

全国高等农业院校师资培训班

植物病毒学讲义

北京农业大学植物病毒教研组主办

中国植物病理学会编辑

一九八三年

前 言

自从一九六二年我国在北京农业大学首次为植病专业高年级的学生及研究生开出了植物病毒学以来，已经经历了二十年，在此期间，虽然受十年动乱而使这一门课程未能继续进行，但是这方面的科研工作在全国范围内还是或多或少进行的。此外有些学校及科研单位也常组织一些讲习班或专题报告，从而使这一门学科的进程没有中断，而近年来，受到生产要求的压力，而日益受到重视。

过去二十年中，国际上在病毒学领域中的进展，极为迅猛，不仅有新资料的积累，而且也有对旧时某些病毒基本概念的修正。近年来，我国在拨乱反正的大好形势下，各高等农业院校急需为讲授植物病毒学的教师充实新概念及新技术。为此中央农牧渔业部委托北京农业大学植保系植物病毒教研组筹组一次植物病毒学师资培训班。此班已在1982年4月16日至5月9日完成。这次培训班采取专题讲授及重要技术实验相结合的措施，使学员们不仅从理论上获得一些新概念，同时在技术操作上亦能得到一定的感性认识。

培训班的讲授者是根据其教学及科研的专长而特邀的。因为考虑到现代植物病毒学的方面很广而且深度亦大，很难由一个教师全面讲授，为此采取“集腋成裘”的办法。每个专题都由专人报告，而实验方面则除一个基本指导班子外，也另外聘请一些专家辅导。这种培训方式为国际上目前采用的比较有效的方法之一。

讲授者的报告均由专人记录，同时也录音，事后整理成书面文字，并请讲授者亲自过目润饰后，集中起来，编印成册，以便需要者参考。但病毒学的进展甚速，新事物不断出现，几年之后，其中内容又将增删，敬希读者注意。

裘 维 蕃
北京农业大学植物病毒室
一九八二年

目 录

第一部份：专题报告

1. 植物病毒症状学.....裘维蕃 (1)
2. 植物病毒生态学.....裘维蕃 (9)
3. 病毒的形态, 组分和结构.....莽克强 (18)
4. 蚜虫介体与植物病毒病害.....管致和 (35)
5. 植物病毒血清学方法.....裴美云 (42)
6. 植物病毒的抗性及其人工免疫的可能.....莽克强 (49)
7. 植物病毒变异及遗传.....裘维蕃 (64)
8. 类病毒的研究和进展.....田 波 (72)
9. 类菌原体及螺原体简介.....王祈楷 (90)
10. 植物病毒的分类与命名.....梁训生 (98)
11. 电子显微镜简明原理及结构.....林庆文 (112)
12. 电镜技术在植物病毒学上的应用.....刘 仪 (119)
13. 超薄切片技术.....徐绍华 (121)
14. 目前植物病毒研究的一些情况.....李德葆 (130)

第二部分：实验指导书

1. 植物病毒浓度的定量生物测定.....蔡祝南 (137)
2. 植物病毒内含体的观察.....雷新云 (139)
3. 无毒蚜虫或飞虱的传毒技术.....雷新云 (142)
4. 传毒线虫的分离 (即植物线虫的分离).....隋延文 (146)
5. 植物病毒的提纯.....梁训生 (152)
6. 植物病毒抗血清的制备.....梁训生 (158)
7. 植物病毒抗血清反应的测定.....梁训生 (160)
8. 电子显微镜技术.....王丽英 (173)

第三部分：参考资料

1. 酶联免疫吸附技术.....张成良、张作芳 (178)
2. 植物病毒分类与命名.....Matthews 著、梁训生译 (226)

第一部分 专题报告

植物病毒症状学

裘 维 蕃

一、前 言

症状在植物病毒工作中占有非常重要的位置，不了解症状，就无法搞好工作。

症状是生病的外表，它和植物生理的关系非常密切。生理受到干扰，外表就不正常。但干扰生理的原因，还有营养状态；环境条件等，它们导致的生理病害，在症状上类似病毒病害。这种症状上的类似使得我国在某些病害的研究上一直存在争论。如自我国50年代起生理学派就认为马铃薯退化是环境条件不适宜引起的生理病害，根本不存在病毒。实际上，在国外于20年代就已确认马铃薯退化是病毒病害，早就不再争论了。类似此例，在小麦、大麦黄矮病、白菜孤丁病的研究上也出现过争论，这些都说明症状对辨别病毒病害的作用是很大的，也说明在我国对病毒的认识还很不平衡，还须作很多工作。

症状同遗传也是有关系的，譬如遗传基因的变化可导致白化症。

症状的诊断价值：症状是认识病毒病的第一个步骤，具有诊断价值。在诊断工作中，首先要能区别生理病害，遗传病害，与病毒病害。在田间观察时，病毒病一般是分散的，少数土壤传播的可以小片发生，但极少普遍发生。病毒病的这种田间分布和昆虫传播、接触传播的方式是相关连的，昆虫的发生也常是小点片，靠近地边多。其次病毒病的最大特点，是有传染性，可借传染介体或其他传染方式传染。

在科学研究工作中如不进行生物测定及传染试验，一开始就搞电镜观察，这样搞是本末倒置的，耗资又较大。我们必须懂得症状的诊断价值，首先要用症状进行诊断。

α. 症状的参考价值：

不同病毒在同一作物上可发生不同的症状如TMV和CMV是两个不同的病毒，TMV是杆状，蚜虫不传；CMV是球状，蚜虫传播。把它们分别接在心叶烟上 (*Nicotiana glutinosa*)，TMV产生枯斑，CMV产生花叶。

由于上述症状的差别，使得鉴别寄主的工作有了基础。作病毒的诊断工作，尤其对一个新的病毒，一定要找出反应强烈的鉴别寄主。心叶烟可作鉴别寄主，也还有其他的鉴别寄主，如三生烟的一个品种NN，接种TMV后，也出现坏死斑。我们要注意寻找最方便，最有效的鉴别寄主。

b. 症状的不稳定性: 不同的病毒在同一作物上, 也可发生相同的症状, 如很多病毒都可使普通烟草产生花叶, TMV及CMV在普通烟上都出现花叶。一般CMV症状表现重一些, 但TMV的有些株系其症状比CMV还严重。因此单靠一种鉴别寄主就不能说明问题, 症状也就失去参考价值。

