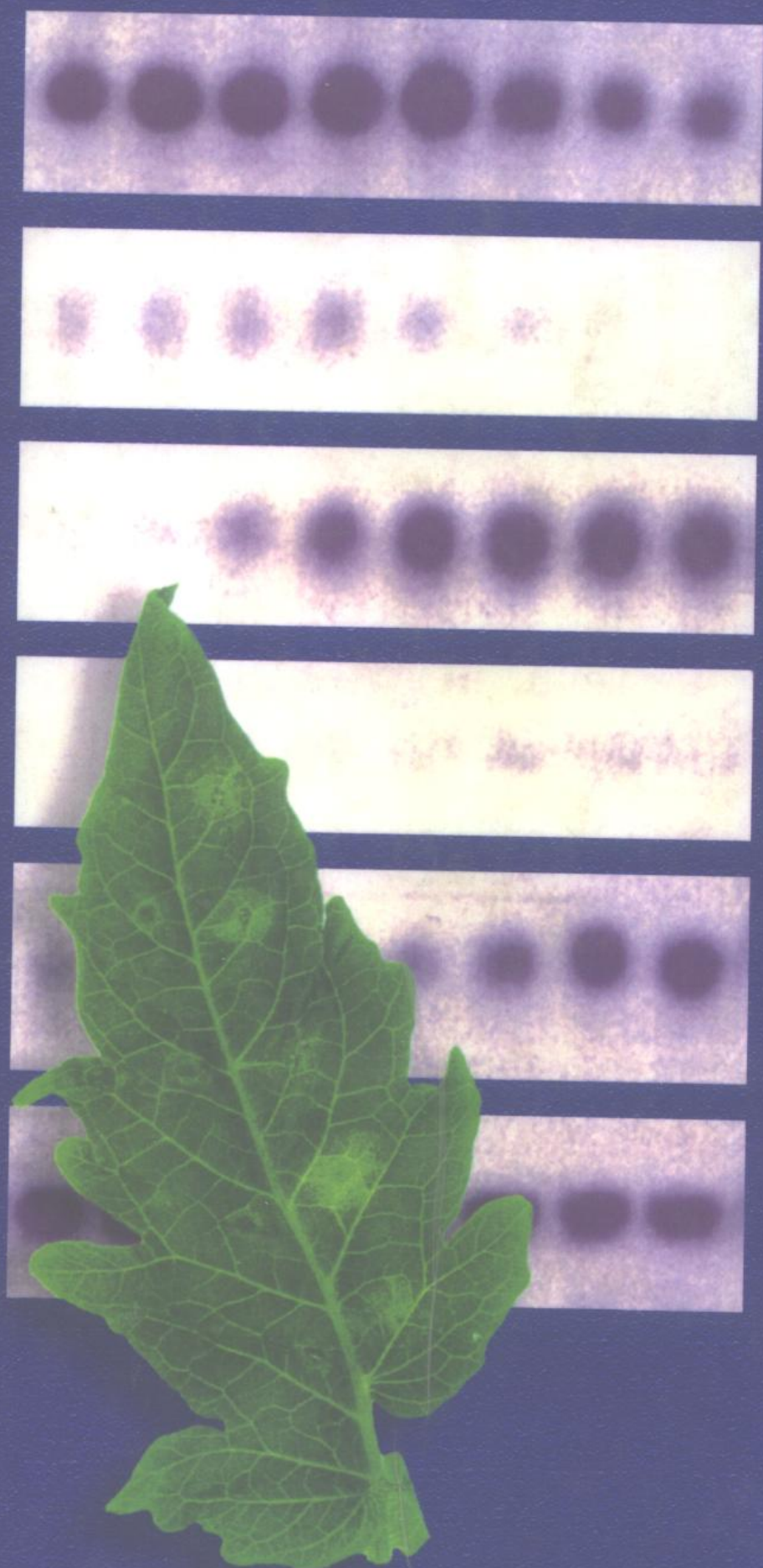


分子植物病理学

王金生 编著

中国农业出版社



MOLECULAR PLANT PATHOLOGY

分子植物病理学

王金生 编著

中国农业出版社

分子植物病理学

王金生 编著

* * *

责任编辑 伏月华

中国农业出版社出版 (北京市朝阳区农展馆北路 2 号 100026)

