的，最明显的就是病毒影响叶绿素合成而引起的颜色变化，如黄化、褪绿、坏死、枯斑等；另一类是由于细胞和组织的不正常生长引起的，如植株矮化、皱缩、增生、叶片卷曲等。如李痘病毒（*Plum pox virus*, PPV）侵染核果类可造成叶片环斑、坏死条纹、树皮开裂等症状（图 1-5）。病变可造成植物产量减少，果实减小。在病害流行期间，常给感病作物带来毁灭性的灾害。

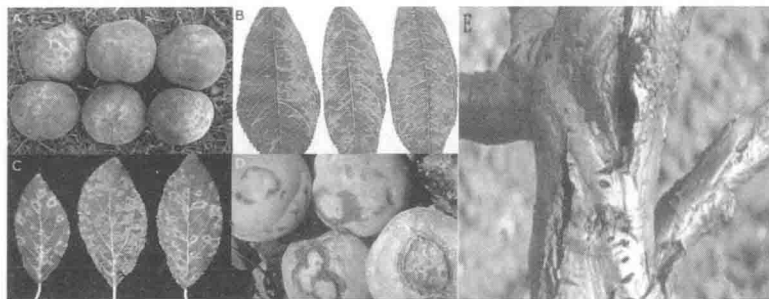


图 1-5 李痘病毒的危害症状

A: 桃果实上的变色、环斑症状；B: 桃叶片上的坏死条纹；C: 李叶片上的变色、环斑症状；  
D: 杏果实上的坏死环斑；E: 枝干树皮开裂

病毒侵入除了给植物带来伤害外,有的病毒株系侵染植物后,可抑制该病毒的另一株系对植株的感染,这种现象称为交叉保护作用(Cross-protection)。早在1934年,Kunkel提出利用弱株系保护强株侵染的可能性,此后,各国相继在柑橘衰退病、可可肿枝病、苹果花叶病上利用自然界分离的弱株系进行保护实验,获得一定效果。我国也在黄瓜花叶病毒、烟草花叶病毒的交叉保护方面取得了一系列的成果,获得了一些有较强保护作用的病毒株系。

病毒侵染植物后,寄主体内的某些酶、蛋白质、核酸、叶绿素、矿质元素和内源激素等均会发生变化,其中内源激素是一个很重要的因子。内源激素对调节植株的生长发育起着十分重要的作用,激素间既相互促进又互相制约,侵入植株体内的植物病毒可通过改变体内激素的含量而扰乱其正常的平衡,从而使植株生长量减小,生长势弱,甚至很快衰亡。研究显示,香蕉受香蕉束顶病毒(*Banana bunchy top virus*, BBTV)侵染后,赤霉素和玉米素均比健康植株低,而与衰老有关的脱落酸却明显比健株高。梨树受苹果茎痘病毒(*Apple stem pitting virus*, ASPV)以及苹果受苹果茎沟病毒(*Apple stem grooving virus*, ASGV)侵染后,生理代谢均发生了很大的变化,其中内源激素变化最显著,吲哚乙酸、赤霉素和细胞分裂素都比无毒植株低。由于内源激素的影响,植物受病毒侵染后呈现矮化、生长减缓是一个非常普遍的症状。针对病毒扰乱植物体内的激素水平,可通过人为施加外源激素进行调节,可在一定程度上缓解矮化症状。

## 1.4 主要园艺植物病毒简介

### 1.4.1 黄瓜花叶病毒

黄瓜花叶病毒是雀麦花叶病毒科黄瓜花叶病毒属(*Cucumovirus*)的典型成员,寄主范围广泛,可侵染85科65属1000多种植物,是寄主植物最多、分布最广、最具经济破坏力的植物病毒之一。黄瓜花叶病毒传播途径极广,不仅可通过多种蚜虫以非持久性方式传播,

且极易通过汁液摩擦接种传播；种子传播是黄瓜花叶病毒重要传播途径之一，但在不同作物上种传率不同（0.7%~55%），研究显示其在野生黄瓜上种传率较高。

黄瓜花叶病毒为单链正义 RNA 病毒，其基因组由 3 个 RNA 分子组成，其中 RNA 1 约为 3 350 nt，RNA 2 约为 3 050 nt，分别编码一个病毒 RNA 复制酶亚基，RNA 3 约为 2 190 nt，编码胞间运动蛋白（Movement protein, MP）和外壳蛋白（Coat protein, CP）。作为三分体 RNA 病毒，RNA 3 可在属中所有成员间交换，并仍旧产生有活性的病毒，但 RNA 1 和 RNA 2 仅能在种间互换，这些病毒基因组片段间重组的现象也是造成黄瓜花叶病毒不断出现变异的原因之一。