还有一种情况, 自然界中存在复合症状。PVX在马铃薯上产生轻花叶, PVY产生花叶、坏死斑、脉坏死, 一般田间不严重。但复合症就表现重绉缩、矮化、坏死, (老乡叫狮子头)。出现了复合症, 就无法用症状来鉴别。

再举一个蕃茄上的例子: 从蕃茄上经常可分离出两种病毒, TMV及PVX, TMV在蕃茄上, 一般是花叶, 但有轻重之分。PVX在蕃茄上表现为非常轻微的花叶。如果两个病毒混合侵染, 就出现坏死条斑及花叶。在马铃薯茎上也表现坏死。因此症状上的坏死条斑可能是两种原因造成的, 一种是最普遍的, TMV和PVX的混合侵染; 一种是自然界中TMV本身的坏死株系使蕃茄产生条斑。但TMV坏死株系比混合侵染产生的条斑要轻的多。

由于如此, 症状有可参考的一面, 也有不能参考的一面。如何使症状具有参考价值, 则单用一种鉴别寄主是不行了。只能参考, 不能下结论。最好选用2个到3个以上的鉴别寄主, 有特殊症状表现的2个—3个以上的鉴别寄主, 我们叫鉴别寄主谱。

c. 寄主谱的利用: 利用二个以上的鉴别寄主来诊断一种病毒。例如, 在北京大白菜上可分离出四种病毒, 要区别它们必须利用鉴别寄主谱, 过去常用两种寄主: 一种三生烟; 一种心叶烟。

	鉴 别 寄 主	普 通 烟 草 (三生烟)	心 叶 烟
病	芜菁花叶病毒	黑色枯斑	系统花叶
毒	花椰菜花叶病毒	不 侵 染	不 侵 染
种	烟花叶病毒	系统花叶	局部枯斑 (带褐色圈)
类	黄瓜花叶病毒	系统花叶	系统花叶

这样用2个鉴别寄主作谱, 就可区分四种病毒, 当然进一步鉴定, 应该加用其他寄主及其他生物物理特性, 作较全面的诊断。

在鉴定病毒时, 生物测定是最重要的。我国现有很多地方没有电子显微镜, 我们就要掌握症状上最正确的诊断, 特别用寄主谱鉴定诊断。还须进一步了解传染方式, 除汁液传播外还有没有昆虫介体传播; 另外要了解病毒的主要特性, 如钝化温度TIP (在什么温度下处理十分钟, 病毒就不活了) 等, 这样作下来, 就可基本上初步确定是何种病毒, 当然在有电子显微镜的地方, 可用电镜了解病毒粒体的形态, 尤其在鉴定一种新的病毒时更有必要。50年代以前, 几百种病毒的鉴别, 大多是生物鉴定的结果, 所以说没有电子显微镜仍然可以开展工作。

二、症状的发展过程

1. 隐潜期 latent period

病毒侵入后，无外在症状的时候叫隐潜期。也就是病毒侵入到始发症（第一潜育期 first incubation period），用现在的分离方法，是分离不到病毒的。这个时期病毒沾着在感受点上，脱去衣壳，其核酸进入细胞、微器官、核糖体等保护区，也即增殖区。一方面病毒增殖，复制很多核酸及合成与核酸相应的衣壳蛋白，然后装配，在这个过程期间，植物不表现症状，待核酸装配到具有一定数量的病毒粒体时即表现出始发症。

2. 始发症的出现：

始发症有几种：明脉，褪绿斑、水渍斑。

始发症是临时性的症状，继之而起的为后发症，永久性症状。自始发症开始到后发症的出现叫第二潜育期，这是症状上应该注意的。有些病害第一潜育期时间长，第二潜育期时间短；有些则相反。有的始发症看不清楚，如普通烟草上的TMV看不出什么始发症，仅在有的品种上出现白色小点。怎样检查有没有始发症呢？可采用碘液染色观察法：

- a. 接种植株放在黑暗中（10℃）12—16小时
- b. 摘取叶片，置于95%乙醇中
- c. 加温至40℃，经1—2小时，脱去叶绿素
- d. 以蒗格氏碘液（KI 2克 + I 1克 + 水300毫升）染色，观察组织反应变化。

观察法的主要理论是首先确定病毒侵入，始发症出现，但症状细微，肉眼很难见到，因被叶绿素挡住看不清。当用95%乙醇去掉叶绿素时，被病毒侵染的细胞即有始发症的地方，因为积累了淀粉，被稀碘液染成兰色，没有被侵染而无始发症的地方，就没有兰色反应。

3. 后发症的出现：系统性褪绿，斑驳花叶等。

a. 急性症：凡发急性症的，都具有过敏性反应，譬如TMV在心叶烟上出现枯斑，病毒侵入烟草的后发症就是枯斑，把病毒限制在枯斑内。

顶枯、茎死等又叫休克，最严重的休克，可使小苗枯死。

一般急性症（不管枯斑或顶枯）在急性症发作后，都可恢复，老叶死掉，新长出的叶片则较抗病。

b. 慢性症：表现花叶、绉叶，叶变色，矮化等各种变色，变形及生长抑制。

我们在实际工作中很少去注意始发症。文献中记载的，也常是后发症。但是现代诊断，不仅要知道后发症，同时也要了解始发症。

三、症状的类型

1. 名称、名词的含义：近年来有的名词含义和60年代看法不同。

a. 症状：(Symptom) 单一症状的表现，如花叶是一个症状，褪绿是一个症状。

b. 病象：(Syndrome) 一株植物各种症状的综合，如小麦丛矮病，有三种症状，花叶症状、矮化症状、丛生症状，是三个Symptoms合起来的综合症，现在叫病象。有的病

