维普资讯 http://www.cqvip.com

7-15

第8卷第1期 中国病毒学 Vol.8 No.1
1993年3月 VIROLOGICA SINICA Mar. 1993

抗病毒植物基因工程的研究进展

刘玉乐 田 波

（中国科学院微生物所，北京100080）

S332.2
Q943.2

Advance in Plant Genetic Engineering of Virus Resistance

Liu Yule Tien Po

(*Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing* 100080)

关键词： 抗病毒 植物基因工程 外源基因表达

Key words: Virus Resistance Plant Genetic Engineering Expression of Foreign Gene

病毒病害一直是农业生产的一大问题，分子生物学的发展，特别是基因工程的发展为防治病毒病带来了希望。就目前的情况看，有效的抗基因主要来源于病毒本身，如外壳蛋白基因、卫星RNA基因、正义RNA序列，反义RNA序列等。除此之外，一些其它的策略也被采用，如核酶（Ribozyme）策略等。人们也正在试图从植物本身分离抗病毒基因和探索新的抗病毒策略，这一切都有助于推动抗病毒植物基因工程的发展。本文仅讨论三个方面的问题：（1）目前普遍采用的几种策略的现状及评价；（2）目前如何提高工程植株的抗性；（3）新的抗病毒策略的探讨。

一、目前普遍采用的几种策略的现状及评价

1. 外壳蛋白基因策略

1986年R. Beachy等将烟草花叶病毒（TMV）外壳蛋白基因导入烟草，培育出了能稳定遗传的抗病毒工程烟草植株，开创了抗病毒植物基因工程的先河[1]。自此以后，人们一直对植物病毒外壳蛋白（CP）的基因工程予以特别的青睐。除TMV外，黄瓜花叶病毒（CMV）、马铃薯X病毒（PVX）、苜蓿花叶病毒（AlMV）、烟草条纹病毒(TSV)、马铃薯Y病毒（PVY）、烟草环斑病毒（TRV）、葡萄铬黄花叶病毒（GCMV）、甜菜坏死黄脉病毒（BNYVV）、番茄斑萎病毒（TSWV）及水稻条纹病毒（RSV）等的外壳蛋白基因也被导入植物[2-11]，转化植物都表现出不同程度的抗病效果。这些病毒除

本文于1992年7月3日收到，8月19日修回。

维普资讯 http://www.cqvip.com

TSMV、RSV 是负链 RNA 病毒外均为正链 RNA，且外壳仅由一种类型壳粒蛋白组成的病毒。

值得一提的是，马铃薯Y组病毒的外壳蛋白介导的抗性有三个重要的特征：（1）对机械接种、蚜虫接种均可产生较高的抗性，（2）一种病毒的外壳蛋白的转化植物对同组其它病毒也可产生高度的抗性[13-14]，外壳蛋白在植物中的表达量与对病毒的抗性不是正相关。

外壳蛋白基因策略的抗病机制不十分清楚，研究表明对于一些病毒其机制在于外壳蛋白积累的结果，对于另一些病毒其抗病机制在于外壳蛋白基因转录物的积累[15]。以 TMV 等为材料的研究表明外壳蛋白基因介导的抗性是由于外壳蛋白的积累干扰了病毒的脱壳，同时抑制了病毒在体内的转运和复制[16-21]。

TMV 外壳蛋白基因的转化植物对 TMV 病毒粒子有抗性，对 TMV RNA 没有明显抗性，而 PVX 外壳蛋白基因的转化植物对 PVX 病毒粒子及 PVX RNA 都有抗性；此外，仅烟草蚀纹病毒（TEV）外壳蛋白基因 RNA 就可使植物具有抗性。这些表明对于不同的病毒外壳蛋白基因介导的抗性有不同的机制。