新华书店北京发行所发行 中国农业出版社印刷厂印刷

787mm×1092mm16 开本 25.25 印张 578 千字

1999 年 4 月第 1 版 1999 年 4 月北京第 1 次印刷

印数 1~3 000 册 定价 48.00 元

ISBN 7-109-05375-X/Q·334

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

内 容 简 介

全书共分九章，第一章绪论，介绍分子植物病理学基本内容、发展趋势以及与交叉学科的关系；第二章简要介绍与分子植物病理学相关的遗传、生理和生物化学基本概念；第三章至第六章分别从病原物、寄主两个方面介绍与病原物致病性和寄主抗病性有关的遗传背景及有关分子生物学机理；第七章着重介绍寄主—病原物互作的分子信号和信号传递；第八章介绍分子植物病理学在防病实践和其他领域中的应用；第九章介绍分子植物病理学与生命科学的发展。

本书是高等农业院校农学、遗传、微生物、植物病理、分子生物学和生物技术等专业师生和广大科技工作者必备的参考书。

前 言

分子植物病理学是传统植物病理学的一门年轻分支学科，仅有近 20 年的历史。由于分子生物学理论和技术的飞速发展以及不断向植物病理学渗透的结果，已使植物病理学的诸多领域带有显著的分子特点。以研究寄主—病原物相互作用中的基因、基因表达及基因调控为主要内容的分子植物病理学，不仅是植物病理学中的一个重要生长点，同时也是生命科学中受到普遍关注的领域。

目前，分子植物病理学不仅有反映本学科发展的国际专门刊物，如美国植物病理学会出版的《植物—微生物分子互作》(Molecular Plant-Microbe Interactions)和《生理和分子植物病理学》(Physiological and Molecular Plant Pathology)，而且有关分子植物病理学的专著也在不断推陈出新。每两年一次在“国际植物—微生物相互作用的分子遗传学讨论会”上发表的论文都多达数百篇。分子植物病理学的发展速度之快、信息量之大已为生物学家广为关注。分子植物病理学的研究成果丰富和发展了传统植物病理学的基本知识、基本理论和基本技能。分子植物病理学已形成完整的理论体系和实验技术，它的发展不仅赋予植物病理学新的活力，而且对相关学科如基因工程学的发展产生了深刻影响。

作者从 20 世纪 80 年代中期开始涉足分子植物病理学的研究领域，并对水稻白叶枯病致病过程分子机理的研究在“七五”、“八五”和“九五”期间受到国家高技术发展计划(863)专家组的资助。1990 年起，南京农业大学植物病理学科正式为研究生开设了相应课程。近年来还应邀在部分兄弟院校以讲座的形式讲授分子植物病理学的有关内容。编著本书的目的一方面是系统介绍分子植物病理学及其有关领域的新进展、新概念、新思路及新技术，以提高我国植物病理学的理论和研究水平；另一方面也藉此对我们过去的工作进行检查。并希望通过本书所介绍的关于分子植物病理学基本概念、基本理论、基本方法等，对广大植物病理学工作者调整制订自己的研究战略和策略、提高研究水平有所帮助。同时，通过本书还希望植物病理学专业的本科生和研究生对有关本分支学科的基本内容和发展趋势建立起一个概念框架，以便在从事有关研究时能顺利接轨。

最近与有关同事讨论植物病理学发展史时，大家注意到一个非常有趣的现象。即在近代植物病理学发展的早期，许多研究植物病害病理学问题的人是植物学家、微生物学家、化学家，甚至是医生。20 世纪 50 年代以前学科相对稳定，是植物病理学学科成熟并稳定发展的时期。50 年代以后，新学科和新技术向植物病理学加速渗透。时至今日，不同学科之间的界限又变得模糊起来了。不同学科的科学家用植物病害为研究系统各自从不同角度对他们所感兴趣的问题进行探讨，并从细胞、分子，甚至电子水平上来阐明植物病理学的基本规律。分子植物病理学之所以发展迅速，学科间交叉渗透是重要原因。作者从事植物病理学教学和科研工作多年，编写本书时仍遵循植物病理学的基本观点，在阐明分子植物病理的每一个主题时都注意点明这些问题在传统植物病理学中的来龙去脉。这对植物病

