

中华人民共和国农林部
国营农场植保训练班讲义

(植物病毒和毒病)

华北农业大学植保系

一九七六年 三 月

目 录

第一部份 植物病毒的基础知识

一、植物病毒的基本概念	1
(一) 病毒	1
1. 病毒的形态及体积	1
2. 病毒的组成及结构	2
3. 病毒的增殖	3
4. 植物病毒的其他生物特性	3
(二) 菌原质体	4
二、植物病毒的侵入及传播	6
1. 传染病毒的生物介体	6
2. 植物病毒和生物介体的关系	7
三、植物病毒的诊断	9
(一) 症状类型及其变化	9
(二) 传染方式的确定	12
1. 关于昆虫及螨传染方式的测定	12
2. 关于线虫、真菌孢子及土壤传染的测定	13
3. 关于花药传染及种子传染的测定	14
4. 病株汁液摩擦传染的测定	14
5. 嫁接传染及菟丝子传染的测定	15
(三) 寄主范围及鉴别寄主的测定	15
(四) 病毒的致死温度的测定	15
1. 摩擦接种测定法	15
2. 人工饲虫接种测定法	16
3. 昆虫注射接种测定法	16
(五) 稀释限点及体外存活期的测定	17
(六) 病毒的提纯及电镜观察	17
1. 植物病毒的提纯	17
(1) 液汁的抽取	18
(2) 分化离心	18
(3) 精提纯	18
(4) 提纯植物病毒的其他方法	18
2. 病毒的电镜观察	19

3. 电镜用的超薄切片.....	21
(七) 病毒的抗血清制备及抗血清反应测定.....	22
1. 试管沉淀反应法.....	23
2. 玻片微量凝集反应法.....	23
3. 培养皿微量凝集反应法.....	23
4. 半固体双相双向渗透反应法.....	23
附: 植物病毒和毒病插图.....	24

第二部份 重要农作物主要病毒类型检索表

(一) 小麦的病毒类型.....	36
(二) 水稻的病毒类型.....	38
(三) 玉米的病毒类型.....	39
(四) 十字花科作物的主要病毒类型.....	40
(五) 茄科作物的主要病毒类型.....	41
甲、马铃薯.....	41
乙、烟草.....	43
丙、蕃茄(附辣椒).....	44
(六) 瓜类作物的病毒类型.....	46
(七) 豆科作物的病毒类型.....	47
甲、芸豆(菜豆、四季豆).....	47
乙、大豆.....	48
丙、蚕豆(胡豆).....	49

第三部份 我国麦类、玉米上主要的病毒病害

麦类: 一、麦类黄矮病.....	50
二、小麦丛矮病.....	53
三、小麦红矮病.....	55
四、小麦蓝矮病.....	56
五、麦类条纹花叶病.....	57
六、小麦土传花叶病.....	58
七、糜疯麦(小麦条点花叶病).....	60
玉米: 一、玉米矮花叶病(附玉米甘蔗花叶病).....	61
二、玉米粗缩病(附水稻黑条矮缩病).....	63
三、玉米病毒性枯斑病.....	64
四、两种尚未确诊的玉米病毒病.....	65

第四部份 检疫性的病毒病害

苹果锈果病.....	67
柑桔黄龙病.....	71
桑萎缩病..... (江苏省蚕业研究所) ...	77

第一部份 植物病毒的基础知識

一、植物病毒的基本概念

在农作物病害中，有许多病害用人工的分离培养没有能够看到它们的病原物。真菌病害和细菌病害都可以用光学显微镜观察其菌体或其繁殖器官，也可以用人工的分离培养（除少数纯寄生物之外）来扩大其数量。那么这类用光学显微镜不能观察其病原物，又不能用人工培养来扩大其数量的病害又是属于那一类的病害呢？最初当植病科学水平还比较低的年代，人们认为这类病害可能是属于营养的失调或环境条件的不合适之类的原因，从而认为是一类“生理病害”。但是后来发现，这类“生理病害”中有一部分是可以传染的。真正的生理病害是不能传染的，因此人们又假设其中可能存在着一种比细菌小得多的微生物，作为这类病害的病原物。很早人们就证明有一种细菌通不过的滤器，可以被这类微生物通过，从而把它们称之为过滤性病毒。农作物的这一类病害便称之为病毒病。

本世纪的三十年代，人们把病毒从病植物中分离了出来，经过化学测定，发现它们只是一种核酸和核蛋白的组成。到了四十年代，由于电子显微镜的发明，更观察到了各种病毒粒体的形态。于是对于病毒如何传染，如何使植物发病有了更多的研究和更多的了解，逐渐形成植物病毒学这一门科学。到了六十年代又发现另有一种微生物，比一般的病毒大而结构复杂，但比细菌又简单得多。它们不同于病毒，可是，过去把它们当作病毒来对待是错误的。这一类病原微生物称作类菌原质体（*Mycoplasma*）。下面要分别谈谈病毒和类菌原质体的有关属性。

（一）病 毒（Virus）

1. 病毒的形态及体积

现在知道，不论高等的动植物或低等的微生物如细菌，都可以被相应的病毒所寄生。从现代电子显微镜中观察，高等植物的病毒的体形有杆状的、条状的、球状的（又称等径多面体）和弹状的或杆菌状的（图1及2）。细菌的病毒叫作噬菌体（Phage），往往有一个多角体或球状的“头部”和一条纤细的“尾部”。低等植物如真菌也有病毒，其粒体一般是球状的。在蕨类植物中分离出来的一种病毒是杆状的。最近从藻类植物蓝绿藻中分离出一种病毒（LPP—1）是多面球体的（直径56nm），有一尾部（长14nm）其实具有“尾部”的病毒还不限于低等植物，就是高等植物如蕃茄的斑萎病毒也是一个有“尾部”的球体。

有些病毒在它们的粒体外围有一层外膜或鞘膜，例如马铃薯黄矮病毒在其短杆状的粒体外有一层鞘膜，又如水稻黑条矮缩病毒的球状粒体和蕃茄斑萎病毒的粒体外也有一层鞘膜。这种鞘膜并不是病毒的组成部分而是在形成过程中有一些寄主原生质中的组成附着上去的。因此，移去这种外膜并不影响病毒的侵染力及生活力。

