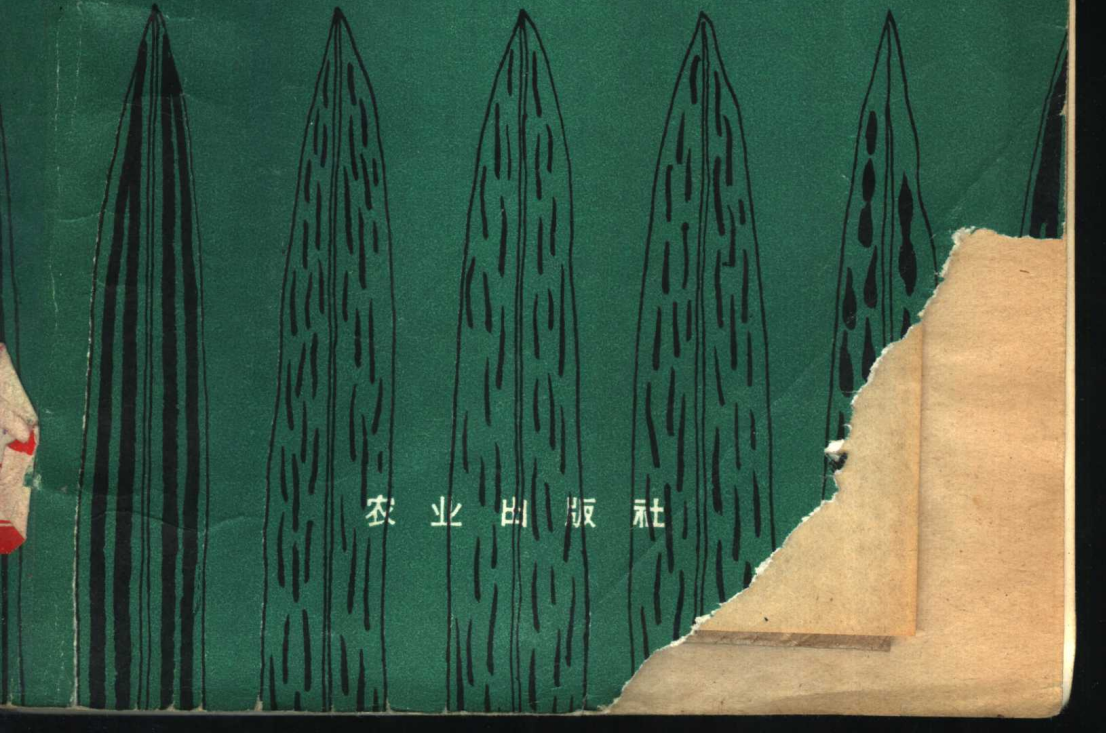


植物病毒鉴定

《植物病毒鉴定》编写组

农业出版社



植物病毒鉴定

《植物病毒鉴定》编写组编著

编写人员:

张成良 胡伟贞 曹华林 沈淑琳

张作芳 刘乃炽 吴丽英 陈燕芳

植物病毒鉴定

《植物病毒鉴定》编写组编著

农业出版社出版 (北京朝内大街130号)

新华书店北京发行所发行 农业出版社印刷厂印刷

850×1168毫米32开本 9.625印张 8插页 236千字

1980年12月第1版 1980年12月北京第1次印刷

印数 1—5,000册

统一书号 16144·2165 定价 1.35元

前 言

近年来，我们收集了国内外关于植物病毒鉴定技术新进展及主要粮食作物病毒病方面的资料，编写成《植物病毒鉴定》一书。全书分第一、二篇和附录三个部分。第一篇主要介绍植物病毒鉴定基本技术；对类病毒、类菌质体等新的病原也作了简要介绍。第二篇介绍了稻、麦、玉米等病毒病的分布、症状、寄主范围、传播介体、传病特性、病毒形态、物理化学和血清学特性等。附录部分介绍了一些与病毒鉴定有关的问题。书后列有索引。

