植物病理学和真菌学技术彙編

1

需要全本请访问 www.ertongbook.com

植物病理学和
眞菌学技术汇編

卷　一

俞大紱編

高等教育出版社

本书全面而系統地介紹了在試驗室和温室內研究植物病理学和眞菌学的各种技术，內容非常丰富，包括培养基、組織培养液和高等植物营养液的配制法，眞菌和細菌的分离和接种，孢子的产生和萌芽，病原体侵入寄主的观察，环境的控制，病株解剖，制片技术，染色剂的配制和染色方法，組織細胞和生物化学測定法，以及其他的研究技术。除此以外，本书还对研究植物綫虫、細菌和病毒的許許多多技术方法作了詳細而系統的介紹。这样一来，便使讀者很容易查到所需要的資料而免于浪費极多的时間去查閱各种文献。类似这种性質的专著目前在世界各国还沒有。因此，本书的出版，的确对植物病理学和眞菌学的研究有很大的帮助。

本书为高等农林院校、綜合大学、农林科学研究所、微生物研究所以及其他有关部門的工作者教学和研究时不可缺少的工具。

植物病理学和眞菌学技术汇編

卷一

俞大綏 編

高等教育出版社出版 北京宣武門內承恩寺7号

（北京市书刊出版业营业許可证出字第254号）

京华印书局印装　新华书店发行

統一书号 13010·640 开本 787×1092 1/16 印張 31 13/16 插頁 4

字数 881,000 印数 0001—2,000 定价（6）¥3.20

1959年9月第1版　1959年9月北京第1次印刷（精装本）

前言

世界各国大半有"植物病理学技术"供教学和一般的研究工作用。在我国出版的有方中达所著的"植物病理学技术"一书，以及其他的刊物。这些出版物在植物病理学的教学和研究上起有很大的作用。这类的出版物是不可少的。鑒于我国的植物病理学和眞菌学正在迅速发展，而介紹基本研究技术的书刊很少，以致研究工作者不得不花費很多时間查閱文献；我們确实很需要有一种比一般技术刊物內容更全面和更丰富的专著，供教学补充和研究参考的資料。本书就是这类性質的一种专著。

汇編的內容虽相当全面，但无論如何还是不够詳尽的。首先，对于許多期刊还沒有作系統性的摘录；其次，有某些刊物原文未見。还有許多研究生物科学的基本技术，如同位素应用、光滲处理、紙上色层分析、螢光分析、酶的測定、生物化学測定等，均有专刊，在汇編內只介紹一般的应用技术，而在某些技术方法方面則列出一些主要的文献，以供参考。

本汇編所介紹的研究技术，大都以生物作为对象。这样的做法比較实用，但內容就难免沒有性質重复之处。因此，仅查看目录，是不易了解詳細的內容的。所采用的眞菌、細菌和其他生物的中文名称，均根据中国科学院所頒布的各学科的科学名称。倘无标准的中文名称的微生物，均直书拉丁学名。由于这些原因，在参考本书时，应先查閱所附的中西文索引。

据笔者所知，目前在国际間还沒有类似本书性質的植物病理学和眞菌学技术的专著。这样的书便于教学和研究工作者查閱資料。然而，植物病理学和眞菌学，特别是前者，牽涉的范圍极广，有关这两門学科