测量病毒的体积要使用更小的单位。一般用的 nm 或 μm 即微毫米, 相当于百万分之一毫米或相当于 $10\text{\AA}$ (埃)。一般杆状的病毒粒体长约 130—300nm, 宽约 8—25nm。线条状粒体长约 480—1250 (个别 2000)nm, 宽约 10—11nm。球状粒体的直径一般在 16—80nm 之间。杆菌状的粒体长约 20—60nm, 宽约 18—19nm。有个别大型的杆菌粒体长达 170—330nm, 宽达 63—100nm。从这些测量, 我们就可以得知为什么光学显微镜不能用来观察病毒的粒体, 因为最好的光学显微镜只能看到长和宽都超过 200nm 的物体。现在病毒粒体的测定都满足不了这个要求, 有时长度够了而宽度远远不够。电子显微镜能分辨出 1nm 甚至小于 1nm 的物体, 所以只能用电子显微镜来观察病毒粒体。

过去大家都认为一种病毒就只有一种粒体, 它们的大小应该是差不多的。也就是说一种体积的病毒粒体代表一种病毒。目前, 这种认识已经不够全面了。虽然大多数的病毒是属于这样的情况, 可是有一些病毒就不是这样。换句话说, 就是一种病毒可能由两种、三种甚至五种体积不同的粒体所组成。只有几种粒体共同存在时才能表现出那种病毒的全部特性来。例如烟草坏死病毒 (TNV) 就具有两种球状粒体, 大粒体的直径为 26—30nm, 小粒体的直径为 18—20nm。这种小粒体有人称之为“卫星病毒”, 因为它和 TNV 的大粒体有着密切的辅助关系。又例如苜蓿花叶病毒 (AMV) 具有大小不同的五种粒体, 最小的一种是等径球体的 (18—19nm), 依次成为长短不一的杆菌状体, 其体积相应为 $26-39 \times 18\text{nm}$, $42 \times 18\text{nm}$, $53 \times 18\text{nm}$ 及 $59 \times 18\text{nm}$ 。只有全部粒体共同存在时, 才能发生 AMV 所能诱致的全部症状。

2. 病毒的组成及结构

从化学分析中得知, 不论那一种病毒都包括两个部分: 一个是心部的核酸, 一个是外部的蛋白或聚胺。每种病毒所含核酸和蛋白的百分比是不一样的。核酸所占成分可以从 5% 一直到 40%。蛋白所占成分可以从 60% 到 95%。对植物病毒来说, 凡是条状粒子的病毒往往所含核酸的百分比比较低, 而含蛋白则较高; 球状体病毒则相反。有少数病毒只有核酸没有蛋白外壳。这种病毒现在称作类病毒 (Viroid)。

病毒的蛋白是由二十种氨基酸组成的。氨基酸的不同种类及其各种排列, 便形成各种性质不同的蛋白。病毒外壳的蛋白, 其氨基酸的种类及排列都是由其心部的核酸链来决定的。

病毒的核酸有两种: 一种叫作戊糖核酸 (RNA), 另一种叫作去氧戊糖核酸 (DNA)。动物病毒, 细菌病毒和蓝绿藻病毒 (LPP-1) 的核酸都属于去氧戊糖核酸而一般高等植物的病毒大多数属于戊糖核酸。当然个别动物病毒中也有含 RNA 的。

核酸常常是链状的。这种链是由二种不同的嘌呤和二种嘧啶所组成。一般戊糖核酸的两种嘌呤是腺素 (A) 及胞碱素 (C), 两种嘧啶是鸟粪素 (G) 及嘧雪 (U)。去氧戊糖核酸的嘌呤和嘧啶基本上是一样的, 只是嘧雪换了胸腺素 (T)。从全面来看, 核酸 = 嘌呤, 嘧啶 + 戊糖 (或去氧戊糖) + 磷酸。

DNA 的链常常是双链的, 这两条链很稳定。

RNA 的链常常是单链的, 偶然也有双链的, 但不稳定。现在双链或单链在病毒分类上也作为特性之一。

核酸是病毒生命的基础 (当然也可以说是一切生物的生命基础), 因为核酸是病毒进行繁殖的主体, 同时也是决定病毒的致病力的基础。这种生命物质在活细胞中很容易受到核酸

酶(例如 RNAase或DNAase)的消解作用,而用来保护它们的便是那一层蛋白外壳。一定的核酸组成一定的蛋白外壳。蛋白外壳虽然主要是起保护作用,但有些病毒的外壳也或多或少影响到病毒的致病特性。

3. 病毒的增殖

我们知道细菌的繁殖是用细胞缢裂的方式,因此也叫作裂殖菌。这种缢裂是在细菌细胞获得了足够的营养之后才开始的。细菌在吸取营养,分解它们并合成新的生活物质是完全依靠细菌自身的酶系统。病毒却完全没有这种酶系统。它们唯一的能力便是诱使被寄生的细胞改变它的合成方向,使寄主细胞为病毒合成与其相同的核酸及蛋白。

病毒在进入活细胞后,如前所述,不能游离在细胞质中。因为那样会被核酸酶所钝化掉。它们必须要进入细胞中的接受点,才能开始活动。这种接受点现在已经阐明是细胞中的一种核酸脂载体(Ribosome)。关于病毒粒体如何增殖,现在还不过是一种以实验为依据的设想。这种增殖过去叫作“造模增殖”,现在也叫作“样板复制”。简单的来说就是一条核酸链吸取相应的嘌呤和嘧啶形成另一条核酸链。这条核酸链的作用就好比照相的底片(负片),用它来复制出许多“正片”来。那些“正片”就与原来的核酸链一模一样。新制成的“正片”又可以产生更多的“负片”,从而“印出”更多的“正片”来。所以这样的增殖又叫作“样板复制”法。单链RNA复制时比较简单,而双链的DNA或RNA就比较复杂些,因为双链第一步必须先脱开来成为单链。DNA的单链还不能直接制成样板(“负片”)而必须先形成一条与之相应的RNA链,再进行增殖。为什么DNA的单链不能直接形成其样板,这是由其化学结构所决定的。这里不予详细讨论了。