外壳蛋白基因策略是目前一种较成熟的抗病毒策略，然而大多只表现延迟的抗病能力，对多年生植物效果可能更差，其抗性有待于提高。

一般认为外壳蛋白策略有较小的危险性，但推广前仍应该对其危险性进行测定评估。

2. 病毒卫星 RNA 基因策略

卫星 RNA 是一类依赖于辅助病毒才能复制的低分子量 RNA，它能改变辅助病毒引起的症状，在许多事例中，可抑制病毒的复制并减轻病毒引起症状。1983年田波等基于卫星 RNA 是病毒的分子寄生物的观点，用卫星 RNA 作为生防制剂控制 CMV 引起的病害获得成功[21-22]。在这项工作的启发下，人们开始了用卫星 RNA 基因的策略获得抗病毒基因工程植株的研究，目前已将 CMV 卫星 RNA 的双体基因和单体基因及烟草环斑病毒（TobRV）卫星 RNA 基因导入植物，转基因植物均表现出对相应病毒较高的抗性[23-24]。

卫星 RNA 基因的抗病机制还不清楚，一般认为其作用机制是卫星 RNA 与病毒基因组 RNA 争夺病毒 RNA 复制酶，从而干扰了病毒基因组RNA的复制[25-26]。然而CMV 卫星 RNA 可减弱番茄不孕病毒（TAV）引起的症状但并不抑制 TAV 的复制[28]，烟草环斑病毒的卫星 RNA（SToRV）不能依赖樱桃卷叶病毒（CLRV）复制但仍减弱 CLRV 引起的症状并抑制 CLRV 的复制[24]，此外所有加重症状的卫星 RNA 都依赖于辅助病毒复制，这些事实暗示了卫星 RNA 策略的抗病机制涉及卫星 RNA 与植物组分间的直接或间接的相互作用。

最近 Kapper 等发现带有卫星 RNA 的 CMV-S 株系侵染的番茄可以缓解 PSTV 侵染的症状[31]。这为通过植物基因工程的手段培育抗类病毒植物带来了希望。

用卫星 RNA 策略抗病毒有明显的优点，即只需低水平的表达卫星 RNA 且不需产生新的异源蛋白就可使植物产生较高水平的抗性，避免了高表达和异源蛋白的产生对植物的不利影响，且对多年生植物可能有较好的抗性。

但也应注意到，卫星 RNA 策略存在着一定的局限性，其中最大的问题是存在一定

维普资讯 http://www.cqvip.com

的潜在的危险性。目前，卫星RNA控制症状产生的研究已取得较大进展[31-32]，将来人们可能设计出失去包壳入辅助病毒能力、失去在植物内转运能力或失去突变成致病能力的良性卫星RNA。可以相信，解决卫星RNA存在的潜在危险性是完全可能的。

3. 病毒反义RNA的策略

反义RNA对原核及真核细胞基因的表达有抑制作用，人们也尝试用反义RNA策略获得抗病毒的转基因植物，然而用反义RNA策略对付TMV、CMV、PVX等RNA植物病毒的效果并不理想，工程植株仅表现很弱的抗病性[14,33]，这可能是因为反义RNA只能在细胞质中起作用的结果。通过提高反义RNA在植物中的表达，如提高启动子的强度，或利用复制型载体，则可能使植物产生对RNA病毒较高的抗病性。然而转TEV外壳蛋白基因反义RNA的植物表现出对TEV高度的抗性[15]，其机理被认为是抑制了TEV RNA的复制，其进一步的机理还有待研究。应用反义RNA策略针对DNA植物病毒，使反义RNA在细胞质和细胞核中都起作用，则有可能得到满意的抗病效果。A. G. Day成功地用反义RNA策略获得了高抗双生病毒番茄黄花叶病毒（TGMV）的转基因烟草[34]，暗示了反义RNA策略对付DNA植物病毒是一个好策略，既安全又可使植物产生较高的抗性。