在病毒复制过程中，从 RNA 3 的 3' 端产生一种亚基因组 RNA，即 RNA 4，RNA 3 不直接产生外壳蛋白，而是通过 RNA 4 来产生。1976 年，Kaper 等发现，黄瓜花叶病毒除含有病毒本身 4 段 RNA 外，还有一种分子量更小的 RNA，称为卫星 RNA。卫星 RNA 不能独立侵染和复制，完全依赖于黄瓜花叶病毒的辅助作用，但卫星 RNA 能干扰黄瓜花叶病毒的复制，从而对病毒致病力产生影响，降低黄瓜花叶病毒浓度。卫星 RNA 对黄瓜花叶病毒症状能产生显著影响，大多数寄主上卫星 RNA 能减轻黄瓜花叶病毒症状。

黄瓜花叶病毒存在许多株系，根据寄主范围、血清学关系、病毒外壳蛋白肽链图谱分析、核酸杂交、PCR 产物酶切分析及核苷酸序列分析等，可分成两个性质不同的亚组。核苷酸序列分析是鉴定黄瓜花叶病毒株系的最可靠方法，特别是核苷酸序列分析可以将具有极其微小差异的两个或多个株系区分开，Roossinck 等根据黄瓜花叶病毒 RNA 3 的 5' 端非编码区序列和外壳蛋白基因序列又将亚组 I 分为 I A 和 I B，亚洲的多数分离物都属于 I B，其各个株系之间差异较大。国内大部分黄瓜花叶病毒分离物为亚组 I，很少发现属于亚组 II 的黄瓜花叶病毒分离物。亚组 I 存在明显分化，亚组 II 的外壳蛋白核苷酸同源性较高但分化不明显；亚组 I 较亚组 II 基因变异更多，因而更易克服寄主的抗性，更利于在不同寄主上存活，这也

可解释为何在我国大多黄瓜花叶病毒分离物为亚组 I，而亚组 II 很少被发现。总体上同一亚组株系在寄主范围、致病性等方面有一定的相似性，而不同亚组株系在寄主范围、致病性、复制及传播等方面均有差异。

### 1.4.2 烟草花叶病毒

烟草花叶病毒是烟草花叶病毒属 (*Tobamovirus*) 的代表种，人们对烟草花叶病毒的研究已经有一个多世纪。1857 年，Swieten 首次描述了烟草花叶病的症状，但到 1886 年才明确知道是病毒病。Mayer 把烟草患花叶病植株的汁液注射到健康烟草的叶脉中，引起了健康烟草的花叶病，证明这种病是可以传染的。1892 年，俄国一位年轻的植物学家 Iwanovski 不但重复了 Mayer 的试验，而且发现病原能通过细菌所不能通过的过滤器。后来，Beijerinck 于 1898 年重复和肯定了 Iwanovski 的结果并且证明显微镜下看不到病原物，试管里用培养细菌的方法也培养不出来，但它能扩散到凝胶中，因此得出结论：患病植株的汁液过滤后仍具有活性，烟草花叶病的病原是一种比细菌还小的“有传染性的活的流质”。1935 年，Stanlye 首次提纯了烟草花叶病毒，因而获得诺贝尔奖。1939 年，Kuasche 在电子显微镜下第一次观察到了杆状的烟草花叶病毒粒体形态。

烟草花叶病毒在世界各地皆有分布，其寄主范围十分广泛，可侵染 30 个科的 310 种植物。烟草花叶病毒除危害烟草外，还能侵染番茄、茄子、马铃薯、辣椒、龙葵等茄科植物，此外还能侵染葫芦科、豆科、石竹科、车前科、菊科、十字花科、唇形科等 36 种植物。烟草花叶病毒在烟草上的症状表现为花叶及斑块状褪绿及黄化，苗期感染导致植株矮化，重花叶在发病后期可产生坏死斑点。在心叶烟、珊西烟、菜豆、曼陀罗上产生局部坏死斑；在野生烟上为系统侵染。

烟草花叶病毒粒体为直杆状，长 300 nm，宽 18 nm。病毒粒体主要由外壳蛋白和核酸 (RNA) 组成。蛋白质外壳由 2 130 个相同亚基组成，每个亚基呈椭圆形，端部稍细，含 158 个氨基酸，分子