4. 植物病毒的其他生物特性

增殖或繁殖是一切有生命的生物特性之一。病毒的增殖虽然非常特殊,但不能排除它,说它不是繁殖的一种方式。事物的发展都是由简单到复杂,繁殖方式当然也是如此。除此以外,病毒还具有一种纯寄生物的特性,即除了活的寄主细胞外,不能在活体外进行生活活动。还有它们对寄主有一定的选择性,即某些植物病毒只能寄生在某些植物上,并且发生特定的症状。这和细菌及真菌等寄生物,特别是真菌中的纯寄生物是一致的。

病毒的活动也受到外界物理化学条件的影响,例如病毒在寄主细胞中活动时也受温度的影响,因此每一种植物病毒的生活活动也有一个最适温度,最高温度和最低温度。当然病毒在植物体内活动,温度对它的影响既可能是直接的,也可能是间接的。如果病毒在活体外处于一种温度下十分钟后,便被钝化的这种温度就叫作致死温度或更确切些叫作钝化温度。什么叫钝化?这是病毒的蛋白壳凝固了或者变质了,或连内部的核酸都分解了,于是就失去了病毒的生命力。一切对生物有害的辐射对病毒也有影响。

化学物质对不同的植物病毒有不同的反应。在活体外对病毒的活力最有影响的是一些强氧化剂,蛋白沉淀剂以及强烈改变pH值的一些物质。有些消毒剂如升汞水,福尔马林液、酚、磷酸皂(或一般肥皂)及硫酸铜等都对病毒有强烈的钝化作用。这里要指出有许多抗生素在动植物体内治疗细菌是有效的,可是治疗病毒病是无效的。维生素C(抗坏血酸)对病毒有强烈的钝化作用。

病毒在干的植物组织中能保持活力达多长时间，叫作体外存活力。这种体外存活力也说明某一种病毒对于干组织中的各种酶及氧化剂的抵抗能力如何，因此过去也常用来作为区别病毒的一种生物特性。

我们习惯把植物病毒和动物病毒划分得很清楚，然而实际上有一些植物病毒同时也是昆虫病毒，因为它们既能在植物体内增殖，也能在昆虫体内增殖，例如水稻的普通矮缩病毒在叶蝉体内和小麦的丛矮病毒在飞虱体内都是如此。

(二) 菌原质体 (Mycoplasma)

在六十年代以前，有一些植物“病毒”病害表现为叶部的全部黄化或植株的全面矮缩或侧芽发展成为丛枝，或者花瓣变成叶状等。这类病害都不能用摩擦接种传染，一部分可以由叶蝉传染，大多数只能用人工嫁接来传染。过去把这种“病毒”来通过细菌滤器虽然也能成功，但比较困难，因此认为这是一种大粒体的“病毒”。对于这一类“病毒”采用对一般病毒提纯的方法，并不能成功地把病毒提出来。

到六十年代，电子显微技术日益发展，而超薄切片技术也已广泛应用。这时在这一类“病毒”病组织的超薄切片电镜观察中，未能看到任何病毒的粒体，而只存在一些菌原质体类的个体（图3）。菌原质体并非是新的病原物，因为在动物病中早已描述过（我国医学文献中称作支原体）。现在的问题是这种病原个体是否就是菌原质体或只不过类似于菌原质体（或简称类菌原质体）。

这种个体只限于植物的韧皮部细胞的胞质中。它们是球状的，卵球状的或不规则状的。直径在 80—800nm 之间。外面有一层膜，但是没有细胞壁。这层膜是由三层分子组成的。最外一层是脂，中间一层是蛋白，最里一层又是脂。这三层分子组成一个脂蛋白膜整体（见图4）。

这种个体可以分为大小两类。小个体的直径为 100—250nm。近圆球形，其中具有很多类似核酸脂载体的小粒子（直径13nm），还有象细菌细胞中的 DNA 那样的条索（图4）。大个体的直径为 300nm。有一个中央空泡，也有围绕着外膜排列的核酸脂载体（图4）。除此以外还有可溶性戊糖核酸，可溶性蛋白，去氧核糖核酸及其他代谢物质。由于缺少细胞壁。因此形态不稳定，可以拉长或成为变形虫状等。

这种个体的繁殖类似于细菌的缢裂，但更象酵母菌的芽殖。由此可见，这种微生物不同于病毒。它们有自己的酶系统，能摄取营养，达到一定程度便进行缢裂繁殖。

在动物病的病原菌原质体中，大多数是可以用人工在特殊的培养基上分离培养的，而且人工培养后的新菌原质体可以接种到动物的体内，使其产生同样的疾病。在植物病害中的这类菌原质体，只有极少数可以分离培养，例如甘蔗的白叶病，苜蓿丛枝病和玉米矮化病。

侵染动物的菌原质体对四环素类的抗生素是非常敏感的。侵染植物的这类病原物也同样对这类抗生素比较敏感，因此用这类抗生素可以治疗桑树的萎缩病，枣疯病和苹果的锈果病等一类病害。

另外一个问题：为什么这种菌原质体类的个体只限于韧皮部细胞中？现在已经知道的是：这种微生物要求微碱性，需要固醇类物质为营养，对渗透压崩解性有抵抗力。这三个条件只有韧皮细胞能够满足。为什么只是叶蝉才能传染？可能因为叶蝉吸取营养的部位在韧皮

部，从而能把病原物送入其内，此外还有一个菌原质体和叶蝉的亲和问题，也就是说，哪一种菌原质体在哪一种叶蝉体内能繁殖就确定了传染的专化性。

那么现在我们所讨论的这类微生物是否就是菌原质体？不是的，还不是全部特性完全一致，因此现在只把它们称作**类菌原质体**。

有人说，这种类菌原质体就是细菌的可滤性阶段。我们知道细菌在遇到青霉素时会不产生细胞壁形成所谓细菌的 L—型。细菌的可滤性阶段是可以复元的，也就是可以再生细胞壁而这种类菌原质体是永远不生细胞壁的。还有一点，不管是细菌还是细菌的 L—型都对青霉素非常敏感，而类菌原质体却对青霉素是非常抵抗的。目前我们对于这一类病原物的认识只有如此。因为它们所致的病害和病毒病易相混淆，过去是无意识地将它们归入病毒一类来研究，现在虽然已经知道它们不是病毒病，为了方便起见。仍归在一类来讨论。下面列举一些目前已知的类菌原质体病害：