毒病害症状和病象相等。有很多病毒病症状和病象不一样，症状有几种，病象只一种。打个比喻，感冒是Syndrome，它包括很多Symptoms如咳嗽，发烧，头痛等等。

c. 宏观症状 (macroscopic symptom) 指肉眼可觉察出来的症状。

d. 微观症状 (microscopic symptom) 指细胞及组织的病变，必须借助显微镜观察。

e. 外症 (External symptom) 不需要解剖就可以看出来的，肉眼可见，扩大镜更清楚。

f. 内症 (Internal symptom) 必须解剖或切开才能看到的。

2. 宏观症状:

a. 生长减缩 (Reduction of growth)

矮缩 (dwarfing)，矮化 (Stunting) 实际上这两种名称在早期是随便使用的，但近年有了区别，矮缩是一部分节间缩短，如玉米矮花叶病。矮化是全面的变矮，全株按比例的都缩小，在选择症状名称的时候要注意国际上的用法，否则会造成混乱，例如我国的水稻黄矮病，实际上就是国际上的水稻黄叶病或台湾发表的暂黄病 Rice transitory yellow。都是一种病毒病。在国际上同名的水稻黄矮病是类菌原体病害 (Rice yellow dwarf) 这样就出现了混乱，在小麦上，国际通用叫做小麦黄矮病的一种病毒病害，我国西北却叫小麦黄叶病，但小麦黄叶病是另一种完全不同的病毒病，我国确实也存在。

小实: (Small fruit) 整株果实都变小，每年愈来愈小，不是施肥问题。如樱桃小实病。

小叶: (little leaf) 如苹果小叶病，桃小叶病。还有一类缺 Zn 造成的小叶。这两类是可以区别的，如将缺 Zn 小叶上的芽嫁接到健株上，新生长出的枝条是正常的。如将病毒病的小叶上的芽嫁接到健株上，长出的仍是小叶。

缩根 (Root reduction) 根系短小，须根少。

生长减缩的原因是因为植物生长依靠生长素。正常状态是由一系列生长素来控制的，如果生长素平衡遭到破坏，就会反映出细胞不膨大，节间缩短等症状。

b. 变色: Discoloration

i. 叶变色，花样很多如褪绿 (chlorosis) 白化 (Blanching albinism)、紫或红化 (purpling 或 Reddening)、黄化 (yellows, yellowing)、褐化或变古铜色 (Browning 或 Bronzing)、变黑 (Blackening)

花叶: (mosaic) 早期是指叶色的一切变化的总称，过去也曾使用嵌纹病的名称。近二十年取消了这个古老的概念。把嵌纹限制在表现为变色区与不变色区界限分明的花叶症。

斑驳: (mottling) 斑近圆形，界限不很分明。

斑点: 点的全部都变色 spotting

线纹: 变色部分成线条状 line pattern

条纹: 宽而长 stripe

线条: 长而细 streak

环纹: 形成环状

条点: 细条及细点相间

ii. 茎变色：基本上与叶变色相同

iii. 花变色：

碎色 (Colorbreaking)

绿花 (Virescence)

iv. 果实及种子变色：基本与叶变色相同，大豆花叶病毒使得豆粒上有褐斑。

变色的原因：植物生活中有三大色素，叶绿素；（绿色）。胡萝卜素（黄色）；花青素（红色到紫色）。正常的叶片中的叶绿粒不断合成叶绿素，当受到干扰后，叶绿素不能合成，黄色即占上风表现黄叶。花青素占上风时即表现红叶。例如TMV侵入烟草白蒲系以后，三大色素平衡受到破坏，表现为：

叶绿素原占 46.5% 接种TMV 后占17.1%

胡萝卜素原占35.6% 接种TMV 后占45%

花青素原占 17.8% 接种TMV 后占37.9%

病毒侵入后，抑制了叶绿素的合成，叶绿素即下降，而病毒促进了胡萝卜素及花青素的合成，使它们大量增加。植物中花青素的合成与碳水化合物的代谢是相连系的，任何使碳水化合物合成被扰乱的因素，都导致花青素产量的增加，结果其症状的表现是变黄或变红。但生理上的缺素症如缺Fe，缺Mg也可产生与病毒相同的褪绿。小米的叶片变红。可以由缺P造成；也可能是线虫侵染；或者是病毒病的症状，因此需要认真，仔细地判断。

病毒侵入后，如何造成褪绿斑？

每个病毒有一个侵入点，以后等径向四面八方扩展，在病毒前进过程中，植物不断抵抗，到一定部位，病毒即不能前进。病毒达到的地方，组织变色成为斑点 (Spot)，小的叫点 (flecks)。在不断发展的过程中就是第一潜育期中没有症状；出现褪绿点已经是后发症了。如果不再前进，就成为环斑。有的还继续发展，突破第一环后，又产生第二环，还可以发展为第三环，这种环就叫同心环。

病毒向单方面发展，就成为线纹，如果进行第二次扩展就成为双线纹。同样的道理出现橡皮叶症。

变色症中，还有的表现为银灰色，如水仙黄色条纹花叶，叶子上有银灰色条纹，这是由于外面角质层没有被破坏而表皮细胞很快死亡，使细胞干缩，但不变色，外表看上去就成了银灰色。

明脉由两种原因造成；一种是因细胞挤在一起，无细胞间隙，叶脉呈半透明状态，这种症状是暂时的，是始发症。另外一种为细胞小，细胞间隙过分增大，叶脉呈灰色，这就是永久性的后发症。

脉花叶：有些叶脉褪绿特别浅白。

黄网症：叶脉黄色，成为网状，这是由于病毒通过维管束系统进入叶脉，叶脉本身及附近组织变色的缘故。

沿脉变色：Vein banding 叶脉附近组织变色。病毒在叶脉里，因此叶脉附近首先受影响从而表现为沿叶脉变黄变红，如果是生理病害，则由于距叶脉近的组织比距叶脉远的组织缺素较轻，所以叶脉附近的组织反而绿，而距叶脉远则变色。

c. 坏死；necrosis

变色进一步发展，如条点、条纹、环纹中褪绿的部分，以后要坏死。凡坏死（组织或器官）就说明植物有抗病性即过敏性坏死反应。有些病毒在组织坏死后，还要继续发展，仍能表现系统花叶。就是枯斑寄主，在一定的条件下，也可转为系统花叶，如TMV在心叶烟上，一般温度下表现为局部枯斑，放在35℃条件下，就不出现枯斑，而呈系统花叶。