由于水平有限，收集的资料也不够全面，书中谬误之处在所难免，望读者批评指正。

本书曾请北京农业大学植保系梁训生同志多次修改，并请北京农业大学袁维藩教授、上海复旦大学王鸣歧教授、中国科学院微生物所副研究员田渡同志、中国农业科学院植物保护研究所病毒组和浙江农科院植物保护研究所病毒组及李学书、濮祖芹等同志作了部分修改并提出宝贵意见；北京农业大学管致和教授帮助审定病毒介体学名；中国科学院上海生物化学研究所病毒室、上海复旦大学电镜室提供部分病毒照片；张洪礼、赵君凯、张从仲、李慕贤等同志帮助绘制和拍摄部分图片及照片，在此一并致谢。

编 者

1979年5月

目 录

第 一 篇

一、植物病毒概念	1
二、植物病毒的侵入、运转及传播	8
三、病毒的增殖与致病	16
四、植物病毒病诊断技术	18
(一) 植物病毒病的外部症状和内部病变及内含体	19
1. 植物病毒病的症状识别	19
2. 内部病变及内含体	32
(二) 传播途径的确定	38
1. 昆虫传播病毒方式的测定	38
2. 螨传播病毒及其测定方法	42
3. 病株汁液接种传染的测定	44
4. 线虫传播病毒的测定	45
5. 真菌传播病毒的测定	46
6. 土壤传播病毒的测定	47
7. 种子传播病毒及其测定	47
8. 嫁接传播及菟丝子“桥接”传播病毒的测定	50
(三) 寄主范围及鉴别寄主的测定	51
(四) 植物病毒物化特性的测定	52
(五) 电子显微镜诊断法	55
(六) 植物病毒的血清学诊断方法	63
1. 病毒抗原的制备	66
2. 病毒抗血清的制备	69
3. 血清反应	73

(1) 试管沉淀反应	74
(2) 小试管环状沉淀反应	76
(3) 玻片凝集反应	76
(4) 免疫双扩散技术	78
(5) 琼脂免疫电泳法	81
(6) 蛋白质间接红血球凝集反应	83
(7) 荧光抗体技术	91
(8) 酶标记免疫吸附测定法	97
五、植物病毒病的防治	102
六、类病毒	107
七、植物类菌质体病害	110

第 二 篇

一、水稻病毒病	124
(一) 水稻普通矮缩病	124
(二) 水稻黑条矮缩病	130
(三) 水稻条纹叶枯病	135
(四) 水稻黄矮病	139
(五) 水稻暂黄病	143
(六) 水稻“东格鲁”病	146
(七) 水稻矮化病	147
(八) 水稻白叶病	149
(九) 水稻坏死花叶病	152
(十) 水稻黄斑驳病	155
(十一) 水稻花叶病	157
(十二) 水稻橙叶病	157
(十三) 水稻黄萎病	158
(十四) 水稻草丛矮缩病	161
(十五) 水稻裂叶矮缩病	162
二、麦类病毒病	166
(一) 麦类黄矮病	166

(二) 小麦丛矮病	171
(三) 小麦红矮病	175
(四) 小麦条点花叶病	178
(五) 小麦土传花叶病	180
(六) 小麦梭条斑花叶病	182
(七) 小麦黄色花叶病	183
(八) 小麦黑条矮缩病	185
(九) 冬小麦花叶病	185
(十) 小麦条斑花叶病	186
(十一) 小麦黄叶病	188
(十二) 小麦矮缩病	188
(十三) 小麦褪绿斑驳病	189
(十四) 南非小麦矮化病	189
(十五) 非洲禾谷类条斑病	190
(十六) 东方小麦条斑病	190
(十七) 大麦黄花叶病	192
(十八) 大麦条纹花叶病	194
(十九) 大麦属花叶病	197
(二十) 大麦花叶病	198
(二十一) 燕麦伪丛簇花叶病	198
(二十二) 燕麦蓝矮病	200
(二十三) 燕麦花叶病	201
(二十四) 燕麦不孕矮化病	201
(二十五) 燕麦坏死斑驳病	202
(二十六) 北方禾谷类花叶病	202
(二十七) 雀麦花叶病	205
(二十八) 禾谷类矮缩病	206
(二十九) 黑麦草花叶病	206
三、玉米病毒病	207
(一) 玉米矮花叶病	207
(二) 玉米黑条矮缩病	210
(三) 玉米粗缩病	212
(四) 玉米条纹矮缩病	213