病 害

桑树萎缩病
马铃薯丛枝病
翠菊黄化病
泡桐丛枝病
玉米矮化病
蕃茄巨芽小叶病
水稻黄萎病
水稻草状矮缩病
甘蔗白叶病
苜蓿丛枝病
棉花变绿病
茄子小叶病（即蕃茄巨芽小叶病）
豆类小叶病
苹果锈果病
苹果胶木病
桃小实病
燕麦不孕矮缩病
番木瓜束顶病
桃黄化病
梨衰病
马铃薯紫顶萎病（同翠菊黄化病）
草莓绿瓣病
枣疯病
烟草黄矮病
花生丛枝病
甜菜黄萎病

已知傳染方式

菱纹叶蝉 (*Eutettix disciguttus*)
叶蝉 *Ophiola flavopicta*
二点叶蝉 (*Macrostelus fasciifrons*)
—
玉米叶蝉 (*Dalbulus maidis*)
多种叶蝉 *Macrostelus laevis* 等
黑尾叶蝉 (*Nephotettix cincticeps*)
褐飞虱 (*Nilaparvata lugens*)
叶蝉 *Matsumuratettix hiroglyphicus*
褐叶蝉 (*Orosia argentatus*)
叶蝉
叶蝉
嫁接
嫁接
叶蝉 *Macropsis trimaculata*
灰飞虱 (*Laodelphax striatella*)
叶蝉 *Empoasca papayae*
叶蝉 *Macropsis trimaculata*
梨木虱 (*Psylla pyricola*)
叶蝉
叶蝉 *Euscelis lineolatus*
嫁接
叶蝉 *Nesophrosyne argentatus*
褐叶蝉 (*Orosia argentatus*)
叶蝉 *Atanus exitiosus*

二、植物病毒的侵入及传播

植物病毒只能通过植物表皮细胞上的极细微的伤口（即不影响细胞生命的伤口）侵入植物体内。因此在植物茎叶表皮摩擦致伤的部位可以侵入，同时也可以通过刺吸口器的昆虫，在它们吸食时把病毒带入细胞内。此外用一切嫁接的方法也可以由带病毒的接枝或接芽把病毒传到无病毒的接本上去。

病毒一旦侵入合适的寄主后，便在细胞中大量增殖。在一个细胞中增殖的病毒又可以通过细胞之间小通道称作胞间连丝（Plasmodesma）的扩展到邻接的细胞中去，而扩展得更快的是通过维管束中的韧皮部的筛管，向植物的上下转移。各种病毒在植物的什么组织中才能大量繁殖是各不相同的。有些病毒在叶肉组织或薄壁组织中就能繁殖，而有些病毒只能在韧皮组织中繁殖，更有少数病毒只能在木质部繁殖。

一株发病的植物并不是所有细胞或所有组织中都有病毒的，因为病毒在植物体内的分布是极不均匀的。此外在衰老的部分，病毒的量就极小，而在生长发育旺盛的部分病毒的量就较大。

在自然情况下，病毒如何传播的呢？

主要的传播方式是依靠昆虫及螨类。另外是依靠无性繁殖，例如接枝、接芽、分根及压条等。比较少的是依靠土壤中的真菌及线虫。有少数病毒可以通过花药来传染。病植物结的种子只有一部份带有病毒。并非所有植物病毒都能通过种子来传播。即使是一种植物的某一种病毒能通过种子传播，也不是所有的种子全都带有病毒的，其中只有一部份带毒。虽然说通过摩擦可以传染，但在自然情况下，这种传染方式是有限的。

最重要的是昆虫、线虫及螨类的传播。昆虫里面传染一般农作物病毒最多的首先是蚜虫、叶蝉及飞虱。这些都是刺吸口器的昆虫，另外有一些咀嚼口器的昆虫也能传染，但没有刺吸口器的那样普遍和重要。

1. 传染病毒的生物介体

一切可以传染病毒的生物叫作介体（Vector），现在已知的介体有线虫、螨、蚜虫、叶蝉、飞虱、角蝉、木虱、粉虱、水蜡虫、蓟马及真菌等。有一些咀嚼口器的甲虫也常常是某些病毒的传染介体。

目前已知传毒的线虫属于三个属：即长线虫属（Longidorus），剑线虫属（Xiphinema）及毛线虫属（Trichodorus）。长线虫属及剑线虫属是一些球体病毒的介体，例如蕃茄黑环病毒，樱桃卷叶病毒等。毛线虫属是一些管杆状病毒的介体，例如烟草脆裂病毒。

蚜虫是传毒介体中非常活跃的一种昆虫。世界上已经记录的传毒蚜虫有 242 种，其中至

少传一种病毒的有 192 种。有一些蚜虫如桃蚜可以传多种病毒。它们传毒的方式有两类：一类是以病毒带在口针上传染，另一类以病毒通过体内循环后再传染。世界上许多重要病毒病都由这一类昆虫传染，例如麦类的黄矮病，大白菜的孤丁病等。

飞虱和叶蝉象蚜虫一样是刺吸口器昆虫。它们的若虫及成虫都能传毒。有些病毒还能通过带毒虫的卵来传染（经卵传染）例如水稻的普通矮缩病。病毒能在这种介体中循环和增殖。它们传染的大多数是只能在植物韧皮部增殖的病毒。重要的病毒病如小麦丛矮病，玉米粗缩病，水稻黄矮及黄萎病都是由这类介体传染的。