理学家向分子植物病理学拓展以及分子生物学家研究植物病理学问题都是有益的。鉴于分子植物病理学是一个内容丰富且专业跨度很大，而又处于不断发展的阶段，因此在收集资料和分析问题时不足和不妥之处实在难免，务请读者提出宝贵意见。

本书的编写是多年来国家高技术发展计划给予研究资助的结果，作者深表谢意。同时在编写过程中李德葆教授和彭友良教授提出了宝贵的修改意见。杨悦同志帮助文稿输入和打印，宋从凤、王唏本同志在最后定稿时通读全文并提出宝贵意见，在此一并致谢。

王金生

一九九八年六月

中华农业科教基金资助图书

中华农业科教基金会简介

中华农业科教基金会经中国人民银行批准，民政部注册登记，于1995年12月20日成立。基金会得到国家科委、中国人民银行、民政部、农业部等部委的大力支持；得到国内外企业界、知名人士的积极响应。基金会归口农业部管理，接受中国人民银行和民政部监督。

中华农业科教基金会的宗旨是：通过广泛吸收国内外和社会各方面的资金，用以支持中国农业科教事业，补充国家主渠道对农业科技的投入，以加快实施“科教兴农”战略。

中华农业科教基金会的任务是：发展农业科教事业，推动农业科技进步，提高农业劳动者素质，促进中国农业发展和农村经济繁荣。基金会资助农业基础研究、应用研究、试验示范、成果推广和农业科教前沿重大课题的研究；资助有突出贡献和有发展潜力的中青年农业科技人才；资助优秀农业科技著作的出版；奖励在中国农业科教事业中做出重要贡献的个人。

中华农业科教基金会将根据政府制订的农村经济发展规划，定期公布资助方向。资助项目的遴选实行“公开申请，专家评审，民主公正，择优资助”原则。基金会建立严格的筹资、管理和使用制度，公正、合理、规范、科学、有效地使用农业科教基金，向捐赠者公开收支帐目，接受监督。

中华农业科教基金会热忱欢迎国内外企业、社团、各界人士向本基金会捐赠资金，本基金会可根据捐赠者的意愿，设立名人基金、专项基金等。

目 录

第一章 绪论	1
第一节 分子植物病理学的内容	1
第二节 分子植物病理学的任务	2
第三节 分子植物病理学发展简史	3
第四节 分子植物病理学在植物病理学中的地位	11
第五节 学科交叉对分子植物病理学的影响	13
第六节 分子植物病理学的研究现状和前景	14
第二章 寄主—病原物相互作用的遗传和生理生化基础	17
第一节 寄主—病原物相互作用的遗传学基础	17
一、植物—微生物相互关系	17
二、寄主和病原物的遗传变异	18
三、寄主—病原物识别	22
四、基因—基因概念	27
第二节 病原物致病生化因子	29
一、毒素	29
二、胞外酶	33
三、病原物激素	36
四、病原物胞外多糖	38
第三节 寄主植物抗病性的生理生化特征	40
一、抗病性生理生化特征	40
二、主要抗病因子	49
第三章 病原物致病相关基因	71
第一节 病原物侵染的生物学特性	71
一、真菌侵染的生物学特性	71
二、细菌侵染的生物学特性	72
三、病毒侵染的生物学特性	74
四、植物线虫侵染的生物学特性	76
第二节 病原物基因组的结构特征	77
一、植物病原真菌基因组	77
二、植物病原细菌基因组	79
三、植物病毒基因组	81
四、植物线虫基因组	82

