



面向 21 世纪 课 程 教 材
Textbook Series for 21st Century

植物病理学实验技术

孙广宇 宗兆锋 主编



中 国 农 业 出 版 社

面向 21 世纪课程教材

Textbook Series for 21st Century

植物病理学实验技术

孙广宇 宗兆锋 主编

中国农业出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

植物病理学实验技术/孙广宇, 宗兆锋主编. —北京:
中国农业出版社, 2002.7

面向 21 世纪课程教材

ISBN 7-109-07536-2

I. 植... II. ①孙...②宗... III. 植物病理学—实
验—高等学校—教材 IV. S432.1

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2002) 第 040210 号

中国农业出版社出版

(北京市朝阳区农展馆北路 2 号)

(邮政编码 100026)

出版人: 傅玉祥

责任编辑 毛志强 杨国栋

北京忠信诚胶印厂印刷 新华书店北京发行所发行

2002 年 8 月第 1 版 2002 年 8 月北京第 1 次印刷

开本: 787mm×960mm 1/16 印张: 14.5

字数: 253 千字

定价: 19.60 元

(凡本版图书出现印刷、装订错误, 请向出版社发行部调换)

编 著 者

主 编 孙广宇 宗兆锋 (西北农林科技大学)

副主编 王建明 (山西农业大学)

李洪连 (河南农业大学)

黄丽丽 (西北农林科技大学)

段玉玺 (沈阳农业大学)

张 荣 (西北农林科技大学)

参 编 (以姓氏笔画为序)

丁爱云 (山东农业大学)

王振跃 (河南农业大学)

刘小光 (山东农业大学)

刘正平 (内蒙古农业大学)

张佳环 (吉林农业大学)

张曙光 (华南农业大学)

李文英 (山西农业大学)

杨文香 (河北农业大学)

杨信东 (吉林农业大学)

肖崇刚 (西南农业大学)

陈立杰 (沈阳农业大学)

周国辉 (华南农业大学)

竺晓平 (山东农业大学)

侯明生 (华中农业大学)

洪 霓 (华中农业大学)

赵纯森 (华中农业大学)

袁虹霞（河南农业大学）

康振生（西北农林科技大学）

曹克强（河北农业大学）

傅俊范（沈阳农业大学）

主 审 李振岐（西北农林科技大学）

前 言

多年的教学活动中，深感实验教学对于帮助学生加深理解理论知识、提高学生动手技能、培养学生分析问题和解决问题能力的重要。为此，我们在总结农业院校多年植物病理学教学经验的基础上，结合当前植物病理学研究的新进展，编写了《植物病理学实验技术》，并被教育部列入高等教育“面向 21 世纪课程教材”。

本教材全面系统介绍了植物病害症状类型，病原物形态观察，病原物的分离、培养、接种、侵染过程观察，病原物致病性和寄主抗病性鉴定，植物病害流行和防治等经典植物病理学实验及研究技术，着重训练学生的基本操作和技能。同时，还适当增加了植物病理学研究的新方法、新技术，如 PCR 技术、病原菌毒素、植保素和病程相关蛋白提取与活性测定等内容，使学生了解或掌握先进的技术和方法，与迅速发展的学科前沿接轨。为了启发和鼓励学生的创新思维与开拓精神，本教材还加强了思考题的启发性。对于实验中的关键步骤和需注意的事项用黑体提示。对大多数实验还绘制了实验流程图，使学生对实验能够整体理解，实验前做到心中有数。

本教材是与《植物病理学原理》教材配套使用的实验课教材，同时也可以作为植物病理学研究技术、植物病理学教学实习等课程或教学环节单独使用的教材。全书共 12 章，介绍了 44 个实验及研究技术。相关章节均由长期从事该领域研究的老师撰写，因而具有较强的实用性和可操作性。多数实验可以在 2~3 学时内完成。由于考虑到高等农业院校的实际情况和各校专业的特点，还编写了部分需要时间较长的大实验，供采用本教材的学校自行选用。本教材适合于植物保护专业、植物病理专业、农药专业等的本科教学使用，也可供农学、园艺、林学、生物技术等相关学科和交叉学科的教学、