角蝉或树蝉（*Microtalis* sp.）目前只发现它传染热带蕃茄的伪曲顶病。这种病害到底是病毒还是菌原质体也还不清楚。木虱（*Psylla pyricola*）仅知它是传染梨衰病的介体。这种病害已证明是属于菌原质体的。粉虱（*Bemisia*）只知道对热带的少数病毒及菌原质体有传播作用，例如烟粉虱（*B. tabaci*）可以传染烟草曲叶病，黄网病及锦葵科植物的一些退绿病毒。水蜡虫或粉介壳虫（*Pseudococcus*）已知是传染热带可可树肿枝病毒的介体。此外有一些昆虫由它们的咀嚼口器传播一些病毒。最著名的是蚜虫传染烟草花叶病毒。蓟马可以传染少数病毒，例如蕃茄的斑萎病及烟草的环斑病。

螨的作为传毒介体，现在愈来愈清楚了。例如麦曲叶螨（*Aceria tulipae*）可以传染小麦的糜疯麦（即小麦条点花叶病毒）及小麦斑点花叶病。另外一类螨（*Tetranychus*）可以传染马铃薯的 Y 病毒。

菌类作为植物病毒的介体是近年来发现的事。现在已经知道有七种所谓土壤传染的病毒是由土壤中生活的低等藻菌传染的，例如烟草坏死病毒是由甘蓝壶菌（*Olpidium brassicae*）传染的。这一属的菌类还能传染莴苣巨脉病毒及烟草矮化病毒。小麦的土传花叶病毒是由多粘菌（*Polymyxa*）传染的。马铃薯的帚顶病是由粉痂菌（*Spongospora subterranea*）传染的，而马铃薯 X 病毒可以由癌肿病菌（*Synchytrium endobioticum*）传染。

最后谈谈菟丝子（*Cuscuta* spp.）这是一种寄生的显花植物，能结种子，由于它们寄生多种高等植物，因此可以用来作为联结两种植物而把一个植株上的病毒传染到另一个植株上去。不过要注意有一些菟丝子的种，例如加州菟丝子（*Cuscuta californica*）本身就带有一种潜病毒，但菟丝子无症状，如果传染到别的植物上去，可能出现严重的症状。因此选择菟丝子作为介体，必须事先注意其是否带有潜病毒。

2. 植物病毒和生物介体的关系

昆虫在传染病毒时可以分为专化性的及非专化性的。所谓**专化性的**（specific）即是说某一种病毒只能由某一种或几种近缘的虫种来传染，其他都不能传。所谓**非专化性**（nonspecific），即一种病毒可以由类似的刺吸或咀嚼方式的虫种来传染。凡是专化性传染的昆虫或螨和病毒之间往往具有密切的生物学关系，有时传毒昆虫本身就是病毒的一个寄主。

从介体的生物学关系来看，一般可以分为三个类型：（1）传毒虫得到病毒后，病毒只在口器部分起传染作用，经过若干次的刺吸或咀嚼寄主植物后，病毒在口器部份就消失了，不能再传染。这一类称作**非持久性的**（non-persistent），（2）一个介体在得到病毒后，病毒通过胃肠和血淋巴，达到唾腺，通过唾腺分泌的唾液再传染病毒，但病毒不能在这些介

体中繁殖或极少繁殖，因此，一旦唾腺的病毒已经完全排出后，便不能再传染了。这一类介体能传染病毒经历的时期，有长有短，视其进入体内的病毒的数量而定，所以称作**半持久性的**（Semi-persistent）。从病毒进入虫体到病毒达到唾腺而能开始传染时需要一段时间，这段时间称作**循环期**（Circulation period）。（3）同半持久性的情况很相象，但病毒在介体内不断地繁殖，因此介体一旦得毒后终生都能传染，至死方休。这就称作**持久性的**（Persistent）。从病毒进入虫体到病毒繁殖至一定的量而达到唾腺，并开始能传染，也需要一段时间。这段时间既包括病毒繁殖的时间，也包括病毒通过胃肠，进入血淋巴，到达繁殖场所，再进入唾腺的时间，因此称作**潜育期**（Incubation period）。这些生物学关系，特别是循环期和潜育期的长短往往是鉴别病毒的标志之一，但是这类时期的长短也是受环境影响的。一般来说最接近于介体生长发育的环境，这类时期最短，相反就长。

有少数介体，能将病毒传给它们的卵，从而新孵化出来的幼虫就能传毒，这种方式叫做**经卵传染**（Transovarial transmission）。但经卵传染有一定的百分率，不是全部卵都带病毒。

一个终生能传毒的昆虫，在它的传毒过程中，往往有间歇现象，即在若干天内能传染，其后一两天不能传染，以后又恢复传染能力。如此反复前进一直到死亡。这种现象叫作**断续传播**或**传染**（intermitent transmission）。这是由于昆虫血淋巴内病毒一时生产量不足所引起的，因此是很自然的。

三、植物病毒的诊断

植物病毒，由于其体积太小，在一般的情况下，不可能直接根据病毒的形态特性来区分它们。在电子显微镜发明以前，人们也区分出一系列不同的病毒，那是根据一些间接的生物学特性来区别的。这些早期没有看到病毒粒体以前的区分到后来用电子显微镜观察复证后，极大多数也是很正确的。当然有一些区分出来的单位，经过进一步的血清反应试验，被认为是属于同一类型的也有。这里列出六项诊断要点：

1. 症状的类型及其变化
2. 侵染方式的确定
3. 寄主范围及鉴别寄主
4. 致死温度、稀释限点及存活期
5. 病毒的提纯及电镜观察
6. 病毒的抗血清反应

1至4项是属于间接诊断的，也就是较早时期所用的诊断方法。5至6项是属于直接诊断的方法，也就是较现代的方法。这里必须指出，要确定一种病毒，单用1至4项，可以作出初步鉴定，但不能作绝对的结论，因为绝对的结论必须在进一步作了5及6项才能作出。然而反过来只进行第5项而不进行1至4项，那么什么鉴定也不能作出。至于第6项，在具有已知的抗血清情况下，能单独作结论。如果是一种新的病毒，还不存在已知的抗血清时，那么第6项只能告诉人们它不是某一病毒，而不能告诉你它是什么病毒。因此对一种新病毒来说，主要必须完成1至5，最后用第6项来看看它和那一类病毒有亲缘关系。