第三节 病原物致病基因的类型	82
一、决定亲和性的基因	82
二、决定不亲和性的基因	83
第四节 植物病毒的侵染过程与致病相关基因	84
一、病毒的吸附、侵入、复制、装配和显症的分子生物学基础	84
二、植物病毒的致病机制和致病基因	95
第五节 植物病原细菌的致病相关基因	106
一、克隆基因的策略和研究方法	106
二、与病理过程有关的基因	113
三、质粒及其在致病中的作用	143
四、植物病原细菌致病基因的调控机制	150
第六节 植物病原真菌的致病相关基因	158
一、病原真菌基因克隆的策略和研究方法	158
二、病原真菌致病过程的相关基因	160
三、真菌低致病力的分子遗传基础	176
四、真菌营养亲和性的分子遗传基础	180
五、真菌致病基因的调控机制	185
第七节 关于病原物间致病基因同源性问题的讨论	187
一、植物病原菌致病基因之间的同源性	187
二、植物和动物病原菌基因之间的同源性	188
第四章 寄主植物的抗病基因	190
第一节 经典植物病理学中植物抗病性和抗病基因的概念	190
一、植物抗病表型	190
二、植物抗病因子	190
三、植物抗病性遗传	191
第二节 分子植物病理学中植物抗病性和抗病基因的概念	191
一、与病原物亲和性因子有关的抗病性	191
二、与病原物不亲和性因子有关的抗病性	192
三、信号识别和信号传递	193
第三节 植物抗病基因的克隆方法	196
一、差异表达克隆法	196
二、异源基因克隆法	196
三、利用结合特异性通过鉴定抗病基因产物克隆抗病基因	197
四、转座子标签克隆法	198
五、染色体步查克隆法	200
六、作图克隆法	201
七、互补克隆法	201
第四节 抗病基因鉴定	202

第五节 植物抗病基因的结构和功能特征	202
一、豇豆抗花叶病毒基因	202
二、玉米抗圆斑病的 <i>Hm1</i> 基因	203
三、番茄抗细菌叶斑病的 <i>pto</i> 基因	203
四、拟南芥抗丁香假单胞的基因 <i>RPS2</i> 和 <i>RPM1</i>	204
五、烟草抗 TMV 的 <i>N</i> 基因	204
六、亚麻抗锈病的 <i>L6</i> 基因	205
七、拟南芥抗霜霉病的 <i>RPP5</i> 基因	205
八、番茄抗叶霉病的 <i>cf9</i> 、 <i>cf4</i> 、 <i>cf2</i> 和 <i>cf5</i> 基因	205
九、水稻抗白叶枯病的 <i>Xa21</i> 基因	206
十、甜菜抗胞囊线虫 (<i>Heterodera schachtii</i>) 的 H_11^{pro-1} 基因	206
十一、其它抗病基因	206
第六节 植物抗病基因的功能	207
一、根据寄主—病原物相互作用来推测抗病基因的功能	207
二、根据 R 蛋白的结构预测的 R 基因的功能	207
第五章 植物防卫反应基因	212
第一节 防卫反应的发生特点	213
一、防卫反应基因的结构特点	213
二、防卫反应基因的表达调控	213
三、防卫反应基因功能的多重性	214
第二节 防卫反应基因的研究策略	214
一、防卫反应基因的克隆	214
二、防卫反应基因的时空表达	214
第三节 防卫反应基因的主要类型	217
一、病程相关蛋白基因	217
二、水解酶基因	224
三、硫素 (Thionin) 基因	230
四、植物细胞壁修饰中的基因及其调控	232
第四节 防卫反应基因表达的时空概念和发育调节	240
一、植物防卫反应基因的结构性表达	241
二、植物防卫反应基因的诱导表达	241
第六章 寄主—病原物相互作用	244
第一节 寄主—病原物互作的生化特征	244
一、植物病毒与寄主的互作关系	244
二、植物病原细菌与寄主的互作关系	246
三、植物病原真菌与寄主的互作关系	250
四、植物线虫与寄主的互作关系	262
第二节 互作的分子内涵和进化模式	269

一、互作的生化和遗传特征	269
二、互作类型	270
第三节 激发子	272
一、激发子的来源	272
二、激发子的化学与结构特性	274
三、激发子的作用类型	279
第四节 抑制子	282
一、抑制子的化学与结构特性	282
二、抑制子的作用机制	284
第五节 受体	285
一、植物对激发子刺激信号的接受	285
二、识别激发子和启动过敏反应的受体	286
三、有关激发子受体的鉴定	287
第六节 诱导抗病性和诱导感病性	289
一、诱导抗病性	289
二、诱导感病性	292
第七节 互作的双向调节	295
一、病原生物基因的诱导表达	295
二、寄主基因的诱导表达	296
第七章 信号接受和信息传递	301
第一节 基本概念	301
第二节 信号分子的类型和引发的反应	301
一、病原物接受寄主的信号	301
二、寄主接受病原物的信号	304
三、植物中对抗病性有调节作用的信号分子	305
第三节 信号接受和传递机制	305
一、信号传递过程中发生的事件	305
二、不同类型寄主—病原物互作关系中信号传递过程	308
第四节 系统获得抗性中的信号传递机制	322
一、基本概念	322
二、水杨酸在 SAR 信号传递中的作用	323
第五节 植物和动物中信号传递系统的比较	329
一、在生化水平上的比较	329
二、第二信使的作用	330
三、动物中信号传递的一般特征及其与植物的关系	335
第八章 植物抗病基因工程的基本原理和方法	337
第一节 基因工程的意义及其在抗病育种中的应用	337
一、基因工程在现代农业发展中的意义	337