(五) 玉米花叶病	214
(六) 玉米印度花叶病	215
(七) 玉米条纹病	216
(八) 玉米叶斑病	216
(九) 玉米鼠耳病	217
(十) 玉米矮化病	218
(十一) 玉米白叶病	218
四、与谷类作物有关的病毒病	220
(一) 粟红叶病	220
(二) 高粱同心环斑病	222
(三) 稷花叶病	222
(四) 甘蔗花叶病	223
(五) 冰草花叶病	224
(六) 鸭茅条斑病	225
(七) 鸭茅斑驳病	225
(八) 羊茅坏死病	226
(九) 剪秋罗环斑病	226
附录	228
1. 重要作物主要病毒类型检索表 (包括类菌质体、类病毒)	228
2. 转速与离心力	245
3. 病毒粒体大小的测量	245
4. 溶液的配制	252
5. 器皿洗涤和消毒	260
参考文献	265
索引	270
植物病毒 (包括类菌质体和类病毒) 英文名称索引	270
植物病毒 (包括类菌质体和类病毒) 中英名对照索引	281
寄主植物中拉名称对照索引	286
传毒介体中拉名称对照索引	295

第 一 篇

一、植物病毒概念

在所有病毒中，植物病毒的结构最简单，其基本组成是蛋白质与核酸。到目前为止，全世界已知的植物病毒约有 700 种。六十年代以前，有些所谓植物病毒病害的病原，现在已证明不是病毒，而是菌原质 (Mycoplasma) 类的微生物，称为类菌质体 (Mycoplasma-like-bodies)。另有极少数病害则由一种类病毒 (Viroid) 所致。

(一) 植物病毒的形态结构

成熟的个体称为病毒粒体 (viron)，它的体积比细菌小得多。例如，最大球状病毒的直径只有 120 毫微米 (nm)*，小的还不到 20 nm，而最小球状细菌的直径可达 300 nm。最宽的线条状病毒宽度只达 24 nm，而最小杆状细菌宽度可达 300 nm。目前，最好的光学显微镜只能看到 200 nm 以上的物体，所以观察病毒粒体不能用光学显微镜，而只有用电子显微镜才能看到。

植物病毒的形态和大小差异甚大，有球状、杆状、线条和弹状 (或杆菌状) 和分枝丝状体等 (图 1)。

1. 球状病毒

* 度量病毒常用单位为毫微米 (nanometer 简称 nm 下同) 详见附录 3。

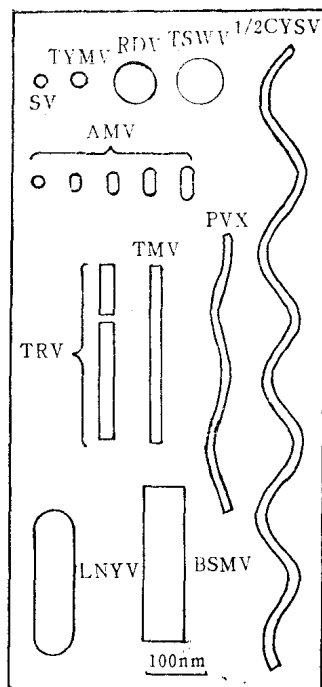


图1 植物病毒形态及大小示意图
(Matthews 1970)

SV (Satellite virus)	卫星病毒
TYMV (Turnip yellow mosaic virus)	芜菁黄色花叶病毒
RDV (Rice dwarf virus)	水稻普通矮缩病毒
TSWV (Tomato spotted wilt virus)	蕃茄斑萎病毒
CYSV (Citrus yellow shoot virus)	柑桔黄龙病毒
AMV (Alfalfa mosaic virus)	苜蓿花叶病毒
TRV (Tobacco rattle virus)	烟草脆裂病毒 (DRE 株系)
TMV (Tobacco mosaic virus)	烟草普通花叶病毒
PVX (Potato virus X)	马铃薯X病毒
LNYV (Lettuce necrotic yellow virus)	莴苣坏死黄化病毒
BSMV (Barley stripe mosaic virus)	大麦条纹花叶病毒