4. 正义RNA（Sense RNA）策略

解释交叉保护的一种机制是病毒正义RNA能够干扰病毒的复制[35]。Golemboski等将TMV U1株系的54KD蛋白正义序列导入烟草，获得的转基因植株对TMV及其RNA有极高的抗性，对TMV YS1株也有较高的抗性，但对亲缘关系稍远的TMV U2株系没有同等的抗性[36]。最近Kawchuk等报道了马铃薯卷叶病毒和烟草蚀刻病毒（TEV）的正义RNA可赋予植物高度的抗病性[15,37-38]，其抗病毒机制还不清楚，但有人认为是在RNA水平上起作用，以某种方式干扰病毒的复制或装配。

一些病毒正义RNA序列的转基因植株对一些RNA病毒表现出很高的抗性，展示了正义RNA策略诱人的前景，其机制需进一步研究。

5. 核酶（Ribozyme）

核酶是一类具有催化功能的RNA分子[39]。目前，已知有几类核酶可顺序专一地切割RNA[41]，这为培育抗病毒植物提供了另一种希望。然而到目前为止，尚未见转核酶基因的植物抗病毒的报道，这可能与核酶在细胞中的定位及反义RNA（包括核酶）和靶RNA的杂交体在动力学上有一种瓦解倾向有关。要使植物达到令人满意的抗病效果，首先要解决这两个问题，这要求切割胞质病毒（大多植物病毒）RNA的核酶在细胞质中浓度高，病毒复制型载体，tRNA表达盒等有可能为此提供答案。利用核酶策略有一定的危险性，即有可能非特异地切割植物细胞RNA。利用核酶策略也有一定优点：由于一些病毒基因是相当保守的，利用核酶策略有可能产生较为广谱的抗性，核酶策略是一个值得研究的策略。

二、复合基因策略是目前提高工程植株抗性的有效途径

目前一般采用的单基因抗病毒策略都有一定程度的局限性，或者抗性不高，或者范围较小，或者两者兼有，我们认为复合基因策略是目前解决这些问题的一个有效途径。

维普资讯 http://www.cqvip.com

1. 多种抗性基因控制一种病毒

我们将 CMV 卫星 RNA 基因和 CMV 外壳蛋白基因的表达盒串在一起导入烟草，获得转基因植株，结果表明工程植株能稳定表达外壳蛋白和卫星 RNA，攻毒测定表明转双基因的工程植株的 CMV 浓度、病情指数都比正常对照烟草和单独转卫星 RNA 基因的工程植株低很多。即使使用浓度很高的病毒接种，90天后仍有50%左右的植株不表现任何症状，这也大大高于单独转 CP 基因的工程植株[41]。

从我们的结果看，将两种或多种不同抗病机制的策略结合起来，可提高植物抗性是肯定的。

2. 多种抗性基因控制病毒的混合侵染

大多植物受到多种病毒的侵染，同时多种病毒的混合侵染引起的病症比一种病毒侵染引起的症状要严重得多。马铃薯 X 病毒（PVX）及马铃薯 Y 病毒（PVY）是危害马铃薯生产的主要病毒病源，Lawson 将 PVX 和 PVY 的外壳蛋白基因的表达盒串连在一起同时导入马铃薯中，研究表明工程植株能稳定转录和翻译 PVY和PVX 外壳蛋白基因，且表现对 PVY，PVX 的高度抗性，攻毒36天后，对照植物80%表现症状，但其中一个转化系植株几乎不表现任何病症，且表现出对 PVY 通过机械接种和蚜虫传染的抗性[4]。上述结果表明多种抗性基因策略是控制多种病毒的混合侵染的一种有效手段。

3. 抗病毒介体基因与抗病毒基因结合的策略

在自然界中，病毒主要是通过昆虫、真菌和线虫传播，阻断传播途径，必将大大地有利于控制病毒病的发生。将抗虫基因和抗病毒基因同时导入植物则可能得到既抗虫又抗病的植物，尤其是大田种植抗病毒介体的植物会增强抗病的效果。