科研人员参考。

在本教材的编写过程中得到了西北农林科技大学、山西农业大学、河南农业大学、沈阳农业大学、西南农业大学、河北农业大学、华中农业大学、山东农业大学、吉林农业大学、华南农业大学、内蒙古农业大学等学校的大力支持。承蒙李振岐院士等对教材进行了审阅；钮绪艳、邢小萍等同志参与部分文稿校对工作，在此一并表示真挚的谢意。

限于编者水平，书中疏漏和错误在所难免，敬请各位同行及读者批评指正。

编 者

2002年5月

植物病理学实验室守则

一、实验室基本要求

1. 每次实验前要充分预习实验指导，明确本次实验的目的要求、原理和方法，做到心中有数。
2. 实验操作要细心谨慎，认真进行观察，做好实验纪录。
3. 实验用过的菌种及带有活菌的各种器皿应先经高压灭菌后才能洗涤。特别是对于检疫性实验材料，必须进行灭活处理，绝不能扩散出实验室。制片上的活菌应先浸泡于3%来苏尔或5%石炭酸溶液中半小时后再洗刷。
4. 进行高压蒸汽灭菌时，严格遵守操作规程。负责灭菌的人灭菌过程中不准离开灭菌室。
5. 使用显微镜及其他贵重仪器时要按要求操作。取、放显微镜时应一手握住镜壁，一手拖住底座，使显微镜保持直立，防止镜头滑落地面而损坏。
6. 实验完毕应将仪器放回原处，擦净桌面，收拾整齐。离开实验时前注意关闭门、窗、水、灯、煤气等，并用肥皂洗手。

二、实验室安全知识

在实验室中，经常与毒性强、有腐蚀性、易燃烧和具有爆炸性的化学药品直接接触，常使用易碎的玻璃和瓷质的器皿，以及在煤气、水、电等高温电热设备的环境下进行着紧张而细致的工作。因此，必须十分重视安全工作。

1. 进入实验室开始工作前，应了解煤气总阀门、水阀门及电闸所在处。
2. 使用煤气灯时，应先将火柴点燃，一手执火柴靠近灯口，一手慢开煤气门。不能先开煤气门，后燃火柴。火焰大小和火力强弱，应根据实验的需要来调节。用火时，应做到火着人在，人走火灭。
3. 使用电器设备（如烘箱、恒温水浴、离心机、电炉等）时，严防触电；绝不可用湿手或在眼睛旁视时开、关电闸和电器开关。用电笔检查电器设备是否漏电，凡是漏电的仪器，一律不能使用。
4. 使用浓酸、浓碱，必须极为小心地操作，防止溅失。用吸量管量取这些试剂时，必须使用橡皮球，绝对不能用品口吸取。若不慎溅在实验台或地面，

必须及时用湿抹布擦洗干净。如果触及皮肤，应立即治疗。

5. 使用可燃物，特别是易燃物（如乙醚、丙酮、乙醇、苯、金属钠等）时，应特别小心。不应放在靠近火焰处，只有在远离火源或将火焰熄灭后，才可大量倾倒这类液体。低沸点的有机溶剂不准在火焰上直接加热，只能在水浴上利用回流冷凝管加热或蒸馏。

6. 如果不慎倾出了相当量的易燃液体，立即关闭室内所有的火源和电加热器；立即关门，开启小窗及窗户；用毛巾或抹布擦拭撒出的液体，并将液体拧到大的容器中，然后再倒入带塞的玻璃瓶中。

7. 易燃和易爆炸物质的残渣（如金属钠、白磷、火柴头）不得倒入污物桶或水槽中，应收集在指定的容器内。

8. 废液，特别是强酸和强碱不能直接倒在水槽中，应先稀释，然后倒入水槽，再用大量自来水冲洗水槽及下水道。对于可能造成环境污染的物质应密封塑料袋中，送到指定的地点集中处理。