坏死可以分为外症及内症两方面，有下列几种：

枯斑 necrotic spot

线条坏死 Streak necrosis 即条斑坏死一类

顶枯或死顶 Top necrosis

蚀纹 Etch

拟网状坏死 Pseudonet necrosis

块茎锈色斑 Tuber rusty spot

同心坏死环 Concentric necrotic rings

坏死环 necrotic rings

b. 畸形生长：malformation 两种类型

i. 始发畸形：Primary malformation 病毒侵染后，局部受激素作用的细胞，改变了生长方向，发生畸形，但仅在侵入的地方发生畸形。

串生 proliferation 生长点的连续起作用，一个器官形成后又生出同样的器官来，组织性畸形 Histoid malformation 局部组织发生的畸形。

耳突：Enation 叶脉上长出的耳状结构，是在病毒侵入地方，局部产生的组织性病变。

溃疡性肿瘤 Cankorous tumour 病毒侵入地方形成肿瘤。

肿枝 Shoot swelling

茎陷斑 Stem pitting

茎沟症 Stem grooving

扁枝症 Branch flattening

ii. 二发畸形 Secondary malformation 一般系统侵染后，某些器官，全部都受影响而畸形。

蕨叶症 Fern leaf 番茄受 TMV、CMV 混合侵染，即出现蕨叶。

线叶症 leaf narrowing 莴苣花叶病的病叶即变窄。粗缩 Rugosity：叶脉组织生长受到抑制。绉缩叶 Crinkling 叶肉某些地方的生长受抑制而其他地方还继续生长如瘤斑。

曲叶 Leaf Curl 叶片的叶脉，叶肉都受到抑制，叶片像木耳边，不能和卷叶混淆。

卷叶 Leaf rolling：全叶性的，全部叶片都卷，一张叶片上面生长快于下面即向下卷，或反之。也可以是横向的。

花束症 Boquet (德文，一束花的意思) 如番茄马铃薯被黑环斑病毒侵染，叶子僵，直向上成束。

束顶 Bunchy top 树木上叶片成束状叶偏上 Epinasty 即枝及叶片的直立性。丛枝 witche's broom 一个芽子产生很多不定芽，分枝上叶子很小，大部分是MLOs造成。

丛簇：一般在根上，产生过多的分蘖。

双节: Double nodes 节间缩短, 两节靠在一起。

拐节: Zigzag growth 自节间处, 茎拐成曲曲弯弯。

花变叶 Phyllody

缩节 Apostasis

不孕性 Sterility 开花但不结实。

产生畸形的原因: 植物细胞有两种分裂, 一种是量的改变; 一种是质的改变(长短变化; 大小变化; 方向性的改变)。这些变化都与激素有关。在病毒研究工作中已介绍了有多种激素: GA赤霉素; 激动素(Kinetin); 吲哚乙酸; 胞激素(Cytokinetin) 这些激素在植物体内保持一定比例, 维持着平衡, 病毒侵染后扰乱了这一平衡, 就出现了畸形。依此原理, 我们可以人为地制造病毒畸形症, 如棉花上, 葡萄上打2—4 D后, 叶片即可畸形及花叶。近几年国外有人认为, 能否在病毒侵染后, 加进一些生长素, 恢复生长素的平衡, 如给患玉米矮花叶的玉米打些G.A.结果可减轻矮化, 但因为并没有解决病毒的侵染, 因矮化而造成的产量损失, 并没有减少。美国也曾给感染病毒的生菜, 喷生长素, 结果生菜不显症状, 大大提高了病株的经济价值。

现在研究症状, 已与病理生理学连系起来, 主要是研究生理的变化情况。

e. 失水:

i. 过量蒸腾(Overtranspiration)

ii. 胶质及侵填体形成(Gum and tylose formation)

国外短粗的黄瓜不抗CMV, 感染了CMV后可发生可逆性萎蔫, 因为植物病毒在导管中, 导致组织坏死, 输导系统不通畅, 水分即不能运输上去, 结果发生萎蔫。如果黄瓜生长快, 这种萎蔫还可恢复, 反之, 病毒发展快, 萎蔫也就不可逆, 不能恢复。

还有不可逆的萎蔫, 是因为病毒在植物导管中产生很多侵填体, 侵填体自导管旁小孔进入发展成很大的胶状物, 胶质及侵填体堵塞导管, 一旦萎蔫, 无法去掉侵填体, 无法恢复。

在植物病毒的侵染初期, 水分蒸腾量高于健株两倍, 这样要求供水快, 但根部供水能力很差, 水分供应失调。但是这种早期萎蔫还可慢慢恢复, 也是可逆的。

3. 微观症状: 可帮助诊断病毒。病毒侵染细胞后, 细胞要发生病变, 会出现很多内含体, 这些用病理解剖的方法可看见。有几种方法: 一种用光学显微镜, 一般要染色, 可观察细胞及组织变化。一种用自动放射图像法, 将同位素I.C.P等示踪元素组合到病毒分子中(病毒含有的核酸即有P可以组合), 用这种病毒接种, 待病毒发展, 细胞发生病变后, 再用示踪器探测, 找出病变发生的部位或是发生在核的部位, 或是核糖体的部位; 或是线粒体的部位, 从而可找出病毒的部位。还有免疫荧光显微的方法, 这种方法是把病毒作成抗血清, 再用荧光染料染色, 将感染植物的病毒部位与荧光染料染色的抗血清作用, 病毒是抗原, 抗原和抗体会结合, 抗原、抗体结合的地方洗不掉, 而且能放出荧光, 这样就可以用荧光镜确定病毒所在的位置。此处还有电镜的方法。

a. 组织的病变:

胼胝质的形成(Callose formation): 病毒侵染后, 产生胼胝质, 可以检查, 如马铃薯卷叶病病叶切片用间苯二酚兰染色, 细胞中有胼胝质的地方, 可染成兰色。

木质形成的抑制(Inhibition of lignin formation) 木质是正常植物所具有的。

没有木质，细胞就柔软。有些病毒侵染后，植物只能合成纤维素，不能合成木质素，如苹果胶木病，枝条即柔软，挂不住果实。也有一些受侵的细胞内产生横隔，如葡萄扇叶病。木质素可用间苯三酚染成兰色。无木质素，间苯三酚就染不上。