三、新的抗病毒策略的探讨

目前普遍采用的抗病毒策略有一定的效果，但总的来说仍不十分理想，一是抗性不高，二是有些存在一些安全性方面的问题，三是抗性范围较小。目前人们正在探索新的抗病毒策略。

1. 针对病毒本身的抗病策略

抗病毒就是阻断病毒的增殖和传播，即阻断病毒的脱壳、病毒基因的表达、病毒基因产物的加工、病毒的复制、病毒的装配和病毒的转运等步骤。

（1）针对病毒的传播和脱衣壳步骤　如前所述，在自然界中，病毒主要是通过昆虫、真菌、线虫传播的。病毒与其介体是极其专一的，涉及病毒的基因产物，例如，PVY 的 56KD 对蚜虫传播是必须的[42]，封闭这些基因的表达或将这些产物失活，将使 PVY 丧失蚜虫传播的能力。这样的转基因植物虽然对病毒没有抗性，但可控制病毒的传播，在大面积的种植中，这种转基因植物可能是无病的，如和抗病基因结合起来，可能效果更好，

病毒脱衣壳的机制仍不清楚，对病毒脱壳机制的深入了解，则有可能设计出相应的抗病毒策略。

（2）针对病毒的基因表达　病毒基因组是通过植物的核糖体进行翻译的，在众多的 RNA 和 DNA 病毒中，可能同时存在几种翻译和表达策略。对于正链 RNA 病毒，

维普资讯 http://www.cqvip.com

至少存在下列几种翻译策略：①基因组分段[43]；②形成亚基因组[44]；③翻译通读[45]；④核糖体移码[46]；⑤多聚体蛋白的加工[47]。对这些翻译策略机制的研究和了解就可能设计出相应的策略阻断病毒的基因表达，达到抗病毒的目的。

（3）针对病毒基因产物的加工及病毒的复制　有些病毒的基因组 RNA 先翻译成一个多聚蛋白，然后用自己编码的蛋白酶加工成各个蛋白，封闭此蛋白酶的表达组就阻断了这个翻译后的加工过程。还有一些病毒需要在基因组的 5′ 端加 Vpg[47]或在 3′端加上 tRNA 等[48]，才能使基因组有效地表达或复制，了解这些加工机理，就可能特异地阻断这些过程，从而阻断病毒基因组的表达或复制。

病毒的复制是极其复杂的过程，例如正链 RNA病毒，需经过正链RNA 到负链RNA 再到正链 RNA的阶段，对于参与这些过程中关键 RNA 序列和蛋白因子的深入了解可以设计出相应的抑制病毒的策略，达到抗病毒的目的。

（4）针对病毒转运和释放

病毒对植物的系统侵染以两种方式进行，一是细胞的短距离转运，二是通过维管束的长距离转运。已经知道在细胞间的短距离转运，由病毒编码的运动蛋白（Movement protein）参与，同时也有寄主编码的蛋白参与，这些已被很好地综述[49-51]，对病毒在植物中的长距离转运知道得很少，一旦知道这些机制，就有可能设计相应的策略阻断病毒产物表达，限制病毒在植物体内的转运，达到抗病毒的目的。

2. 植物编码的抗性

在自然界中，植物编码的抗性是非常普遍的，很多植物抗多种病毒。除了病毒介体抗性之外，植物编码的抗性在三个水平上起作用，即对病毒复制的抑制、对病毒转运的抑制及超敏反应。

（1）对病毒复制的抑制

a. 对病毒加工过程的抑制　许多植物编码一些蛋白，抑制病毒的加工过程，从而抑制病毒的增殖，如豇豆 Arlington 株系对豇豆花叶病毒具有高度的抗性。研究表明，豇豆 Arlington 株系植物编码一种蛋白酶抑制剂，专一地抑制 CPMV 翻译的大蛋白的加工[52]。

b. 对病毒 RNA 复制的抑制　研究表明，一些植物通过抑制病毒 RNA 的复制，而对病毒有高度抗性。已知含 Tm-1 基因的番茄对 TMV 有抗性[53]，含 Ry 和 Rx 基因的马铃薯分别对 PVY 及 PVX 有极端抗性[53-54]，甚至用接种和酶联免疫分析的方法在植物中都检测不到病毒。这些基因的分离必将大大推动抗病毒基因工程的发展。