研究技术的資料极为丰富，散載在許多种期刊和书籍內。因此，本汇編所汇集的資料既难以十分完全，而且也难免沒有重大的和一般的遺漏及錯誤，希望讀者不吝指正和补充。

俞大紱

1959 年于北京

需要全本请访问 www.ertongbook.com

目　录

前言……vii
培养基〔1—511〕……1
分离法〔512—574〕……334
接种法〔575—650〕……368
誘引产生无性和有性孢子法〔651—681〕……399
孢子萌芽〔682—701〕……410
病菌侵入寄主观察〔702—706〕……416
环境〔707—714〕……418
氫离子濃度、指色剂和緩冲液〔715—719〕……428
誘起眞菌和細菌变异的技术〔720—724〕……445
捕捉孢子〔725〕……449
土壤微生物分离和检查〔726—734〕……451
分离病原体的表面灭菌法〔735—737〕……457
检查病原体〔738—750〕……460
噬菌体〔751—756〕……466
植物寄生綫虫〔757—797〕……470
植物細菌〔798—832〕……494
植物病毒〔833—891〕……538
固定液〔892—908〕……589
染色剂〔909—929〕……616
染色及切片法〔930—1163〕……644
脫水剂、脫水和封藏〔1164—1167〕……744
透明剂〔1168—1171〕……748
切片一般技术〔1172—1173〕……751

制片标本封藏法〔1174—1176〕……755
切片粘着保藏剂〔1177—1185〕……757
玻片整体封藏法〔1186—1187〕……761
石蜡切片校正〔1188〕……767
硬組織軟化法〔1189〕……769
切片粘着剂〔1190—1191〕……771
盖玻片封閉剂〔1192—1193〕……773
保存标本顏色液〔1194—1198〕……776
洗滌玻片〔1199〕……779
組織細胞化学測定和植株化学分析法〔1200—1203〕……780
有机碳化合物測驗〔1204—1223〕……787
矿质測驗〔1224〕……808
酶的測驗法〔1225—1241〕……817
維生素測定〔1242—1243〕……830
矿质的生物測定〔1244〕……833
維生素生物測定〔1245〕……833
类核质染色〔1246〕……835
碘值測定〔1247〕……835
植物色素〔1248—1251〕……836
化学測定法資料〔1252〕……838
杂类〔1253—1339〕……851

附录

表 1 国际原子量表……902
表 2 氫离子濃度……905
表 3 氫离子濃度顏色指示剂……907
表 4 普通用的媒蓓染色剂溶液……908
表 5 染色剂的溶解度……908
表 6 切片技术通用液剂的溶媒特性……913
表 7 切片技术通用溶媒的物理特性……915

表 8 脱水剂的物理特性 ……916
表 9 合成透明剂的物理特性 ……917
表10 香精油的物理特性 ……919
表11 封藏剂折射率 ……920
表12 温度转换表 ……921
表13 高压灭菌压力和温度的关系 ……927
表14 硫酸铵液的比重 ……928
表15 福马林液稀释 ……928
表16 乙醇稀释表 ……929
表17 水溶蔗糖粘度 ……931
表18 水溶蔗糖液，在$\frac{20°}{4°}$C 下的比重 ……932
表19 电离度 ……934
表20 氨基酸在水 100 克内的溶解度(克) ……935
表21 试验室一般用的化学剂 ……936
表22 水掺和其他物质的冷却剂(低温) ……940
表23 酸稀释表 ……941
表24 氨基酸成分 ……942
表25 一般用碳水化合物的物理特性 ……943
表26 干湿球相对湿度表 ……947
表27 水溶液的渗压 ……948
表28 冷却混合物 ……952
表29 配制百分率溶液表 ……953
表30 恒定湿度液 ……954
表31 酸和碱的浓度 ……954
表32 氧化-还原指色剂 ……955
表33 校准氢离子器的标准缓冲液 ……956
表34 混合指色剂 ……958
表35 酸碱指色剂 ……959
表36 通用指色剂 ……962
表37 度量衡制 ……963
参考文献 ……975