9. 毒物应按实验室的规定办理审批手续后领取，使用时严格操作，用后妥善处理。

三、实验室急救

在实验过程中不慎发生受伤事故，应立即采取适当的急救措施。

1. 受玻璃割伤及其他机械损伤。首先必须检查伤口内有无玻璃或金属等物的碎片，然后用硼酸水洗净，再涂擦碘酒或红汞水，必要时用纱布包扎。若伤口较大或过深而大量出血，应迅速在伤口上部和下部扎紧血管止血，立即到医院诊治。

2. 烫伤。一般用浓的（90%~95%）酒精消毒后，涂上苦味酸软膏。如果伤处红痛或红肿（一级灼伤），可擦医用橄榄油或用棉花蘸酒精敷盖伤处；若皮肤起泡（二级灼伤），不要弄破水泡，防止感染；若伤处皮肤呈棕色或黑色（三级灼伤），应用干燥而无菌的消毒纱布轻轻包扎好，尽快送医院治疗。

3. 灼伤。强碱（如氢氧化钠，氢氧化钾）、金属钠、钾等其他碱性化学药品触及皮肤而引起灼伤时，要先用大量自来水冲洗，再用5%硼酸溶液或2%乙酸溶液涂洗。强酸、溴、氯、磷或其他酸性化学药品触及皮肤而致灼伤时，应立即用大量自来水冲洗，再以5%碳酸氢钠溶液或5%氢氧化铵溶液洗涤。如酚触及皮肤引起灼伤，可用酒精洗涤。

4. 触电时可按下述方法之一切断电路：①关闭电源；②用干木棍使导线与被害者分开；③使被害者和地面分离。急救者必须做好防止触电的安全措施，手和脚必须绝缘。

目 录

前言

植物病理学实验室守则

第一章 植物病害症状观察	1
实验一 侵染性植物病害症状观察	1
实验二 非侵染性植物病害症状观察	4
第二章 植物病原真菌的形态观察	8
实验三 真菌的一般形态观察	8
实验四 鞭毛菌亚门真菌形态观察	11
实验五 接合菌亚门真菌形态观察	15
实验六 子囊菌亚门真菌形态观察	17
实验七 担子菌亚门真菌形态观察	21
实验八 半知菌亚门真菌形态观察	24
第三章 植物病原原核生物病害诊断和病原鉴定	29
实验九 植物病原原核生物病害的症状观察及诊断	29
实验十 植物病原细菌形态观察	32
实验十一 植物病原细菌的生理生化测定	37
第四章 植物病毒病的诊断和病毒鉴定	41
实验十二 植物病毒传染试验	41
实验十三 植物病毒的分离与纯化	43
实验十四 植物病毒粒体的稳定性测定	45
实验十五 植物病毒内含体观察	47
实验十六 植物病毒的扩繁与提纯	48
实验十七 植物病毒粒体的电镜观察	51
实验十八 植物病毒抗血清的制备	53

实验十九 植物病毒血清学检测	55
实验二十 聚合酶链式反应 (PCR) 检测植物病毒	59
第五章 其他类型病原物的观察及所致病害诊断	63
实验二十一 植物寄生线虫的形态观察	63
实验二十二 植物病原线虫的分离	66
实验二十三 寄生性植物的形态观察	69
第六章 植物病害的侵染过程	72
实验二十四 真菌孢子的诱导产生	72
实验二十五 植物病原真菌孢子的萌发	76
实验二十六 植物病原物的人工接种	78
实验二十七 植物病原真菌侵染过程的组织病理学观察	82
第七章 病原菌的分离培养	86
实验二十八 灭菌与消毒	86
实验二十九 培养基的制作	91
实验三十 病原菌的分离培养和纯化	94
附 1 常用的几种典型的病原菌分离方法	100
附 2 真菌和细菌的菌种保藏	100
实验三十一 真菌单孢子分离技术	103
第八章 病原物的致病性与寄主的抗病性	107
实验三十二 病原物的致病毒素提取及活性测定	107
实验三十三 病原物酶的致病作用测定	109
实验三十四 植物组织中酚类物质含量的测定	112
实验三十五 苯丙氨酸解氨酶 (PAL) 活性的测定	116
实验三十六 植保素的提取和生物活性测定	118
实验三十七 植物诱导抗病性观察	120
实验三十八 植物病程相关蛋白的提取和检测	122
实验三十九 作物品种的抗病性鉴定	126
第九章 病害流行与防治	129
实验四十 植物病害调查	129
实验四十一 病原物侵染来源及传播方式观察	133