球状病毒一般都有3根等长且彼此互成直角的轴，故称等轴病毒或多面体病毒。常见的球状病毒都是正20面体或近于正20面体。

单链核糖核酸 (RNA) 球状病毒如黄瓜花叶病毒 (Cucumber

mosaic virus) (胶版图 I—1) 直径 30 nm; 芜菁黄色花叶病毒 (Turnip yellow mosaic virus) 直径 28 nm; 卫星病毒直径 18 nm 等。

双链RNA球状病毒如水稻普通矮缩病毒 (Rice dwarf virus) 直径 70 nm 等 (胶版图 I—2)。

还有复杂的有被膜的球状病毒如番茄斑萎病毒 (Tomato spotted wilt virus) 直径 55—120 nm。

晶体结构的正 20 面体病毒有 20 个面, 12 个角, 30 个棱, 且每个面都是一个面积相等的等边三角形, 属 5、3、2 对称型 (图 2)。它有 6 个 5 次对称轴, 10 个 3 次对称轴和 15 个 2 次对称轴。所以各个三角形都具有相同的条件, 对其紧邻呈相同的相互作用。

在正 20 面体每个等边三角形的面上, 有 3 个相同的蛋白质

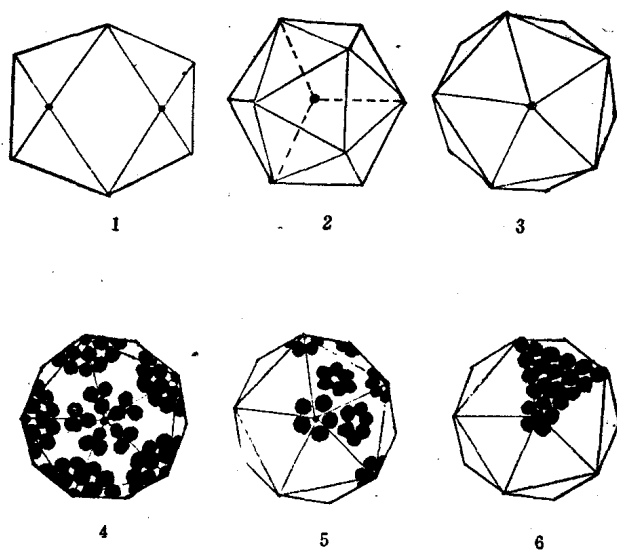


图 2 球状病毒 (20 面体) 示意图

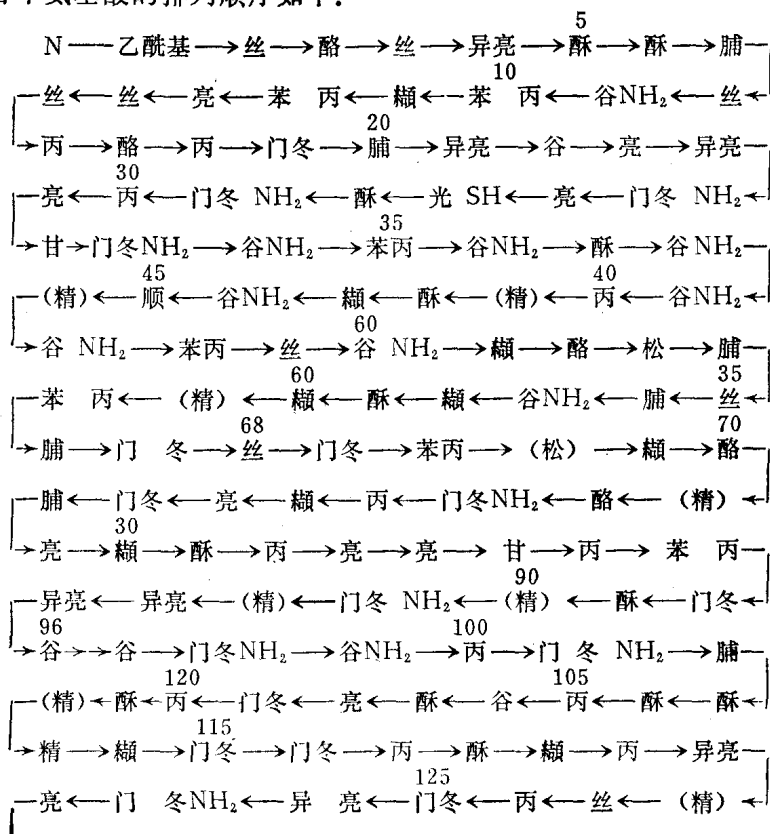
1—3 示二、三、五型对称轴 4—6 示三、五、六位体化学组成

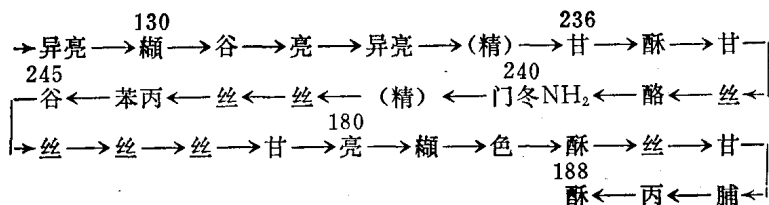