（2）对病毒转运的抑制

a. 通过对细胞的杀伤抑制病毒的转运　许多植物受到病毒侵染时，侵染部位的细胞通过一定的机制死亡，从而将病毒限制在单细胞或局部水平上，不能造成系统侵染。如已知商陆等植物编码一类核糖体灭活蛋白，人们推测这种蛋白抑制被病毒侵染细胞中的核糖体，进而杀死这些细胞，阻止了病毒在植物中的转运，从而使植物具有抗病性[55]。单基因控制的过敏反应抗性也属这一类[56-58]。

b. 不杀伤宿主细胞而抑制病毒转运　有些植物编码参与病毒转运的蛋白抑制剂，或在正常情况下参与病毒转运的宿主蛋白因子突变，从而宿主蛋白因子与病毒运动

维普资讯 http://www.cqvip.com

蛋白之间的相互关系改变，抑制了病毒的转运，表现为抗病，例如含有 Tm-2 或 $Tm-2^2$ 基因的番茄对 TMV 有抗性，研究表明，抗性是由于阻断了 TMV 短距离运输[59]，对这些抑制剂蛋白或突变的宿主蛋白因子的了解，有可能培育出抗病植物。

（3）超敏反应（Hypersensitive reaction）

植物受到病毒等侵染时，可以诱发植物产生超敏反应，将病原物限制在被侵染的部位，且经常伴随坏死，并对相关与非相关病毒、细菌、真菌及昆虫均产生抗性。

超敏反应中伴随着大量的酶类和代谢物的产生[60]，其中一定有一些涉及抗病毒效应。一般认为，细胞多聚物，如富羟脯氨酸的糖蛋白、木质素、木栓质或多聚糖合成的增加可能使植物产生对病毒的抗性[61]。

其它一些诱导蛋白如 PR-1、PR-S、GRP 等功能尚不清楚，被认为与抗病毒活性有关，然而 PR-1a、PR-S 或 GRP的转基因植物对 TMV 和ALMV没有任何抗性[62-64]，这表明单独的 PR-1a、PR-1b、GRP 对病毒无效。

另两类与超敏反应有关的蛋白组是抗病毒因子（AVF）及病毒复制抑制剂（IVP）[65-66]。

超敏反应诱发的抗性是对多种病原物的抗性，对超敏反应的深入研究有可能发展出安全、高效、广谱的抗病毒、抗细菌、抗真菌策略，目前我们正在进行此类工作。

植物抗病毒基因可以将病毒复制降低到极低的水平而不影响正常的植株发育过程，这对植物病毒的控制极有价值。

3.其它抗病毒策略

（1）抗体基因策略　目前已在转基因烟草中同时表达了一些抗体的重链和轻链基因，表达产物能组装成有活性的抗体[67-69]，这种技术在植物生物学方面具有重要的意义。田波曾提出将植物病毒的抗体基因转入植物内，使其在体内表达抗体以阻断病毒的功能，达到使植物抗病毒的目的。当然这一设想也适用于抗支原体、细菌和真菌等引起的病害[70]。

（2）核酸酶作为控制病毒病的策略　利用核糖核酸酶基因在花药绒毯层细胞的特异表达而降解该处细胞的 RNA 已获得了雄性不育的转基因植物[71]，我们认为利用核酸酶基因在被病毒侵染的细胞中的特异表达从而特异地降解病毒核酸及被病毒侵染的细胞的核酸也能够获得抗病毒植物。