中文索引……1068
外文索引……1107

培养基

人工方法培养眞菌和細菌的物質体，称为培养基。根据組織成分，可分培养基为三类：(一)自然培养基，其中完全包含成分不确定的本質复杂的自然物質，大都是植物性的，如馬鈴薯、水果、蔬菜、麦芽、酵母膏等物質。許多植物部分，可以直接采用或制成浸漬液应用。有时采用各种植物的叶、莖或根制成自然培养基。有时采用动物性的物質，如肝、心脏、血清等制培养基。(二)半綜合培养基，其中包含一部分自然物質再加入一些成分已知的化学化合物，如馬鈴薯葡萄糖培养基。(三)綜合培养基，其中包含成分已知的化学化合物，如 Raulin 培养基。为使某些眞菌或細菌生长并产生特型的子实体，时常采用自然培养基。半綜合培养基应用最广，能供絕大多数的眞菌和細菌生长。研究眞菌的和細菌的生理，宜采用綜合培养基。一般情况下，在眞菌培养基内，需含有鉄、鋅和錳。先配制原液，每毫升原液内含有鉄$^{+++}$0.1 毫克，鋅$^{++}$0.1 毫克和錳$^{++}$0.05 毫克。称硝酸鉄 $\cdot 9H_2O$ 723.5 毫克，硫酸鋅 $\cdot 7H_2O$ 439.8 毫克；硫酸錳 $\cdot 4H_2O$ 203 毫克，溶在 600 毫升蒸餾水内，加入足量的純硫酸，成为清晰透明的溶液，再加蒸餾水到总容量为 1000 毫升。配制培养基时，每 10000 毫升培养基内加原液 20 毫升。培养基的炭源，一般是每公升加炭源物 10 到 25 克，視用途而定；氮原一般是每公升培养基内加入相当于无水天門冬酰胺 2 克所含的氮含量(0.425克氮)。綜合培养基应用再蒸的蒸餾水，和純的化学化合物，特别是进行微量元素的生理研究。許多化合物时常沾带有杂質，例如硝酸氨沾带有鈉、鎂和鈣；磷酸一氫鉀沾带有鋁、鉛、鈉、鈣、鎂；硫酸鎂沾著有鈉、銅；硫酸鋅沾著有鉄、砷、鎂、銅、硅、鈉、錳；硫酸銅沾著有鉄、錳、硅、鎂、

鋁、鈾；硫酸錳沾著有鈉、鉄、銅、鋁、釩、鉻、硅、鎂、鈣；鉬酸鈉沾著有鋼、錳、鉄、鋁、鎳、鎂、鈣、鉀、錳、硅、鋰；氯化鋯貼著有鈉、鎂、硼、釘、鉑、鉍、鈣、錳、鈀、硅。葡萄糖沾著有鋰、鈉、鋯、鈣、鋦、鉀、錳、鋁、鉄、銠、鎳、銀、鋼、鎂、錫、硼、硅。

培养基可分为液体和固体两种。一般情况是在液体培养液内加洋菜或明胶制成固体培养基。除此以外，也可用硅酸盐制成硅凝胶培养基。洋菜，明胶和硅凝胶的特性如下：

	洋菜	明胶	硅凝胶
来源	植物	动物	矿质
化学本质	多糖	蛋白朊	硅凝胶
反应	弱酸	酸	酸
熔化点—琼脂浓度	96°C	25°C	—
凝固点	40°C	10°C	—
胰朊酶消化	无影响	消化	—
凝缩水	有	无	无
琼脂浓度	1—1.5%	10—12%	5—6%

洋菜本身不是一种营养物质，因此最适宜供配制固体培养基用。洋菜提自各种海水生的紅藻，大都提自石花菜(*Gelidium corneum*)。用热水提出物几乎全是多糖类(大部分是半乳糖胶和少量戊糖胶)及少量蛋白朊和矿质的混合物。提净的洋菜是复杂的多糖硫酸脂。試驗室內所用洋菜的成分为：水16%；灰分4.4%；氧化鈣1.15%；氧化鎂0.77%和氮0.4%。明胶的成分为：水14—15%；灰分0.6%；氮18.3%。