分子或亚基（即共 60 个亚基）。但在大多数等轴病毒中，由蛋白质分子组成的衣壳常多于 60。因此，它的组成理论根据不是正 20 面体，而是近似正 20 面体（图 2）。

2. 杆状病毒

以烟草普通花叶病毒为例（胶版图 I—3、4）它的衣壳是由许多相同的蛋白质亚基（单位）组成。病毒粒体长 300 nm，直径 15—18 nm，呈螺旋状，是一种典型的杆状病毒，或者叫螺旋对称病毒。螺距为 2.3 nm，每 3 转称一个螺旋周期，共 49 个亚基，所以每转有 $16\frac{1}{3}$ 个亚基组成。每个亚基包括 158 个氨基酸，

各个氨基酸的排列顺序如下：





TMV 构造模式见图 3、4。

杆状病毒的构造，不论是硬杆、软杆、长杆、短杆基本上与 TMV 构造相同。

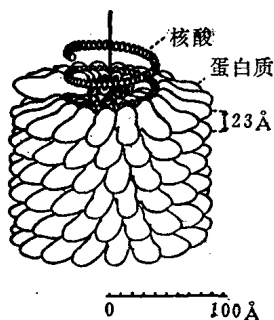


图 3 杆状病毒结构示意图
(系 TMV 蛋白质衣壳的核酸链)
(根据 Klug 及 Caspar 1960)

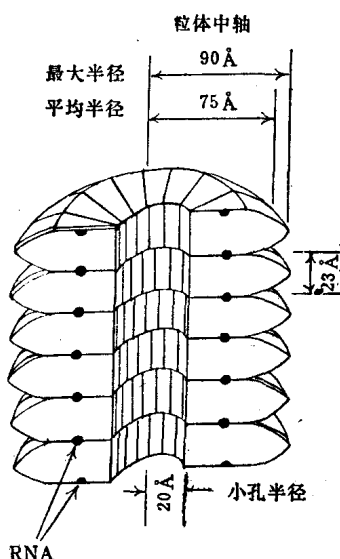


图 4 杆状病毒剖面图
(示 TMV 蛋白质亚基的螺旋状排列)

3. 线条状病毒 (胶版图 II—5)

此类病毒呈细长条状，有的往往弯曲，如马铃薯 X 病毒 (Potato virus X) (胶版图 II—5)、玉米矮花叶病毒 (Maize dwarf mosaic virus)、大麦黄色花叶病毒 (Barley yellow mosaic virus) 等。