最近，Natsoulis 等提出了另一种抗病毒设想[72]，这种设想也可能适用于抗植物病毒，这一策略的核心是将病毒的外壳蛋白与核酸酶连接在一起构成融合蛋白，它具有病毒外壳蛋白的包壳功能又具有核酸酶活性。当形成病毒粒时，这种融合蛋白有可能渗入这种病毒粒子的衣壳中，并在特定的条件下特异地降解病毒的核酸，达到抗病毒的目的。这种设想的潜在问题是核酸酶有可能对植物产生毒性，选择特别的核酸酶，如Ca^{2+}激活的核酸 SN（Staphylococcal nuclease）有可能解决这个问题。

（3）表达卫星病毒及缺陷病毒 RNA（DI RNA）的策略　卫星病毒（Satellite virus）及缺陷病毒RNA（Defective interfering RNA）依赖于辅助病毒才能增殖[73]，卫星病毒及缺陷病毒 RNA 可能抑制辅助病毒的复制，改善或减轻辅助病毒引起的症状，其转基因植物可能是抗病的。

维普资讯 http://www.cqvip.com

（4）表达弱毒病毒全长 RNA 的策略　Yamaya 等分别将 TMV 强致病株 L 及弱毒株 $L_{11}A$ 的全长RNA的cDNA导入番茄得到了转基因植株。从两种转基因植物中均可提取到有侵染性的病毒粒子。转基因 L 植株呈现典型的花叶症状，而转基因 $L_{a1}A$ 植物不表现或仅表现很轻的花叶症状，且表现出对 TMV 致病株 L 及其 RNA 较高的抗性[74-76]。表达其他病毒弱毒全长 RNA 的转基因植物也可能有较高的抗性。

这种策略产生的转基因植物虽然抗性较高，然而具有经典交叉保护的一切缺点，作为一种抗病毒策略值得商讨。

（5）表达干扰素基因的策略　人的干扰素在人体上具有广谱的抗病毒作用，已经发现外源的 α-或 β-干扰素具有保护植物免受某些病毒侵染的作用[71]，将干扰素基因导入植物也可能培育出抗病毒的植物品系。我国已经将人的 α-干扰素基因导入烟草和水稻中并得到了表达，表达的干扰素具有抗病毒活性[77-78]，但转基因植物是否具有抗植物病毒的能力尚需进一步的工作。

抗病毒植物基因工程是一个很大的研究领域，目前普遍采用的抗病毒基因及其策略仅仅是这一领域的一个开端，随着病毒分子生物学、植物分子生物学、植物生理学及病毒与植物、病毒与传播介体、介体与植物间的相互关系的研究，一定会有更多的、安全有效的抗病毒基因及策略将被发现。

外壳蛋白基因、卫星 RNA基因及正义 RNA 序列在温室条件下作为抗病毒基因已被证实是有效的，反义 RNA 针对DNA 病毒和 PVY 病毒组的 TEV 也被证实是有效的，针对大多数RNA 病毒的反义 RNA 及核酶可能需要扩增到较高的水平才能有效，tRNA 表达盒、病毒复制型表达载体有可能为这个问题提供答案。

目前表达抗病毒基因的启动子大多为 CaMV 35S 启动子，属于组成型表达，然而异源基因的组成型高表达可能对植物不利。用病毒诱导的启动子高表达抗病毒基因将是很有价值的。

植物基因工程的发展必将大大推进农牧业的发展。在不久的将来，抗病毒基因工程植物也将在大田中推广。然而我们应看到，目前普遍采用的抗病毒基因及其策略还有一定的局限性和一些潜在的危险性，在进行推广时，一定要慎重。一方面测定在大田条件下的抗病性，另一方面要注意它的潜在危险性。对于提高抗病性，前面已有详尽的论述。对于安全性，有四点需要强调，一是抗性寄主植物编码的序列与侵染的病毒核酸有发生重组的可能性；二是这种重组有产生更强的毒株的可能性；三是对于食用植物，抗性基因的产物不能对人畜有毒；四是应当注意一些生态问题。

植物的品质是各种性状的综合，抗病毒植物基因工程必须与常规育种系统结合起来，才能真正地应用于生产，达到高产、优质、抗病的目的。

参 考 文 献

〔1〕 Powell-Abel, P.A., et al., 1986, *Science*, 232 : 738.