二、基因工程在农作物育种方面的应用	338
第二节 植物基因工程的基本步骤	339
一、目的基因的鉴定和克隆	339
二、目的基因的加工和重组	340
三、目的基因向植物的转化	341
四、嵌合基因的构建	351
五、转化和再生	354
六、表达策略	357
第三节 植物抗病毒基因工程	358
一、主要策略	359
二、有关机理	360
第四节 植物抗真菌病害的基因工程	361
第五节 植物抗细菌病害的基因工程	362
第六节 从分子植物病理学的发展看植物抗病基因工程	362
第九章 分子植物病理学与生命科学	364
第一节 植物病原物的形成与植物病害的发生	364
第二节 系统进化	365
一、达尔文生物进化原理及理论发展	365
二、植物病原菌的致病性演化	366
第三节 协同进化理论和寄主—病原物相互作用的遗传学	366
名词、名称索引	368
参考文献	378

第一章 绪 论

第一节 分子植物病理学的内容

分子植物病理学是现代植物病理学的一个重要分支学科。现代植物病理学从群体、个体、组织、细胞和分子等不同水平上研究病原物的致病性、寄主植物抗病性、病害灾变规律以及防治策略和方法。分子植物病理学是现代植物病理学中的新兴学科，它应用分子生物学理论和 DNA 重组技术，研究植物病害的发生机制，阐明病程中寄主—病原物相互作用的分子基础，寄主、病原物与病程相关的基因及其结构、表达和调控机制。分子生物学是从分子水平上研究并解释一切生物学现象，并在分子水平上改造和利用生物的一门科学。所谓分子水平的研究，一般理解为对核酸和蛋白质等生物大分子的结构和功能的研究。因此，分子植物病理学也就是在分子水平上研究并解释一切病理现象，并在分子水平上讨论和解决植物病害防治的理论和途径的科学。

虽然核酸和蛋白质研究是分子植物病理学的重要特征，但在寄主—病原物相互作用中，多糖、酚类化合物和有机酸类等生物大分子也起重要作用。因此，从广义讲，分子植物病理学的研究内容还包括寄主和病原物的次生代谢产物的结构及其在相互作用中的作用，从而在识别、信息传递和病害表型三个方面全面阐述寄主—病原物相互作用的分子内涵。识别作用是寄主和病原物表面大分子的互补作用决定的，识别的结果决定寄主和病原物相互作用的亲和性。不亲和性表现为寄主对病原物的排斥反应，结果是病原物不能侵入寄主，或侵入后不能在寄主植物体内繁殖和蔓延，结果病原物侵染仅局限在少数细胞中，最终寄主表现为抗病。亲和性互作表现为寄主对病原物的相容性，病原物在不引起寄主植物明显防卫反应的情况下侵入寄主植物，定殖后迅速繁衍和蔓延，引起寄主植物的细胞和组织大面积病变，最终使寄主表现为感病。信息传递是寄主—病原物相互作用中表面分子互作效应的内在化过程。植物的抗病或感病反应都是从寄主和病原物接触开始，通过表面分子互作，然后把信号传递到细胞内部，引发一系列相互联系的生理生化反应。这些反应或迟或早，或强或弱地与植物的防卫反应相联系，从而表现植物病害表型的千变万化。病害表型从症状类型看有坏死、腐烂、畸形等不同类型，从发病程度看有抗病、感病之分。这些变化都与寄主和病原物互作的性质有关，其中涉及病原物的致病基因表达和调控以及产物在致病过程中作用的生化机制、寄主植物的抗病基因表达和调控以及抗病性生化机制。生物学从动、植物的形态、解剖和分类开始，经历了细胞学、微生物学、遗传学、生理学、生物化学，直至进入了分子生物学阶段，从而把生命物质的结构和功能与分子水平上的基因（DNA）及其表达（蛋白质）联系起来。植物病理学也是从认识病害开始，经历了病原学、症状学、寄主和病原物相互作用的遗传学、病理生理和生化学，直至进入了分子病理学阶段，从而把各种病害表型与寄主和病原物的基因和表达联系起来。在寄主和