实验四十二 植物病害生防菌的颉颃作用测定	136
实验四十三 杀菌剂的室内生物测定	139
实验四十四 杀菌剂的田间药效测定	147
第十章 植物病害标本的采集与制作	152
第十一章 植物病理制片技术	159
第十二章 植物病理学文献及学位论文写作	177
植物病理学文献	177
学位论文的写作	179
附录一 显微镜技术	185
普通光学显微镜	185
相差显微镜	188
显微测量	189
附录二 植物病理实验室基本仪器设备及其使用	191
附录三 常用培养基配方	203
参考文献	218

第一章 植物病害症状观察

实验一 侵染性植物病害症状观察

植物病害的症状是植物患病后由于异常生理活动而发生在细胞和组织上的病理变化，最后表现为肉眼可见的形态变化。有些症状也可用嗅觉、味觉或触摸进行观察。有的症状是单个细胞表现的症状，在这类症状中，最常见的是受某种病毒侵染的植株中所见到的细胞质内含体。

植物病害的症状可区别为两类不同性质的特征：病状和病征。病状是一定的寄主植物和病原在一定外界条件的影响下相互作用结果的外部表现，是以各自的生理机能或特性为基础的。而每种生物的生理机能，都是在质上有特异性，并且是相对稳定的。病变，作为这种相互作用过程的结果，一般说其发展是定向的。病状作为病变过程的表现，其特征也是较稳定的和具有特异性的。这就是利用病状诊断植物病害的基础。

病征是由病原微生物的群体或器官着生在寄主表面所构成的。它更直接地暴露了病原物在质上的特点。如真菌子实体在寄主表面形成的霉层、黑点等。由植物病毒、植原体、许多病原细菌、非侵染性植物病害等无病征的表现。病征的出现与否和出现的明显程度，虽受环境条件的影响很大，但一经表现出来却是相当稳定的特征，所以根据病征能够正确地判定病害。

不同植物的任何病害都具有其独特症状，通常在病害发生过程中按一定顺序出现。病理学家正是根据这种顺序出现的症状在田间诊断植物病害。

病状和病征，尤其是前者，作为诊断病害的依据也有其局限性。首先是许多植物病害常产生相似的病状，因此要从各方面的特点去综合判断；其次，植物常因作物品种的变化或受害器官的不同，而使病状有一定幅度的变化；第三，病害的发生发展是一个过程，有初期和后期，病状也随之而发展变化；第四，环境条件对病状和病征有一定的影响，尤其是湿度对病征的产生有显著地作用，加之发病后期病部往往会长出一些腐生菌的繁殖器官。因此，症状的稳定性和特异性只是相对的，要认识症状的特异性和变化的规律，在观察植物病害时，须认真地从症状的发展变化中去研究和掌握症状的特殊性。观察和采集植物病害标本，仔细地区别病征的那种微小的、似同而异的特征，这样才能正确地诊断病害。

一、目的要求

认识各类病害对植物造成的为害，了解植物病害的种类及其多样性，初步掌握主要病害的症状表现及其特点，学会植物病害症状的描述，为今后病害的诊断奠定基础。

二、材料、试剂与仪器

按照植物病害的病状类型（变色、坏死、斑点、腐烂、畸形）和病征类型（粉状物、霉状物、点状物、菌核、溢脓等）准备植物病害的盒装标本、瓶装浸渍标本及新鲜标本（不同类型的病状和病征的标本可根据当地的情况准备）。