在过去的间接诊断中，还采用沉淀常数等物理数据，现在既然可以直接从电镜中观察病毒的体形及大小，因此这一项目就不是必要的了。

现在把各项具体内容简述如下：

(一) 症状类型及其变化

1. 花叶 (mosaic)：这是指叶片色泽不匀，形成深绿淡绿，黄绿相间等症状。(图5)

这一类又可以分为：

斑驳 (mottle)：即不同的色泽成为块状或圆斑状的相嵌，大多出现在双子叶植物上，但单子叶植物上有时亦能出现。果实上亦可能出现。(图6D)

条纹 (stripe, streak) 条点 (striate)：即在单子叶植物的平行叶脉间，出现不同色泽的长条纹，短条纹或由小而短的点及条连续成为虚线状的长条，有时短条是棱形的，即两端

狭，中间宽叫**梭条纹** (Spindle streak)。(图8)

沿脉变色 (Vein-banding)：即沿着叶脉平行地退色，象镶上一道边。(图6 E)

脉明 (vein-clearing)：有时亦称明脉，即叶脉成为半透明，这往往是形成花叶症的前期或初期症状。(图12)

黄色 (yellow stipple)：叶片上出现无数单生或联合的小黄点。(图13)

2. 环斑 (Ring spot)，**环纹** (Ring Line)，**线纹** (Line pattern)，**橡叶纹** (Oak line pattern)：(图6)所有这些指的是在叶面或果面形成单线的或同心纹的环。环的线纹可能是淡色的或枯死的(**环斑**) (图7)；如果线条虽有形成环的趋势，但不形成全环而作连续的一环状屈曲状，也有单线的或双线的(**环纹**) (图6 F, G)，如果线纹不成环状那就叫做**线纹**，如果线纹在叶片上形成如一张橡树叶的轮廓，那就叫做**橡叶纹**，有时也称**橡叶症**。(图9)

3. 变色：这主要指叶片色泽的全部或局部变成缺少叶绿素(**退绿** chlorosis)，变黄或橙，变红或紫，变深蓝等。(图27)

4. 畸形生长：这里包括各种反常的生长现象。

丛枝 (witches broom)：在一个芽点上抽出许多瘦弱的枝条，象帚把一样，俗称“**疯枝**”(图26)。

丛簇 (Rosette)：这是指草本植物从根部或其他生长点上抽出许多分蘖，形成簇状的丛。(图25)

变叶 (phyllody)：即原来应该是花瓣器官变成叶状，或花瓣失去原来的色泽而出现叶绿素。

扁枝及肿枝：即枝条或树干不成为圆柱形而成为扁圆柱形或在某些部位肿大成棒槌状。(图28)

凹穴：这发生在树木的树皮上，出现小的陷穴。(图21)

皱缩、疱斑、曲叶 (leaf curl)、**卷叶** (leaf roll)：皱缩是指叶面高低不平，疱斑是指叶片上有鼓起疱状生长，曲叶及卷叶的意思有时都指叶片上卷或下卷，严格来说，卷向同叶片主脉成直角的叫**曲叶**；同主脉平行的叫**卷叶**。(图10, 29)

小叶、小果：指叶片或果实比一般的瘦小，有时数量增多。

畸叶，畸果：指叶片变形及果实变形(图20, 11)。

耳突：(enation) 这是指在叶片的叶脉上长出一些象耳朵状的增生物。(图23)

脉突：指在叶脉上的某些部分，叶脉变粗而鼓起，有时甚至变色。(图24)

瘤肿：这是指在病植株任何部位长出的瘤状肿大物。(图28)

矮化：这是指一切节间缩短或停留不能伸长的症状。

5. 坏死及变质：**坏死** (necrosis) 是指植物的某些组织死亡。例如在叶片上发生斑点状的坏死就叫做**坏死斑**(图14, 15)，条状的死亡就叫作**坏死条**(图30)。还有一些叫作**叶脉坏死**(图16)。在韧皮部可以发生**韧皮坏死**，在生长点或顶芽可以发生**顶尖坏死**等等(图17)。变质是指植物组织的质地变软或变硬或不该生长木栓的地方长出木栓等等，此外，在果实表面还可能发生星状裂开(**星裂**)或纵状裂(**纵裂**)(图18)。在树皮上可以形成**溃疡**(图22)。在块茎中又有**网状坏死**和**腹网状坏死**指的是块茎中部分组织的死亡。(图19)

一种病毒所引致的症状，往往不止一种，而且早期和晚期表现的症状也不一致，譬如有些病毒病害在早期发生的症状，往往到后期就隐蔽了。有时我们看到一个名称叫作“绉缩花叶”的那就是既有花叶症，也有绉缩症（图10）；又如黄矮病，那就是既有黄化症又有矮化症。另外一些病名只不过指出其中最主要的症状之一，例如小麦丛矮，不过指出它有丛簇症又有矮化症而已，实际上还有条纹花叶症。

记载症状是诊断的一个重要步骤，但必须注意在自然情况下同一株植物往往可以受两种以上病毒的同时侵染，因此出现一些非常复杂的症状，这类症状只有通过病毒的分离接种才能确知那一种病毒对那一种症状负责。有些症状只有在混合接种时才出现，单独接种时永远不出现。

由此可见，对一个新的病毒病害，不能单凭症状来确认，除非通过上述诸诊断步骤后，才能作出结论。当然对于一些已经确知的病毒病害，可以凭症状来作初步诊断。这种诊断只能指出其主要病原是什么，而不能象其他真菌或细菌病害那样，可以立刻完全排除存在其他病原物的可能性，因为有时确实除主要病毒外，还可能存在着其他病毒。

上面介绍的是外在症状，这是所有病毒病都具有的，因此也是重要的诊断标志。除此之外，有一些植物病毒病还在其病细胞中出现一些特征。这就是一般称作**细胞内含体**的。可惜不是所有的病毒病都能看到内含体，而且病毒同内含体的种类并没有一定规律。这种细胞中的特征，由于可以用光学显微镜，特别是相差显微镜看到，因此是植物病毒诊断时的一种参考标志。