侵填体 (Tylose) ;

流胶: (gummosis) 流胶不是病毒病造成的。葡萄上的流胶是立克次氏体造成的细菌病害叫葡萄皮而斯病。

组织增生 (Hyperplasia)

组织增大 (Hypertrophy)

细胞增生与细胞坏死的关系: 细胞增生即细胞分裂很多，一方面分裂，一方面坏死。坏死细胞放出一种激素，使细胞增生加剧，增生了又促使坏死更厉害，这样反复，坏死→增生→又坏死，所以我们常常可以在增生细胞的瘤子中，见到一团团坏死的细胞。

b) 内含体: 可作诊断病毒的参考，任何病毒侵染了细胞，在表皮细胞或其他细胞内产生原来没有的小结构，叫做内含体。

俄国的伊凡诺夫斯基早在1903年就开始了内含体的研究工作，他发现烟草花叶病株表皮细胞内有两种内含体，一种是结晶的晶状内含体；一种是不结晶的x小体。在电镜还没有问世的年代，大部分是用光学显微镜加染色的方法研究的，也有用生化测定的方法，研究内含体的成分，有没有核酸及蛋白质。这些都是较老的方法，染色的方法也有很多种。

如果不染色，可将撕下的表皮，用相差显微镜观察，相差镜是两个光波波长差一个波段，两个光波通过不染色物体时因两个波段的干扰，反差就加强，就可以将透明物体看的很清楚。

有了电子显微镜后，就可以用电镜进行研究，电镜的放大倍数高，电镜下的形态与光学显微镜下观察的形态是不相同的，总结成下述几种:

角层集结体 Angled-layer aggregates: 是片状病毒排列成的，可一层层纵横叠集。光学镜下见到的是一块块片状的；方形的；或长方形的结构，但不是晶体。

复合内含体 Complex inclusion: 包括很多种；泡囊状的，是在一团物质内，有很多泡囊，大部分不是病毒，而是蛋白。

x 体: 由病毒；蛋白；线粒体，核糖体等微管组成很周密。

柱状内含体 Cylindrical inclusion

风轮体 Pinwheel, 电镜下风轮状，光学镜下只是一些粒子小块。

卷筒 Scroll

柱状内含体，风轮体，卷筒是一样东西的三个名称，风轮体是马铃薯Y病毒组的内含体形态。光学显微镜下是一小块，一小块，实际上电镜下可以见到是一片卷起来的。竖着看即卷筒；横切可见风轮状。

晶状内含体 Crystalloid inclusion. 这种晶状的内含体比较多，有五边形的纵的长条形晶体。六角形的。

六角状晶体 Hexagonal Crystals

层片集结体 Laminated aggregates, 光学显微镜下一小条，一小条，电镜下观察是很多层叠集起来的。

假晶体 Paracrystal 针状的两头尖。假晶体是指晶体两个相对称，第三个相不对称。

圆板：Rounded plates 光学显微镜下是小圆点。电镜下可见圆板是由很多片叠起来的。

在我国内含体的工作研究的很少，应该更多地开展细胞内病变的研究。

四、外表症状的隐潜 (Masking of symptoms)

1. 无症状感染 Symptomless infection

感染后不表现症状如马铃薯感染S病毒以后，没有症状，但病毒和寄主之间绝不是共生，互不侵犯，实际可使产量损失20%。因此不表现症状，并不是没有病。表现症状是因为病毒基因通过了细胞的基因组而发挥作用。如果病毒不去影响寄主表现症状的基因就不会表现症状，可是它仍能影响寄主细胞中控制产量的基因，所以无症状却减产。

2. 高温隐潜 High temperature masking

有些病毒原是表现症状的，但在一定条件下即无症状了。如TMV有一个株系，接在普通烟上，在一般温度下有症状。放在35—40℃下，长出的叶子无症状，可植株体内有病毒，这些病毒不是整个的粒体，只有核酸而无蛋白衣壳，因为在高温下只能复制核酸，不能合成蛋白衣壳，也就无法装配成整个粒体。

3. 获得免疫 Acquired immunity

有些植物有过敏性反应，能产生枯斑和休克症，植株下面的叶子产生枯斑后，上面叶子即获得免疫性，如果拿同一病毒接种这些叶片，可以不表现症状。

4. 砧木的作用 Stock effect

如果用酸橙作砧木，上面接上带有速衰病的甜橙，（类似黄龙病的症状，叶片黄化），砧木可使甜橙隐症，不表现症状。还有将感染桃西方病毒的病接穗接到櫻桃的 Maheleb 品种上去时，砧木可使接穗隐症，不表现西方病毒病的症状。

植物病毒生态学

裘维蕃

一、前言

1. 生态体系研究的意义 植物病毒生态学的研究工作对我们并不生疏，过去我们的很多工作都是属于生态学方面，但习惯上称为病毒病害的发生发展规律，其实它就是生态学的重要组成部分。对于植物病理病毒学工作者来讲，最终总要研究生态学的，因为它能帮助我们解决农业生产上的问题。实验和理论方面的很多工作，只是帮助我们鉴别病毒或诊断病毒病害，这些都属于认识的范围；而生态学部分则是如何利用，发挥病毒的有关知识，把这些知

识综合归纳起来同生产结合起来就属于实践的范围。认识方面更深入的研究将属于分子病毒学的内容，不是我们农业科学研究的目標；但是我們也不能不了解一些，要把它作为认识病毒和解决病毒病害的一个手段。

生态学的概念 研究生态学是具体的，不是讲空论。人和其他一切生物都生长、生活在一个共同的生态体系里面，即共同生活在一个自然环境条件之内。这个环境条件包括地球上供给我们的热、光、空气以及很多与我們有关的生物、微生物。整个地球上许许多多的生物的、物理的、化学的环境相互之间的关系形成的这个体系叫生态体系 (Ecosystem)；研究这个生态体系中各种环境因素相互之间关系的科学叫生态学 (Ecology)。整个生态体系中与病毒有关的部分，即病毒在生态体系中与生物 (动物、植物、微生物)、物理、化学、地理的环境的关系形成一个独立的体系，叫病毒生态体系 (Virus pathoecosystem)。