〔2〕 Cuozzo, M., et al., 1988, *Bio/Technology*, 6 : 549.

〔3〕 Hemenway, C., et al., 1988, *EMBO J.*, 7 : 1273.

〔4〕 Lawson, C., et al., 1990, *Bio/Technology*, 8 : 127

维普资讯 http://www.cqvip.com

〔5〕 Hoekema, A., et al., 1989, *Bio/Technology*, 7 : 273.

〔6〕 Halk, E.L., et al., 1989, in *Molecular Biology of Plant-Pathogen Interactions*. 101 : 283. New York, Liss.

〔7〕 Lesch-Fries, L.S., et al., 1987, *EMBO J.*, 6 : 1845.

〔8〕 Tumer, N.E., et al., 1987, *EMBO J.*, 6 : 1181.

〔9〕 Van Dun, C.M.P., et al., 1988, *Virology*, 164 : 383.

〔10〕 Van Dun, C.M.P., et al., 1988, *Virology*, 167 : 649.

〔11〕 Jan J.L.G. et al., 1991, *Bio/Technology*, 9 : 1363.

〔12〕 朱亚峰等. 1992, 植物细胞工学, 4 : 24—33.

〔13〕 Stark, D.M., et al., 1989, *Bio/Technology*, 7 : 1257.

〔14〕 Ling, K., et al., 1991, *Bio/Technology*, 9 : 752.

〔15〕 Lindo, J.A., et al., 1992, *Mol. Plant-Microbe Interact.*, 5 : 144.

〔16〕 Loesch-Tries, L.S., et al., 1986, Molecular Strategies for Crop Protection 221-238. New York, Liss.

〔17〕 Nelson, R.S., et al., 1987, *Vtrology*, 158 : 126.

〔18〕 Osbourn, J. K., et al., 1989, *Virology*, 172 : 370.

〔19〕 Register, J.C.Ⅲ., et al., 1988, *Virology*, 166 : 524.

〔20〕 Wisniewski, L.A., et al., 1990, *Plant Cell*, 2 : 569.

〔21〕 Tien P., et al., 1987, *Seed Science And Technology*, 11 : 969.

〔22〕 Tien P., et al., 1987, *Ann. Appl. Biol.*, 111 : 143.

〔23〕 Baul comb-, D.C., et al, 1986, *Nature*, 321 : 446.

〔24〕 吴世宣等, 1989, 中国科学B辑, (9) : 948.

〔25〕 赵邀珍等, 1990, 中国科学B辑, (7) : 708.

〔26〕 Gerlach, W.L., et al., 1987, *Nature*, 328 : 802.

〔27〕 Pizzola, P., et al., 1982, *Virology*, 122 : 147.

〔28〕 Harrison, B.D., et al., 1987, *Nature*, 328 : 799.

〔29〕 Ponz, F., et al., 1987, *Virology*, 160 : 183.

〔30〕 Kapper, et al., 1992, *Plant Disease*, 2 : 518.

〔31〕 Devic, M., et al., 1989, *J. Gen. Virol*, 70 : 2765.

〔32〕 Kunath G., et al., 1989, *Mol. Plant-Microbe Interact*, 2 : 91.

〔33〕 Powell, P.A., et al., 1989, *Proc. Natl. Sci. USA*, 86 : 6949.

〔34〕 DAY, A.G., et al., 1991, *Proc. Natl. Sci. USA*, 88 : 6721.

〔35〕 Palukaitis, P., et al., 1984, In *Plant-Microbe Interactions* : Molecular and Genetic perspectives. eds. Konege, T., et al., New York, 420.

〔36〕 Golemboski, D., et al., 1990, *Proc Natl. Sci. USA*, 87 : 6331.

〔37〕 Kawchuk, L.M., et al., 1990, *Mol. Plant-Microbe Interact*, 3 : 301.