病原物互作的各个阶段中所发生的反应都可以找到相应的分子依据，即特殊基因的存在及所表达产物的功能。

和传统植物病理学相比，分子植物病理学的研究策略有三个主要特点。第一，传统植物病理学是从外到里的研究，它以研究寄主和病原物的表型为主，包括形态、结构和生理生化变化。而分子植物病理学则是采取从里到外的研究，以研究寄主和病原物的基因为主要对象，阐明寄主—病原物相互作用的有关基因的结构、表达、调控及其产物功能。第二，传统植物病理学的研究多以概念导向，根据表型进行推理，再以实验予以验证，如植物腐烂病类型的病理特征是细胞浸离（maceration）和细胞壁降解，因此，根据概念首先推论植物细胞间的粘连物质—果胶的降解与该症状发生有关，然后再验证病原物的果胶与致病作用的关系，从而证实果胶酶在致病中的作用。其他胞外降解酶的作用，也都是从植物细胞壁结构组分的研究中得到启示，从而证明纤维素酶、蛋白酶等对病原物的致病性也有一定作用。与传统植物病理学不同，分子植物病理学则是以方法导向，先是以分子克隆的方法鉴定与致病性有关的基因，然后根据该基因产物及对生化表型的影响确定基因的类型及其作用。从工作方便考虑，分子病理学家通常也参考传统植物病理学的研究资料，以有关生化因子为依据克隆相关基因，再证明这些基因在致病中的作用。第三，传统植物病理学的许多研究，特别是病理生理和致病机理的研究基本上是用比较研究的方法，从寄主植物抗病性和病原物致病性不同的群体或个体的比较研究中得出与寄主植物抗病性和病原物致病性有关的特征，而分子植物病理学则是在 DNA 水平上通过互补分析和缺失研究，从个体到群体来分析有关基因的作用和功能表现的调节。

第二节 分子植物病理学的任务

分子植物病理学的任务是用分子生物学的方法来研究植物病理学的问题，从而阐明寄主—病原物互作中有关基因的作用及其产物对病程发展的影响。

研究病原物的致病基因及其表达和寄主植物的抗病性、感病性基因及其表达是分子植物病理学的两大主要任务。植物病害作为寄主—病原物相互作用的一种表型涉及到寄主—病原物中的许多基因，这些基因在致病过程的不同阶段起作用。

植物病原生物在分类学中的跨度很大，现发现有病毒、类病毒、细菌、真菌和线虫等。这些病原生物从对植物的致病性这一点讲是共同的，但是与寄主的相互关系却不相同。最简单的类病毒仅含核酸，其分子量仅有一般病毒的十分之一，约 $1\sim5\times10^5\text{u}$ ；植物病毒由核酸和蛋白质组成，其大小约 $1\sim5\times10^6\text{u}$ ；细菌是单细胞原核生物，只有一个染色体，基因组大小一般在 3×10^6 碱基对（bp）左右，约含 5000 个基因；真菌和线虫为真核生物，每个细胞多数不止一个染色体，基因组大小约为 10^7bp 。据估计病原物的致病基因可以多达 50~100 个，为总基因数的 1%~2%。除编码已知致病生化因子的基因外，鉴定一个新的致病基因，并证明其产物在致病过程中的作用并不容易。对病原物致病基因的研究除各个基因外，还必需要了解不同基因之间的关系，以及致病基因产物作用于寄主细胞上靶点的分子特征。