各类症状的挂图、模型、多媒体课件等。

实体显微镜、手持扩大镜、水果刀、载玻片等。

三、实验操作

（一）病状的观察

1. 斑点 观察玉米大班病、棉花角斑病、棉花黑斑病、大麦条纹病、小麦根腐叶斑病、大葱或大蒜紫斑病、花生网斑病、番茄早疫病、十字花科霜霉病等标本。注意不同类型病害所表现病斑的形状、大小、颜色等的异同以及病斑上有无轮纹、花纹伴生，同时注意观察各类病斑上有无病征以及病征的特点。斑点类发生在叶、茎、果等部位，受病组织局部坏死，一般有明显的边缘。斑点中还可以伴生轮纹、花纹等特点。根据病斑的颜色、形状等特点而分为褐斑、黑斑、紫斑、角斑、条斑、大班、小班、胡麻斑、轮纹斑、网斑等多种类型。

2. 腐烂 观察甘薯黑斑病和干腐病病薯、马铃薯晚疫病和环腐病病薯、棉苗立枯病、柑橘溃疡病等病害标本，认识该类病害对植物所造成的为害，同时掌握这类病害的病状特点。腐烂类病状发生在植物的各个部位，由于组织分解的程度不同，有软腐、干腐之分。根据腐烂的部位，有根腐、基腐、茎腐、果腐、花腐等名称，还伴随有各种颜色变化的特点，如褐腐、白腐、黑腐等。

3. 萎蔫 观察棉花、黄瓜等植物枯萎病、棉花和茄子黄萎病、玉米和茄科植物青枯病、马铃薯环腐病等标本。注意区别枯萎、黄萎、青枯等病状类型，必要时可以剖开病株茎秆观察维管束是否褐变。典型的萎蔫病状是植物

根、茎的维管束组织受到破坏而发生的叶片或枝条萎垂现象，皮层组织完好，萎蔫病害常无外表的病征。植物受萎蔫菌侵染后，不一定都能引起萎蔫，发病初期有半边叶片、半个枝条萎垂的现象，但更常见的是全株性萎蔫。

提示：对于萎蔫类病害病状的观察应以新鲜标本为主，有条件时最好在田间进行，这类病害发生具有一定的地域性，观察时要注意其维管束组织的病变，干标本则失去了原有的特点。

4. 变色 变色主要有两种类型。一种表现为黄化，是整个植株或叶片部分地或全部地均匀褪绿、变黄，或呈现其他的颜色。多数伴生有整株或部分的畸形。另一种为花叶，病株叶片色泽浓淡不均，深绿与浅绿部分相间夹杂，一般遍及全株，上部叶片较为显著，无病征表现。比较观察烟草花叶病、苹果花叶病、小麦黄矮病、瓜类、十字花科和茄科植物的病毒病病状，注意每一种病害的病状特点。

5. 畸形 畸形类病状由不同组织、器官的病变，如叶片的膨肿、皱缩、小叶、蕨叶；果实的缩果及其他畸形；整个植株的徒长、矮缩；局部器官如花器和种子的退化变形和促进性的变态等。瘤、瘿、癌、丛枝和发根也是常见的畸形病状。观察桃缩叶病、十字花科根肿病、马铃薯癌肿病、果树根癌病、桑树根结线虫病、油菜白锈病、番茄蕨叶病、枣疯病、泡桐丛枝病、玉米黑粉病、小麦粒线虫病、水稻恶苗病等。归纳各类标本的病状类型。

(二) 病征的观察

1. 粉状物 借助手持扩大镜或实体解剖镜观察麦类锈病、十字花科白锈病、麦类白粉病、玉米黑粉病和麦类黑粉病等病害标本。注意粉状物的颜色、质地和着生状况等。

2. 霉状物 借助手持扩大镜或实体解剖镜观察黄瓜霜霉病、甘薯软腐病、瓜类软腐病、柑橘青霉病、番茄灰霉病和番茄叶霉病等病害标本或瓶装标本。注意区别霜霉、黑霉、绵霉、青霉和灰霉等不同类型的霉状物。

3. 点状物 取小麦白粉病、瓜类炭疽病、棉花茎枯病、芹菜斑枯病、苹果树腐烂病和麦类赤霉病等病害标本，借助手持扩大镜或实体解剖镜观察。注意点状物是埋生、半埋生还是表生，以及在寄主表面的排列状况、颜色等。