〔38〕 Kawchuk, L.M., et al., 1991, *Mol. Plant-Microbe Interact*, 4 : 247.

〔39〕 Kruger, K., et al., 1982, *Cell*, 31 : 147.

〔40〕 Edgington, S.M. 1992, *Bio/Technology*, 10 : 25.

〔41〕 Yie Y., et al.1992, *Molecular Plant-Microbe Interact.* (5) : 460.

〔42〕 Berger, P.H., et al., 1986, *Virology*, 153 : 256.

〔43〕 Ahlquist, P., et al., 1984, *J. Mol. Biol.*, 172 : 369.

〔44〕 Watanabe, Y., et al, 1984, *FEBS Lett.*, 173 : 247.

〔45〕 Beier, H., et al., 1984, *EMBO J.*, 3 : 351.

〔46〕 Xiong, Z., et al., 1989, *Virology*, 171 : 543.

〔47〕 Carrington, J. C., et al., 1988, Proc. Natl. Sci. USA, 85 : 3391.

〔48〕 Miller, W.A., et al., 1988, J.Mol. Biol, 187 : 537.

〔49〕 Deom. C.M., et al., 1992, Cell, 69 : 221.

〔50〕 Joseph, G.A., et al., 1990, Advances in Virus Res., 38 : 201.

〔51〕 Ponz, F., et al., 1988, Molecular Plant-Microbe Interactions, (1) : 25.

〔52〕 Meshi, T., et al, 1988, EMBO J., 7 : 1575.

〔53〕 Ross, H., 1960. Eur. Potato J., 3 : 296.

〔54〕 王春林. 1990, 马铃薯杂志, (1) : 57。

〔55〕 Q. Lin, et al., 1991, Plant Molecular Biology, 17 : 609.

〔56〕 Holmes, F.O., 1983, Phytopathology, 28 : 553.

〔57〕 Weber, P.V., 1951, Phytopathology, 41 : 593.

〔58〕 Holmes, F.O., 1952, Phytopathology, 42 : 113.

〔59〕 Matthews, R. E. P., 1981, Plant Virology, pp218—225, 345—348, 430—432, New York, Academic, 2nd.

〔60〕 Bol, J.F., et al., 1990, Ann. Rev. Phytopathol., 28 : 113.

〔61〕 Moseerm O., et al., 1988, J.Gen. Virol., 69 : 1367.

〔62〕 Cutt, J.R., et al., 1989, Virology, 173 : 89.

〔63〕 Linthorst, H.J.M., et al., 1989, Plant Cell, (1) : 285.

〔64〕 Linthorst, H.J.M., et al., 1989, Recognition and Response in Plant-Virus Interaction, p361.

〔65〕 Sela, I.,et al., 1987, Plant Resistance to Viruses ciba Foundation Symposium 133., Willey, chichester, p109.

〔66〕 Gera, A., et al., 1989, Phytopathology, 124 : 366.

〔67〕 Hiatt, A.H., 1990, Nature, 344 : 469.

〔68〕 Koltunow, A.M., et al., 1990, Plant Cell, 2 : 1201.

〔69〕 Mariani, C., et al., 1990, Nature, 347 : 737.

〔70〕 田波, 1989, 病毒学杂志, (1) : 1。

〔71〕 Celestina Mariani et al. 1990, Nature, 247 : 737.

〔72〕 Natsoulis, G., et al., 1991, Nature. 352 : 632.

〔73〕 Francki, R.I.B, 1985, Ann. Rev. Microbiol., 39 : 151.

〔74〕 Yamaya, J., et al., 1988, Mol. Gen. Genet., 211 : 520.

〔75〕 Yamaya, J., et al., 1988, Mol. Gen. Genet., 215 : 173.

〔76〕 Sela, L., 1986, Methods in Enzymology, 119 : 729.

〔77〕 陈炬等, 1990. 中国科学 B 辑. 3 : 253。

〔78〕 朱祯等, 1992, 中国科学 B 辑, 2 : 149。