寄主抗、感病基因及其表达、调控不仅是植物病理学家感兴趣的问题，育种学家对此

也感兴趣。无论从经济还是从生态学角度看,应用寄主抗病性是防治病害的最佳选择。但鉴于病害种类多,病原物小种(或菌系)的变化快,生态环境对植物抗病性的影响大和维持一种植物抗病性的持久性困难等原因,农作物抗病育种的任务是很艰巨的。研究植物抗、感病基因及其表达、调控,可以为充分、合理利用植物抗病性提供依据。研究抗病性遗传已有 90 多年历史,迄今已发现几百个单基因分别对真菌、细菌、病毒、线虫和其他昆虫提供抗性,应用于抗病育种的已有 200 多例,获得了从免疫到部分抗性不同类型的抗病品种,但多数品种仅对一种病菌或一个小种起作用。不少植物的抗病基因已定位到染色体上,但进行分子克隆的还不多。对于抗病基因的产物及其功能已在少数病例中有所揭示,但多数仍处于推论和探索之中。与病原物致病基因的研究一样,对植物抗病基因的研究除克隆和分析基因的序列特征外,还必须研究该基因产物的性质和功能。根据目前研究的结果,似已明确抗病基因产物的作用并不直接杀伤病原物,而是作为一种调控因子,通过信息传递激发寄主植物的防卫反应(defense response)。感病基因是在寄主—病原物亲和性互作中寄主的特殊病理反应中起调控作用,感病基因产物也可以作为致病因子的靶点(target)或受体(receptor)直接或间接对病理过程产生影响。

因为植物病害是在寄主—病原物互作系统中表现出来的,所以分子植物病理学在研究病原物致病基因和寄主植物的抗病基因时,总是把两者结合起来讨论,因此,出现了寄主—病原物相互作用的遗传学这一概念。在这一概念中通常包括寄主对病原物致病基因表达的调控;病菌对寄主抗、感病基因表达的调控;病菌致病性变化与寄主的关系;寄主抗病性变化与病原物的关系;寄主—病原物互作中的信号识别和信息传递过程即表面分子识别及识别后引发的一系列导致寄主抗、感病性变化的生理生化反应。

植物抗病基因工程是分子植物病理学在防病实践中的直接应用,其中既有理论探讨,也有技术探讨。理论探讨是在植物抗病性分子机制研究的基础上,正确选用目的基因并使导入的抗病基因经济、有效、稳定地表达。在技术探讨方面,基本方法路线 10 年前已有突破,但在分离优良性状的基因方面、基因的组合和修饰方面、目的基因的导入和与植物基因组正确整合等方面还有待完善。

第三节 分子植物病理学发展简史

分子植物病理学产生于分子生物学和植物病理学的交叉点上,因此,谈论分子植物病理学的历史必须寻找这两个学科在发展中的碰撞点。植物病害主要包括病毒病害、细菌病害、真菌病害和线虫病害。运用分子植物病理学的观点和方法对这些病害的研究水平发展是不平衡的。

植物病毒病害分子水平的研究可以追溯到斯坦尼(W.M.Stanley)于 1935 年成功地分离出烟草花叶病毒的结晶,但学科的建立还是近 10 多年的事。植物病毒无细胞结构,属分子生物,所以对植物病毒一开始就是在分子水平上进行研究的。1892 年伊万诺夫斯基(Д.Ивановский)发现患烟草花叶病植株的汁液可以传染病害,而且通过细菌滤器后仍起作用,从而提出病毒与细胞生物在本质上是不同的。此后,拜叶林克(M.W.Beijerinck)发现,烟草花叶病毒用酒精沉淀后仍不丧失侵染活性,同时还能在琼

脂糖凝胶中扩散。这些特征在生物中从未发现过，因此他认为病毒是有别于生物的“液态感染要素”。病毒究竟是什么？是细胞的可滤性阶段，还是某种如酶的生物活性物质，对此讨论了将近 40 年，直到 1935 年斯坦尼获得烟草花叶病毒的结晶，并证明结晶体的大部分是蛋白质组成的。因此，他在 1945 年获得了诺贝尔奖。此后于 1937 年鲍登 (E.C.Barden) 和皮里 (N.W.Pirie) 报道了烟草花叶病毒的化学组成，提出该病毒由 95% 蛋白质和 5% RNA 组成。1939 年考斯切 (G.A.Kausche) 首次在电镜下观察到烟草花叶病毒的粒体。后来哈里斯 (J.I.Harris, 1952) 和弗兰克尔—康拉特 (H.Frankel-Conrat, 1955—1956) 对 TMV 粒体中的蛋白质和核酸性质的研究都有重要发现。特别是弗兰克尔对 TMV 的蛋白质和核酸进行重组的工作，为证明核酸作为一种遗传物质的作用提出了令人信服的证据 (图 1-1)。他首先将完整的病毒颗粒在酚中振荡后裂解成蛋白质和核酸两个组分，分别感染植物，结果