需要全本请访问 www.ertongbook.com

洋菜在温度升高时逐渐成胶体溶液，約在 45°C 凝結成凝胶。当酸解时，形成 D-半乳糖及其相应构体和 L-半乳糖，以及硫酸。

洋菜含有鈣、鎂、鈉、鉀等矿質和生长素。如需用比較純淨的洋菜，可采用如下的洗淨洋菜法：將一磅洋菜擱在大三角瓶內，加入 5 公升蒸餾水和 500 毫升氯苯，靜置 24 小时。插入一根口徑 6 毫米的长玻管，容空气透入瓶內。瓶口包裹紗布，瓶倒置，容氯苯液濾去。用蒸餾水洗洋菜三次，95% 乙醇洗两次，乙醇浸过液，瀝去乙醇。把洗过洋菜擱在紗布間，鋪成薄层，干化。处理的整个过程約需 10 天。洗去洋菜內的鎂，可以把洋菜反复地浸在 10% 氯化鈉液內，随后用蒸餾水洗到沒有自由氯存在。

又法，把洋菜裝在袋內，悬在盛有蒸餾水的玻器內，2 或 3 天，每天換水两次，每次換水时挤出洋菜所含有的水。直接加入培养液內。

又法：把洋菜擱在滲濾器內，繼續用 5% 水溶氯苯、蒸餾水，1% 盐酸和蒸餾水浸漬后，用氫氧化鈣中和，洗去余鈣，用 95% 乙醇部分去水，在40°C 下干燥。

已經用过的洋菜，尙可供普通培养基重用。已培养过的洋菜培养基，随时收集，灭菌，干燥后磨碎，用普通水洗，移去能溶解的物質，濾去水，干燥，随时应用。在使用前，在每 1000 毫升 重用的洋菜液內，加活性炭約 10 克，攪拌，过濾，即能应用。

〔1〕 綿霉屬菌培养基

澱粉(可溶性)	3 克
胨	1 克
茗子(10 克)热水浸漬液	少量
洋菜	20 克
蒸餾水	1000 毫升

内含:

盐 类	克分子濃度	%(約)
磷酸二氢鉀	3×10^{-4}	0.00045
硫酸鎂	1.2×10^{-4}	0.0003
氯化鈣	10^{-5}	0.0001
氯化鉄	10^{-6}	0.000016
硫酸鋅($ZnSO_4\cdot7H_2O$)	10^{-7}	0.000003

綿霉屬菌(*Achlya*)对水內溶解的物質十分敏感，因此需用已知成分的培养基，已往所用的蒸餾水均用活性炭处理，以吸去可能影响菌生长的物質。这个培养基供給 *Achlya ambisexualis* 菌作杂交，研究有性生殖用。

〔2〕 綿霉菌培养液

黃玉米粉	5 克
酵母浸漬物	1 克
葡萄糖	2.5 或 5 克
蒸餾水	1000 毫升

如制配固体培养基，每 1000 毫升培养液內加洋菜 15 克、酵母浸漬物 0.5 克。黃玉米粉，如用浸漬水，可先浸在蒸餾水內煮半小时，再用离心器处理，仅用上层浸漬水。

容量 200 毫升，三角瓶內裝培养基 20 毫升。培养基供研究 *Achlya colorata* 菌有性世代用。

〔3〕 綿霉菌培养液

有下列各种:

(1) 蠶菌 grub;

(2) 0.05%血球朊+0.2%磷酸盐(生长最旺);

(3) 0.05 血球朊+0.2%硝酸钾;

(4) 0.05 血球朊+0.1%磷酸钾+0.1%硫酸钾;

(5) 0.05 %血球朊+0.1%磷酸钾+0.1%氯化钠;

(6) 0.05%血球朊+0.1%磷酸一氢钠+0.1%硫酸钾;

(7) 0.05%亮胺酸;

(8) 0.05 亮胺酸+0.1%磷酸钾;

(9) 0.05%亮胺酸+0.1%磷酸钙(抑制菌生长，但轉入新鮮水內后，經 12 小时后;菌能产生大量孢器)。

〔4〕 曲霉菌分解紆維質培养液

酵母浸漬物	0.01%
硫酸鎂	0.03%
硝酸氨	0.1%
1/100 克分子磷酸盐	0.1%

开始 pH 值为 6.3。玻管 (20×150 毫米)內攔 1×3 寸布条和加入培养液 9 毫升，灭菌后，冷却，接种 *Aspergillus* 菌孢子悬浮液 1 毫升，在 30°C 下培养兩星期。