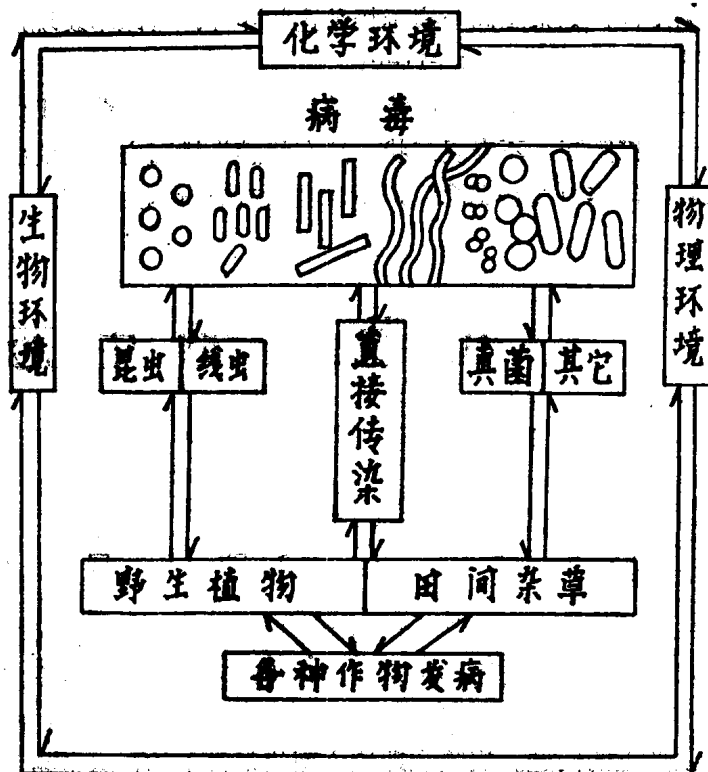
2. 研究生态的目的 我们要研究在这个生态体系中病毒怎样生活？怎样大量繁殖？怎样扩展？以及外界环境条件怎样影响它的发展与消亡？对每一个环节加以分析，以便用于控制病毒病害，这就是我们的目的。因此说，生态学研究是十分重要的，尤其对于我们在座的同志来讲。

二、植物病毒生态体系的模式

任何生态体系，不管是大的自然生态体系还是小的病毒生态体系，都会达到一个平衡状态的。任何一个对平衡状态的扰乱（如病毒生态体系中的传毒介体的增减、农作物的不同生长发育阶段或气候条件的变化等），都会破坏这种平衡。平衡的破坏会导致病毒病害的大发生或者消滅，但是我们要破坏这一平衡使它向着病毒消亡的方向变化，为要达到这个目的，首先要了解整个平衡中各个因素的相互关系。

上图表示了病毒生态体系中主要环境因素，下面分几方面予以说明：

1. 病毒来源 在陆地上草本植物、木本植物和蕨类植物都是病毒的来源。其中草本植物包括多年生、一年生草本植物；木本植物包括阔叶植物和针叶植物，从更迭寄主（指病毒能够交替、



病毒生态体系示意图

更换寄生的寄主)和其他方面看,植物来源有:①同种作物;②异种作物:病毒来源于两种以上的作物,既可来自小麦或水稻,也可来自玉米;③野生植物和杂草:野生植物指分布在大田以外(山区、草荒等)的非栽培植物,杂草是指分布在大田作物的田头、行间与农作物伴生的非栽培植物;④田间自生苗,如散落在地里的麦粒或马铃薯块茎出生的苗;⑤田间带毒的休眠种子:有很多种子散落在田间当年并不发芽,但带有病毒,以后发芽成为毒源,如大豆、黑豆和某些瓜类的带毒种子。植物以外的其他来源有:①过冬的介体昆虫,带毒的介体昆虫有的以若虫越冬,有的以成虫越冬,越冬后成为下一生长季节的毒源;②土壤和水,土壤本身并不带毒,而是带有传毒的介体,如土壤线虫、真菌的休眠孢子和游动孢子;③农具运输工具:对于接触感染力较强的病毒如TMV,运输工具、农具以及包装用麻袋都可能成为毒源。

2. 病毒的类型 植物病毒有球状的、杆状的、炮弹状的、条状的、线条状的几种。还有一种分枝状的,形状象树枝,现在还没有完全下结论。日本工作者第一个报道植物类菌原体的土居养二及其协作者反复研究了水稻条纹叶枯病毒病,纯化后在电镜下看到的是分枝状的,而不是象过去报道过的球状的。还有一种水稻白叶病,病原形状与水稻条纹叶枯病很相近,但在血清上没有联系。它的病毒是球状的,也可以出现分枝状的。为什么没下最后结论呢?因为有人怀疑这种分枝状的病原可能是一种螺原体(Spiroplasma),不能排除同时存在病毒和螺原体的可能性。

3. 传播途径 病毒的传播有两个途径,一是空中介体传播,昆虫和螨类在空气中借助风和气流传到栽培作物上,如禾谷类、薯类和果树等。另一个途径是地下传播,主要介体是线虫和真菌,果树上的很多病毒就属此类。它们的发生发展受到土壤、气象、季节等条件的影响。有很多病毒病在春季接种是没有症状的,在秋季接种就是有症状的,如指示植物苋色藜、昆诺藜的有些品种在秋天接种可以产生枯斑,在春天接种就没有症状。还有光照、温度、水肥、微生物等因素组成一个完整的病毒生态体系。我们研究哪一个环节能抑制它,哪一个环节能促进它,围绕生态体系作文章,我们搞农业科学的可以通过调节某些环节而控制病毒病害的发生。

生态体系中最重要因素是人,特别对农作物来说。在自然状态下,对病毒和野生植物的生态体系,人不大干涉它;但在病毒和农作物的生态体系中,人起着主要作用。人既能促进它,也能抑制它。人如果管不了这个体系,就谈不上防治和控制病毒病害。