4. 弹状（或杆菌状）病毒

是一类正在研究之中、结构复杂的病毒。粒体的大小常因取材、组织、制备方法不同，而在电镜下的观察也有所不同，如小型无被膜的苜蓿花叶病毒(Alfalfa mosaic virus) 粒体有 26×18 nm, 42×18 nm, 53×18 nm, 59×18 nm, 18×18 nm等五种类型（胶版图Ⅱ—6）。大型有被膜的水稻暂黄病毒(Rice transitory yellowing virus) 直径96 nm, 长度120—140 nm, 外包两层膜。马铃薯黄矮病毒(Potato yellow dwarf virus) 呈杆菌状, 两端钝圆形, 粒体 380×75 nm, 病毒外套有3层膜。每层厚度约3.5 nm, 各层间空间距离为5nm。此外, 玉米花叶病毒[Maize (corn) mosaic virus]、莴苣坏死性黄化病毒(Lettuce necrotic yellows virus, LNYV)、苦苣菜黄脉病毒(Sowthistle yellow vein virus, SYVV) 等约40多种均属这类病毒。

5. 分枝丝状病毒

如水稻条纹叶枯病毒(Rice stripe virus) 为 8×400 nm(胶版图Ⅰ—13)。

近几年来, 连续发现了一类新型的病毒, 即双生病毒, 病毒粒体为直径约20 nm的20面体, 两两连接。例如:

甜菜卷顶病毒(Beet curly top virus)、豆金黄花叶病毒(Bean golden yellow mosaic virus)、木薯潜卷叶病毒(Cassava latent leaf curling virus) 等。

(二) 植物病毒的化学组成

病毒有两种基本物质: 第一是具有感染性的核酸, 即核糖核酸(RNA) 或脱氧核糖核酸(DNA); 第二是包在核酸外面的由很多相同蛋白质亚基组成的蛋白衣壳。植物病毒的核酸绝大部分是RNA, 少数为DNA。有些大型病毒的蛋白质衣壳外面, 还围

以脂肪体或脂肪蛋白的脂膜 (envelope) (图 5)。

组成病毒的核
酸和蛋白质的比
例,因病毒不同,其
差异甚大。一般核
酸占 5—40%,蛋
白质占 60—95%,
杆状或线状病毒的
蛋白质含量多,核
酸含量少。如烟
草普通花叶病毒
(TMV)中核酸只
占 5%,而蛋白质
占 95%。球状病毒
核酸含量高,如烟
草环斑病毒 (To-