〔5〕 异水霉 *Allomyces* 菌培养液

	培养基 A	培养基 B
葡萄糖	0.5%	0.3%
dl-谷胺酸	0.1%	0.1%
dl-蛋胺酸	0.01%	0.01%
磷酸二氫鉀	0.05%	0.2%
硫酸鎂	0.025%	0.01%

硫酸氨	0.1%	0.1%
氯化鈣		0.001%
維生素 B-盐酸	20 微克/100 毫升	15 微克/100 毫升
蒸餾水	1000 毫升	1000 毫升

培养基配成后，用氫氧化鉀調配到 pH 7，灭菌，供研究 *Allomyces* 菌生理用。

〔6〕 异水霉 *Allomyces* 菌培养液

最低培养基

葡萄糖	1 克
天門冬酰胺	0.1 克
硫酸鎂	0.05 克
1/150 克分子磷酸二氫鉀	50 毫升
1/150 克分子磷酸鈉	50 毫升
dl-蛋胺酸	2.5 毫克
維生素 B	1 微克

完全培养基

葡萄糖	1 克
天門冬酰胺	0.10 克
硫酸鎂	0.05 克
1/150 克分子磷酸二氫鉀	50毫升
1/150 克分子磷酸鈉	50毫升
酵母浸漬物	0.4 克

在高压灭菌前，pH 值为 6.8。如需用固体培养基，在上液內加 2% 洗淨的洋菜。供研究 *Allomyces arbusculus* 遺傳突变用。把游动孢子悬浮液接种在玻皿內的最低培养基上，在 25°C 下培养 48 小时，当菌落

发展后，在培养基上再倒上一层完全培养基(固体培养基)。

〔7〕 弹囊菌属(*Ascobolus*)培养基

酵母浸渍物-葡萄糖培养基

酵母浸渍物	4 克
葡萄糖	10 克
洋菜	25 克
蒸馏水	1000 毫升

供营养生长用。

酵母浸渍物-纤维素培养基

酵母浸渍物	0.25—3 克
纤维质(滤纸直径 9 厘米)	每皿皿内一张
洋菜	25 克

供 *Ascobolus* 菌生长子实体用。

〔8〕 阿舒氏囊霉属菌最低培养基

葡萄糖	5 %
天門冬酰胺或硫酸氨(純品)	0.2%
磷酸二氢钾	0.15%
硫酸镁(純)	0.05%
环已六醇	0.02
維生素 B-盐酸	500 毫克%
d-促生素(Biotin)	1 微克%
洋菜	1.5%
蒸馏水	100 毫升

調配到 pH 6.5，在 121.5°C 下，灭菌 20 分鈡。这个培养基仅含有

为菌的生长不可缺少的营养成分。为培养棉病囊霉（*Ashbya gossypii*）作促生素生物测定的培养用。

[9] Wickerham M-Y 培养基

胨	0.5%
酵母浸渍物	0.3%
麦芽浸渍物	0.3%
葡萄糖	1.0%
洋菜	2.0%
蒸馏水	1000 毫升

不必调配 pH 值，灭菌后为 pH6。在 121.5°C 下，灭菌 20 分钟。这个培养基供棉病囊霉（*Ashbya gossypii*）产生维生素 B_2 用。

[10] Olive 5 号培养基

洋菜	20 克
麦芽糖	3 克
胨	1 克
蒸馏水	1000 毫升

[11] Olive F-13 培养基

洋菜	20克
麦芽糖	1.5 克
胨	0.04 克
蒸馏水	1000 毫升

按 Olive 用 Olive 培养基 5 号，F-13 和 Czapek 培养基三种培养基，研究曲霉菌（*Aspergillus fischeri*）的子囊壳的发育。在三种培养基

需要全本请访问 www.ertongbook.com