细胞内含体简单地来说，有两个类型：一个是结晶体的，一个是非晶体的（图31，32）过去常把非结晶体的内含体称作X—小体。从结构来看，结晶体常常是（1）由病毒粒体整齐排列堆叠而成，（2）由病毒粒体和一些蛋白分子聚积而成，（3）由非侵染性的蛋白分子组成。至于非晶体内含体则由病毒粒体杂乱分布而成。

这些内含体可从叶片的丛毛中，叶片或茎的表皮细胞中（特别是在叶背的表皮细胞中）。有一些存在于内部的柔膜细胞中，必须采用切片的方法来观察。韧皮细胞和生长点中不存在内含体。

撕下的表皮和切片必须在真空下放入生理盐水中，然后取出置于相差显微镜下观察。如果染色，则采用1%焰红素（Phloxine）的水溶液染30秒钟，用水冲洗，置于水滴中观察。在一般光学显微镜下可以看到细胞核被染成淡红色，细胞小核被染成鲜红色。非晶体内含体也呈鲜红色。晶体及其细胞质粒都无色。

细胞中有时有草酸钙的晶体，往往易于混淆，只须在切片上加一小滴弱酸例如乳酸之类，便能使其溶解，而内含体是不会在弱酸中溶解的。

非晶体的内含体都是颗粒聚积状，而且是半透明的（图33）。晶体一般是无色的，有六角体，不规则晶体，圆片体及长晶体等。还有梭状及针状的假晶体等（图35）。针状晶体有时团集成束，只有在弱酸中才能散开来。有些晶体是长纤维状的，在细胞中往往形成8字形（图34）。还有一些是管状的，杆菌状的，风轮状的，卷状的，片状的，卷片状的，环状的等等。但有些内含体中完全没有病毒粒体，只不过是得病后细胞中出现的副产品而已。

过去认为细胞核中不存在内含体的看法是不确实的了，因为细胞核也可能有长方片状的或六角体的内含体。此外细胞小核可能肿大或呈芽苗状（例如在马铃薯Y病毒的场合），有

时有许多针状晶体从小核中突出来（例如豌豆坏死病毒）（图33）。在个别场合甚至空胞中也有内含体。

（二）傳染方式的确定

傳染方式是诊断一种病毒的重要步骤之一，具体分析，有下述一些傳染方式：

昆虫傳染

蚜虫傳染

叶蝉傳染

飞虱傳染

其他昆虫傳染

螨傳染

线虫、真菌孢子及土壤傳染

花药傳染及种子傳染

病株汁液摩擦傳染

嫁接傳染及菟丝子桥接傳染。

1. 关于昆虫及螨傳染方式的测定：

作这一类测定时，不论是何种昆虫或螨都必须饲养在有细网眼的纱笼内，一方面可以通风透光，另一方面可以防止外部昆虫的侵入或内部昆虫的逸出。纱笼的大小形式依培育植物的种类及数量而异。方形的大笼既可以全面用纱，也可以一部分用玻璃，但必须在一面留有两个活动小窗户，以便将手伸入捕虫及工作（图36）。小型的笼既可以仿大型的缩小而不必留小窗户，而应使一面有小门可以启闭。更小型的则可以用直径1—2寸的玻璃管，在近底部处开两个孔，蒙上纱网，顶部亦蒙上纱网。这样既便于工作，亦利于通风（见图37）。

所有用来作傳染接种试验的昆虫都要确定是不带病毒的。一般不经卵傳染的病毒，可以用虫卵在健植株上孵化繁殖，或用初生出来的若虫（例如蚜虫）移到健株上繁殖，如果有可能经卵傳染的病毒，就必须事先在有关寄主植物上分别饲养雌雄若虫，确定其不能引致病害后，才把它们大量地并笼，使它们交配产卵繁殖。

在接种前必须准备各种龄期的幼苗，每一龄期相差48小时（即每隔48小时播种一次）。给予同样的温湿度管理，俟上述条件具备后，即可开始接种。

第一步为得毒饲养。把无毒的3—4龄若虫用吸水管或毛笔移到拟测定的病株上，一次约30虫，待它们饲养24小时后，将它们分别移至育成的幼苗上，每苗3—4头（单子叶植物在2—3叶期，双子叶植物在第一真叶展开期）。在此幼苗上饲养（接毒）48小时后即将它们移到下一龄期（晚播48小时）的幼苗上，再经48小时又移至更下一龄期的幼苗上，依此类推，一直到虫衰老死亡为止。如果一次得毒饲养30头虫，则第一次接种每苗3头，就可以有十个重复。以后每株上的3头带毒虫向下转移，就有十个系列，如下图：

接种重复

转移系列

I	1 2 3 4 5	→ X	第一系列
II	1 2 3 4 5	→ X	第二系列
III	1 2 3 4 5	→ X	第三系列

⋮

X 1 2 3 4 5 → X 第十系列

经过这样的接种传染试验，可以记录下列诸项，（1）在接种后若干时间开始出现症状？（2）在转移系列中第几次转移才开始发病？（3）在每一系列中，到第几次转移后就不再发病？（4）比较早期症状和后期症状。

通过这样的记录可以得出下述诊断资料：（1）如果每个系列只有第一或第一、二两次转移发病，那么这种病毒是非持久性的。（2）如果在各个系列中第一次发病的植株在若干次转移以后，那么这种病毒的潜育期或循环期为若干天。（3）如果在转移的系列中只有在中间的若干次转移发病，而以后一直到虫死，不再有发病，那就说明这种病毒是半持久性的。（4）如果每个系列从开始发病起，以后每个转移都发病，那就说明这种病毒是持久性的。（5）由于发病有早晚，在整个系列中各种植株龄期的症状可以同时记录和比较（6）有一种情况，在开始发病后一直到终结的过程之中，不是所有的接种苗都发病，而是头几次发病后，隔一两次不发病，以后又发病，如此反复。这是断续传染现象，仍旧属于持久性传毒型。