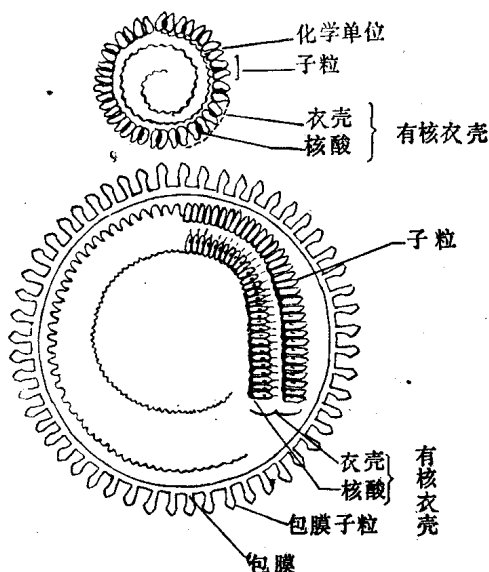


图 5 病毒结构示意图

(上) 无脂膜的小型病毒 (下) 有脂膜的大型病毒

bacco ring spot virus) 核酸占 40%,蛋白质占 60%。不同病毒
的核酸分子量也不相同,病毒核酸分子量在一百万到一亿六千万
之间。

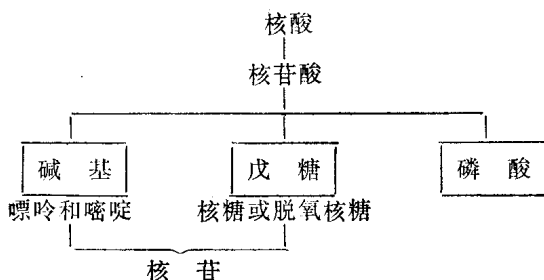
1. 核酸

核酸由核苷酸组成。核苷酸中含有碱基、戊糖和磷酸。核苷
酸通过磷酸二脂键相连构成核酸。

RNA中碱基为腺嘌呤、鸟嘌呤、胞嘧啶和尿嘧啶。DNA中
的碱基为腺嘌呤、鸟嘌呤和尿嘧啶。RNA中含有核糖,DNA中
含有脱氧核糖。它们之间的关系见下页图示。

2. 蛋白质

蛋白质是高分子量的复杂物质,除碳、氢、氧外,还含有氮。
蛋白质完全被水解时产生氨基酸,所以蛋白质是许多 L-氨基酸



所构成的，氨基酸由肽键彼此连接起来。构成蛋白质的氨基酸大约有 20 种，即丙氨酸、精氨酸、门冬氨酸、门冬 NH_2 氨酸、胱氨酸、谷氨酸、谷 NH_2 氨酸、甘氨酸、组氨酸、异亮氨酸、亮氨酸、赖氨酸、蛋氨酸、苯丙氨酸、脯氨酸、丝氨酸、酪氨酸、色氨酸、酪氨酸、缬氨酸。植物病毒的蛋白质部分，是具有一定氨基酸顺序的多肽链所构成的，如烟草普通花叶病毒等。

植物病毒的蛋白质包裹在核酸外层，保护病毒不被寄主体内的核酸酶所消化，它对决定病毒的寄主范围也起一定作用。蛋白质含有抗原性决定簇，可刺激动物在体内产生相应的抗体。

病毒不含有能量代谢等酶系，因而不能进行独立的新陈代谢。它只能在活的寄主细胞中生活，利用活的寄主细胞中各种新陈代谢产物合成它们自身的核酸和蛋白质。

过去认为病毒不能在人工培养基中培养，现在已能在试管中合成噬菌体的核酸和蛋白质。近年来发现植物病毒可侵染去壁的原生质体，这对研究植物病毒是很有用处的。

二、植物病毒的侵入、运转及传播

(一) 植物病毒的侵入

植物病毒只能通过微伤进入细胞，建立一个侵染点，需要许多病毒粒体，一般为 1×10^5 个。各种病毒的侵染限点是不同的，

同时侵染限点也受侵入时外界环境条件和寄主内部因素的影响。

在自然界植物病毒侵入寄主主要通过三种途径：1. 农业操作时的机械微伤；2. 介体（昆虫、螨、线虫、真菌等）造成的微伤；3. 通过嫁接、菟丝子“桥接”传播。

（二）病毒在植物体内的运转

病毒在植物体内的运转方式有两种：一种是从细胞到细胞的短距离运转；另一种是通过韧皮部输导系统长距离运转。

1. 短距离运转

病毒在寄主体内短距离运转（指在细胞间，特别在薄壁组织中），可能是用核酸或用整个粒体经过细胞间的胞间连丝向邻近细胞中扩散，速度很慢。如烟草普通花叶病毒三个毒株，在心叶烟上每小时约运行6—13微米。细胞间运转速度随着病毒种类、细胞类型及在叶内的运转方向的不同而异。

2. 长距离运转

通过寄主植物韧皮部的输导组织，随着营养输送进行转移，速度很快。一旦病毒进入韧皮部，运转速度突然增快。例如烟草普通花叶病毒在烟草中每小时可运转1.5厘米到8厘米；水稻条纹叶枯病毒每小时运转25厘米。运转速率更高的甜菜曲顶病毒（Beet curly top virus）每分钟可运转152.4厘米。

（三）病毒在植物体内的分布

病毒在寄主植物体内的分布是很不均匀的。因为病毒不论在寄主植物什么细胞组织和器官中增殖运转，随时都要受到植物的抵抗。所以，病毒尽管这样或那样地运行着，但其最后分布与致病常不一致，因某些条件常使病毒被隔离甚至消灭。