三、生物因素

1. 病毒及其寄主植物

a. 栽培植物种及品种的改变

农业生态体系中的病毒寄主植物为栽培作物。栽培作物分种(Species)、变种(Variety)、品种(Cultivars)和品系(Clone)。Variety不应译成品种,它是植物学意义上种的亚单位;品系是指遗传基因一致的群体(现在有人直译为克隆),在微生物中从真菌一个孢子繁殖产生的群体叫Clone,在高等植物中指无性繁殖材料产生的后代,如马铃薯的无性繁殖后代遗传性上没有大的改变。

病毒与植物的变种也好、品种也好、品系也好，它们的关系都是在一个达到平衡的状态。如北京地区某一种病毒与某一些寄主建立了相当长的寄生关系，它们是平衡的，病毒病可以发生，但不是很严重。如果不管品种也好、品系也好发生变化，即新的品种、品系来了，病毒就要重新适应，这可能有两种情况发生：一是病毒不适应新寄主，病毒马上下降；二是病毒更适应新品种，数量大大增加，会突然上升造成较大的危害。近十几年来，新品种不断出现，品种的增产作用是很明显的，但存在一个问题，就是对新品种与当地的病毒病及其他病毒的平衡是否有了一个全面的认识，它们是否达到了一个生态平衡。一个新品种往往产量很好、品质很好，但只有经得住当地病毒病及其他病害的考验，才能站住脚。不但是病毒病害，其他病害也是这样。如推广的棉花新品种鲁棉一号，它的产量、品质都好，但不抗黄枯萎病，在山东已是个严重的问题，这已引起国务院的重视，专门召开了会议。因此，在推广新品种时应该考虑对重大病害的抵抗能力，至少应该是耐病的。病毒比其它病菌厉害，它变化很快，每天都在产生很多突变株，虽然大部分淘汰掉了，一旦有了合适的寄主，很少的变株也可在二、三年内就可造成大流行。所以品种换来换去事先没有了解生态情况是没有好处的。

一般病毒与寄主的关系是平衡的，它们并不要毁灭寄主，因为病毒是纯寄生的，没有寄主它自己也失去了存在的前题。当然有些多寄主的病毒可能毁灭其中不稳定的寄主。病毒的寄主范围一般是很广的，即使它毁掉了某个品种或品系，还有其它的品种或品系供它寄生。当然也有一类病毒现在还没有找到第二个寄主，如大麦黄色花叶病毒（是由土壤中多粘菌传的）仅大麦一个寄主。

1b. 野生植物及杂草是病毒的贮源

栽培植物上的病毒不一定是本身的病毒。很多病毒的原始寄主并不是农作物，它们是原始森林中的野生植物。如果原始森林中的病原物不传出来，我们种植的农作物就不会有什么病。我们之所以称TMV为烟草花叶病毒是因为它是在烟草上发现的，其实它的原始寄主却是野生植物；马铃薯病毒也是如此，它可以寄生在其他野生茄科植物上。一个地方作为老耕作区栽培几百年至上千年，它的病、虫都有了一定的量，达到了一定水平，不会没有病毒也不会有太厉害的病毒。这种流行状态叫域内流行（Endemic）。洲际流行（pandemic）是指通过空气和风传播的病害，可以远距离大面积的流行；所谓病害流行（Epidemic）是指每年在一定时期发生而在某些年份比其他年份发生得特别重。

植物病毒的多寄主性：有些病毒的寄主太广泛了，如TMV甚至可以在腐霉（Pythium）的菌丝体内繁殖，因此，它也是真菌的寄生物。当腐霉侵入高等植物幼苗的根时，TMV就被传入植物。另外，观赏植物仙人掌也是TMV的寄主，蕨类植物中也有TMV的繁殖。由于它来源很广，不搞清楚其来源就难于分析它的发生及扩展途径。

过去认为有些病毒的寄主范围很小很窄，主要因为我们研究的不够，如菜豆黄色花叶病毒BYMV，过去只知道它有三个寄主：菜豆、唐昌蒲、小苍兰。现已查出至少有三十个寄主，如西葫芦、芝麻、鸦片等。过去认为某种病毒的寄主范围小，并不是真正的小，它们的寄主可能都在野生植物上，我们注意的仅是农作物及农作物周围的植物而已。我们应该从野生植物，从森林甚至从原始森林来考察，追根求源找出它的寄主。现已知寄主较多的病毒有：CMV—64科242属；AMV—51科430种（人工接种），22科150种（自然感染）；TRV

—50科400种；BCTV—44科400种。

杂草与当地病毒常形成平衡状态 例如,CMV在欧洲的越冬寄主是杂草繁缕(*Stellaria medica*), 这是在三十年代就了解的。在欧洲, 病毒CMV与繁缕已和平共处, 分离出的CMV致病力是很低的。后来从美国引进了CMV美国株系, 接在繁缕上, 结果表现很厉害, 侵染力很强, 因此再传到黄瓜及其他农作物上时, 致病力特别强。因此说, 当地的病毒株系与当地的杂草形成平衡, 而外地的株系与当地杂草可发生强烈的侵染反应, 扰乱了当地的平衡, 造成一种病毒的大发生。另外从检疫角度看, 我国CMV到处都有, 对外检疫是否就不需要检查CMV了呢? 如果被检物带的是CMV的强株系, 象美国株系传入欧洲一样, 那就不得了。因此检疫工作不但是要检到种, 而且要检到株系。

2. 传播介体与病毒的扩展

α. 气传介体——昆虫、螨、花粉(药)

气传昆虫主要有蚜虫、叶蝉、飞虱、粉虱; 螨虽然无翅也可以气传, 随气流上升; 花粉传的例子是大麦条纹花叶病, 花粉授精时, 病毒就传入胚, 从而使新植株感染。

根据介体传染时间的久暂, 可以分为两种关系, 即持久性的和非持久性的。非持久性的介体得毒后不经循徊期、潜育期, 马上可以传染, 短的2—3小时, 长的2—3天, 以后就不能再传染了。持久性的介体得毒后经过循徊期、潜育期之后才可传染, 一旦得毒, 一般可以终身带毒。非持久性和持久性介体传播的距离不同, 前者主要在毒源植物附近传播, 不会太远, 远了口针带的病毒就没有了; 后者需一段时间后才能传毒, 一般离开毒源植物较远。