在作虫传测定时，还有两个数据也应该获得。一个是得毒饲养的最少及最适时间，另一个是接毒饲养的最少及最适时间。作这些测定时，将无毒虫300—500头同时放饲在病株上，经1小时后分批（第1至5批每批相隔2小时，第6—10批每批相隔4小时）将放饲过的虫转移到无病同龄幼苗上，每批20头至30头，每苗接2—3虫，经72小时后用药剂灭虫，记录发病率，其发病率开始出现高峰的一批的时间为得毒饲养最适时间，其最早出现发病的一批的时间为得毒饲养最少时间。

测定接毒最少及最适时间时，可以把已经得毒的虫同时放饲在同龄幼苗上，每苗2—3虫，每经一定时间后，用药剂消灭一批接毒虫（每批约10苗），其间隔时间可以定为0.5, 1, 1.5, 3, 6, 9, 15, 24, 39, 63小时，即第一批为经半小时后，第二批经一小时后，第三批经一小时半后，按上述类推，全程为63小时共十批。结果以最早发病的一批所经时间为接毒饲养最少的时间，以发病开始达到高峰的一批所需的时间为接毒饲养所需最适的时间。

有时为了测定一个病株上什么部位的病毒最浓，最易得毒。这种测定可以把虫封在微型定点饲养笼（见图38）内，定点夹在病株不同部位的叶片上，经最适饲养时间后，按各点分别接种同龄幼苗，计算其发病率，以发病率最高的点为病毒浓度最高的部位。

2. 关于线虫、真菌孢子及土壤传染的测定：

线虫接种：有许多过去被认为是土传病毒的，现在已经证明可以由多种植物根部外寄生线虫所传染。要确定一种病毒是否可以由线虫所传染，首先要在自然发病地观察发病植物的情况，凡可能由线虫传染的病株在田间往往形成一小片一小片的。把这种病株连根部周围的土一起取出，并把根部所带的土用清水洗下，然后把土中的线虫用任何一种过筛沉淀法分离出来。把这些线虫倾注在钵内灭菌土的一个小穴中，立刻把拟接种的植物幼苗移入这个小穴，并且用灭菌土压实，以后观察被接种的植物是否发病，其症状如何？对照区用同样线虫的滤液，或用人工在健植物根部繁殖的线虫作接种物。

所有可以用线虫接种的病毒一般可以用汁液摩擦接种来传染，少数木本植物可以用芽接或嫁接来传染。因此有可能用人工摩擦接种的病株或嫁接接种的病株，在它们的根部加入已

知种类的线虫（土壤是灭菌的），使其在根围繁殖，然后用这种带毒的线虫去接种无病的植株，如上法。这样可以比较各种线虫在土壤中传染病毒的效率。

真菌孢子接种：现在也有许多过去认为是土壤传染的病毒已经证明是可以通过土壤中的一些真菌的游动孢子或休眠孢子来传染。这些真菌都是属于藻状菌的壶菌目及根肿菌目的一些属，个别是属于腐霉科的一些种。除腐霉科外，其它藻状菌都难于在培养基上用人工培养，而只能在活植物的根上培养繁殖。当然也有一些可以在 Knop 氏培养液中培育的植物根上繁殖。利用这类真菌接种时，可以把在无病株上培养好了的游动孢子或休眠孢子转移到有病植株的根上去，经 2—3 周后，再把病株上繁殖了的孢子转移到无病株的根上去，以后观察无病株是否发病。转移的方法有两种：一种是把被接种的植株的根系浸在带毒孢子的水中过夜，然后移栽。另一种是当被接植株移栽到灭菌土中时，把带毒孢子液浇在根部的周围。方法基本上和线虫接种大同小异。

所谓“土壤传染”实际上都是由土壤中某些生物作为介体的。除了上述已知的因素外，尚有一些未知的因素。对这类未知的因素在土壤中的传染只能仍称之为“土壤传染”。关于这一类病毒的接种，只能取磨碎的病根及其周围的土壤作为接种材料，一旦接种成功后，再进一步探测其存在于土壤中的传毒介体。接种方法一般是把健苗移栽于病根及病土混合体中，或直接把种子播于病根及病土混合体中。

3. 关于花药传染及种子传染的测定：

有少数病毒可以通过花药将病毒传染给它授粉的种子，从而使这一种子带有病毒而在发芽后出现症状。另外有一部份病毒能从病株直接地把病毒送入种胚，从而使种子带有病毒。要测定花药是否传毒，可以完全仿照人工杂交的方法，即将无病母株去雄，然后将病株的花药来授粉。把这种授粉的种子播种发芽生长，在其生长过程中观察是否传染了病毒。在生长发育过程中第一要采用灭菌灭虫的土壤，第二要在防虫的条件下进行。至于测定母株中的病毒是否能进入种子并引起病害，可以在病母株上去雄，用健株的花药来授粉，以后观察种子发芽后的表现，条件同前。

4. 病株汁液摩擦传染的测定：

这是最普通的一种接种方法，有一些病毒的侵染力极大，采取少许病组织用研钵研碎，加入 5 倍至 10 倍的水，用纱布拧出汁液，其中加入少许金钢砂（磨料 400 目至 500 目即可），搅匀，然后用剪去头的羊毛笔，沾汁液轻轻在接种的叶面来回拂划即可。接种完后，用清水轻轻洗去叶面多余的汁液和磨料，没有毛笔用洗净的手指头沾汁液后摩擦亦可，不能太重，方法很多，这是最普通的。

有些病毒极不稳定，在活体外（即在压出液中容易受核酸酶及酚酶等的破坏，从而失去其侵染能力。对这一类病毒的摩擦接种就要求在压出汁液中加一些缓冲剂。这类缓冲剂的 pH 值要偏高些，因为在 pH 值稍高于 pH 5—6 时核酸酶的活动就降到最低点。如果 pH 值达到 8—9 时酚酶的活动就大大降低。为此在压出汁液中常加入磷酸缓冲剂及 Tris 缓冲剂。这两种缓冲剂的配制如下：

1/15M 磷酸缓冲剂 (pH 8.98) M/15 KH_2PO_4 4 毫升 + M/15 Na_2HPO_4 6 毫升

0.05M Tris 缓冲剂 (pH 8.23)

1/20M 三羟甲基氨基甲烷 (Tris hydroxymethylaminomethane $\text{C}_2\text{H}_7\text{NO}_3$ 分子量 121.14)