RNA 能感染植株，而蛋白质则不能。纯化 RNA 的感染活力只有完整病毒颗粒的 0.1% ~ 1%。这种感染活力的下降被认为是 RNA 在感染过程中，由于失去蛋白质保护而被酶降解的结果。用这种分离和聚合的方法他还合成了杂合的病毒颗粒 (图 1-2)。杂合病毒具有普通烟草花叶病毒 (TMV) 毒株的蛋白质外壳和霍氏车前病毒 (HR) 的 RNA。杂合病毒具有 TMV 的蛋白质外壳，可被 TMV 的抗体钝化，而不被 HR 的抗体钝化。当用杂合病毒感染植株的时候，表现出来的症状具有 RNA 供体病毒的特征，而且从染病植株病斑中分离出来的病毒颗粒，能被 HR 菌株的抗体钝化。这说明第二代病毒颗粒具有 HR 毒株的 RNA 和蛋白质外壳，而且复制和繁殖新病毒颗粒所必需的遗传信息包含在 RNA 中，而不是在蛋白质

中。从现代的眼光看，弗兰克尔—康拉特的工作很简单，但从历史的角度看却是植物病毒分子病理学的经典之作。1958 年吉尼和芒特瑞 (A.Gierer, K.W.Mundry) 用亚硝酸诱变获得 TMV 的突变株，使坏死病斑从 0.2% 增加到 15%，这进一步说明了病毒 RNA 的突变与致病功能的关系。含有脱氧核糖核酸 (DNA) 的植物病毒是 1968 年谢泼德 (R.J.Shepherd) 等在研究花椰菜花叶病毒 (CaMV) 时发现的。20 世纪 60 年代，许多病毒学家进行了关于病毒颗粒在体外重建的研究，发现 TMV 蛋白质不仅能和 TMV-RNA 及紧密相关的 RNA 如黄瓜褪绿斑驳花叶病毒进行重装配，而且还能和不相关的病毒 RNA 进行重装配。20 世纪 60 年代以后进行了大量的有关病毒复制和颗粒装配及其基因组的结

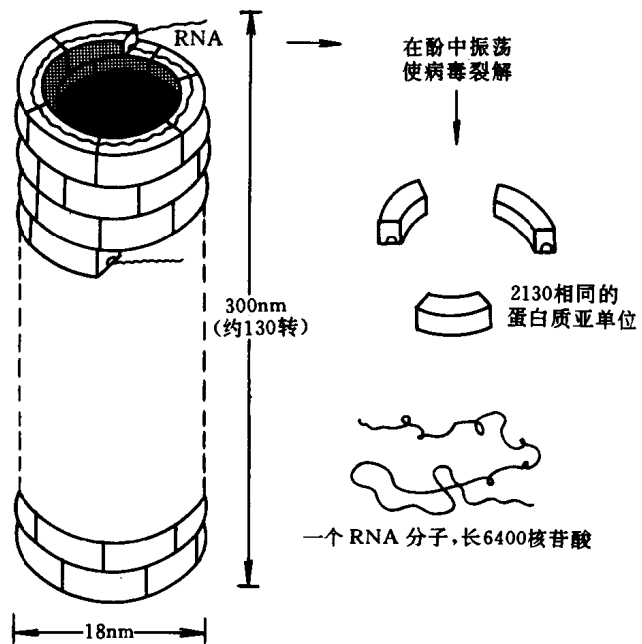


图 1-1 烟草花叶病毒结构图解

TMV 是一个由 2130 个相同的蛋白质亚单位组成的中空圆柱，一个单链 RNA 分子以螺旋形围绕在亚单位之中。当病毒颗粒在酚中振荡时就裂解成蛋白质和 RNA 组分