介体与毒源植物的关系: 北京大约在八月八号(立秋)种秋白菜, 八月十九号苗子出齐, 这时蚜虫传播芜菁花叶病毒的高峰来到。当时田间别的蔬菜基本上没有了, 它的毒源植物是从那里来的呢? 五十年代进行了调查, 搞清了它的来龙去脉, 病毒首先在甘蓝上发生(甘蓝是耐病的), 然后由蚜虫传到萝卜上, 最后再由萝卜传到白菜上。我们研究病毒病害, 首先要搞清病毒的来源, 是从什么地方、什么寄主上来的。七十年代初, 研究小麦丛矮病是灰飞虱传的。灰飞虱是从草荒来的, 而病毒是从杂草上来的。它的杂草寄主特别多, 有几十种, 田间地头的杂草几乎都带毒, 不过有的有症有的无症。

灰飞虱和蚜虫可以做较远距离的传播。如美国南方大麦黄矮病BYDV先在南方冬麦区发生, 再由蚜虫通过季节风的作用, 传到一千多公里外的北方春燕麦区。因为蚜虫在美国北方不能越冬, 所以毒源是从南方来的。为证实这一问题, 他们做了试验, 结果北方的蚜虫、南方的蚜虫和从南到北空中捕捉的蚜虫带的病毒完全一样。由此联想到我们华北地区的小麦丛矮病, 为什么七十年代后突然增多了呢? 有一段时间开荒很多, 树砍掉了, 灰飞虱逃难到大田里去, 传毒介体增多了, 是否是这一原因呢? 有这种可能。

定居介体与非定居介体的传毒关系: 传毒介体有两种类型: 一是定居介体, 在作物上定居下来取食繁殖, 其传毒作用一般不大。二是“过客”, 飞过大田时有尝试的习性, 落下刺吸一下作物, 然后飞走。这种过客的传毒作用是很大的。如小麦黄矮病, 六十年代在西北有人不相信它是蚜虫传的, 认为是缺肥水的原因。他们看到蚜虫多的地方反倒没有病, 这是因为后期发生的定居蚜虫, 并不是传毒者, 而那些传毒的蚜虫“过客”往往早就飞走了。后来由一个同志在早期做了田间罩笼试验, 证实了这一问题, 才使他们相信了。在生产上研究毒源在什么地方和怎样传播是十分重要的。

b. 土传介体——线虫及真菌

严格说来，并没有所谓土传，而是土壤生物传染。从六十年代起，发现土壤中的线虫，真菌有传染病毒的能力，而且它们同病毒的关系是非常密切的。

线虫传染植物病毒具有专化性，这种专化性是由线虫食道表皮的膜蛋白与病毒的蛋白衣壳的亲合力（Compactibility）决定的。病毒进入线虫体内后，能吸附在食道表皮膜上的就有亲合力，不能吸附的无亲合力。有亲和力的病毒被吸附后一般不会脱掉，无亲和力的病毒通过肠道后排出线虫体外而不能传染。线虫是怎样传染植物病毒的呢？当线虫刺吸寄主植物时，要吐出具有一定 pH 的唾液，病毒在这种情况下脱附而随唾液进入植物。线虫传染病毒并不是持久的，当它蜕皮的时候，食道表皮也随着脱掉，所以吸附在上面的病毒也因脱皮而排出，蜕皮的线虫就不能传染了，除非它再次获得病毒。也有的线虫没有专化性，得毒后立即可以传毒，但这种类型很少。

现已知有四个属的线虫可以传染植物病毒：剑线虫属（*Xiphinema*）、长尾线虫属（*Longidorus*）、毛刺线虫属（*Trichodorus*）、拟毛刺线虫属（*Paratrichodorus*），它们都寄生在植物的根部。

真菌的传染：已发现能够传染病毒的真菌有：油壶菌（*Olpidium*）、多粘菌（*Polymyxa*）、粉痂菌（*Spongospora*）、癌肿菌（*Synchytrium endobioticum*）。这些真菌都有两个重要的阶段，即休眠孢子阶段和游动孢子阶段。休眠孢子在土壤中存活的时间较长，病毒可以在休眠孢子内与休眠孢子一起同时休眠并与休眠孢子存活相同的时间。休眠孢子萌发产生游动孢子，游动孢子传带病毒侵入根毛，造成传染。这也有两种情况：一种是持久性的关系，多粘菌属之。如土传小麦花叶病毒是由禾谷多粘菌（*Polymyxa graminis*）传的，在休眠孢子内有杆状的病毒粒体，游动孢子内也有，游动孢子侵入寄主后，一部分病毒进入植物，形成新的孢子后，仍存在于病菌的活动孢子内，因此是持久性的，用这种游动孢子可以接种。另一种是非持久性的关系，如甘蓝油壶菌（*Olpidium brassicae*），在菌体外面带有球状病毒，病毒不能与休眠孢子同时存活。游动孢子的孢壁和鞭毛上带有病毒，当它侵入寄主时要把鞭毛收进孢子里去，同时也把病毒带进孢子从而传染给植物。人工接种时要把病毒或带有病毒的汁液放在水中，加入病菌的游动孢子，使病毒吸附在孢子上，而后才能传染。非持久性传染的病毒大部分是球状的。

TMV 与植物残体的关系：TMV 算不算土传病毒呢？也算也不算，因为寄生某些植物的腐霉（*Pythium*）可以传染；从另一个角度看，TMV 的传染能力非常强，百万分之一就可以，若在土中沾在病残如番茄的根上可以存活很长时间。然而在土中如果被其他微生物攻击就很快消灭掉。所以严格讲，它不是土传。

水分、温度对土传介体的影响：线虫、真菌都需要水分，线虫在无水时游动距离很短，几毫米到几厘米，有水时活动量大得多；真菌孢子的萌发、游动孢子的活动都需要水分，因此影响很大。温度的影响也很大，土传病毒病要求温度较低，大多在土温 18℃ 以下，高于 22℃ 都不表现症状。原因是多粘菌、油壶菌等真菌的游动孢子的萌发及活动需要 22℃ 以下的温度。如土传小麦花叶病早期土温高于 22℃，禾谷多粘菌不能繁殖，因此高温下就不表现症状。线虫也受土温的影响，要求较低的温度（15—20℃ 最合适），夏季高温时向土壤下层转移。