4. 菌核 观察油菜菌核病和水稻纹枯病等病害标本。注意菌核的大小、形状、颜色、质地等，并观察菌核萌发状况。

5. 溢脓 溢脓为细菌性病害特有的病征。观察水稻白叶枯病、水稻细菌性条斑病、十字花科细菌性软腐病、棉花角斑病和黄瓜角斑病等病害标本。注意溢脓的颜色、出现位置等。用剪刀将植物病组织剪成 4mm^2 的小块，放于载玻片上，加一滴水，盖上盖玻片，在显微镜下观察或直接用载玻片对光观察喷

菌现象。

四、所需学时

2~3 学时。

五、实验作业

将观察结果填入下表

寄主名称	病害名称	发病部位	病状类型	病症类型
------	------	------	------	------

实验二 非侵染性植物病害症状观察

植物受不良环境因素影响出现无传染能力的病害。不良因素含各种不适宜植物生长发育的气象、土壤、栽培条件以及有害物质等。

一、目的要求

通过实验了解和认识植物非侵染性病害的种类、症状类型和重要病害的症状特点。

二、实验材料

番茄脐腐病、苹果苦痘病、大白菜干烧心病、苹果或其他植物黄化病、苹果小叶病、苹果缩果病、植物缺水萎蔫病、黄瓜沤根病、番茄裂果病、辣椒等果实日灼病、小麦早穗病、蔬菜氨害、番茄 2,4-D 药害等病害的标本或幻灯片。

三、实验观察

(一) 营养失调病害观察

植物正常生长发育需要氮、磷、钾等 16 种营养元素。当营养元素缺乏时,植物就不能正常生长发育,就会生病,表现各种各样的缺素症状。

1. 番茄脐腐病 钙素缺乏使番茄脐细胞生理紊乱,失去控水能力,导致病害发生。观察番茄脐腐病的标本。番茄脐腐病初在幼果脐部产生水渍状斑,后逐渐扩大,病部颜色变为黄褐色至黑褐色,质硬,凹陷成扁平状,直径 1~2cm,有时可达半个果面。病果提早变红,且多发生在一、二果穗上,同一花序上的果实几乎同时发病。

2. 苹果苦痘病 当果实 $N:Ca > 10$ 时即可发病。该病主要发生在果实贮藏前期。观察苹果苦痘病的标本。该病典型症状是在果面上产生直径 3~6mm 的圆形或不规则形凹斑,病部果肉坏死,呈海绵状,深约数毫米,味苦。病斑颜色因品种而异。在红色品种上呈暗红色,在黄色品种上呈深绿色,在青色品种上为灰褐色。

3. 大白菜干烧心病 土壤中活性锰(包括水溶态锰、代换态锰及易还原态锰)缺乏是诱发大白菜干烧心病的主要原因。观察大白菜干烧心病的标本或幻灯片。病株幼嫩内叶边缘褪绿凋萎,后变为淡褐色、干枯,向内翻卷。病株生长不良,严重的不能包心或包心不实。轻病株可以包心,外观正常,但切开叶球可见内叶边缘黄化、干枯,有的叶片呈淡褐色干腐,无臭味。

4. 苹果等植物的黄叶病 缺铁可使苹果等植物发生黄叶病。观察苹果或其他植物的缺铁性黄叶。病株新叶变为黄色,或黄白色,叶脉及两侧仍为绿色,严重时,顶端叶片焦枯。

5. 苹果小叶病 该病由缺锌引起。观察苹果小叶病标本。节间缩短,叶狭小,质脆,黄绿色,叶缘向上,严重时病枝枯死。树冠稀疏,结果小而畸形。

6. 苹果缩果病 缺硼可引起苹果缩果病。观察苹果缩果病标本或幻灯片。在感病幼果表面初生水渍状斑块,后病部干缩、硬化、凹陷、果形变小、畸形或开裂;或者果实从萼基部开始木栓化,沿果心扩展变为褐色,果肉松软如海绵,果面凸凹不平。

(二) 水分失调危害观察

植物的光合作用及对营养元素的吸收和运输,都必须有水分才能进行。水分在调节植物体温、保持植株形态、影响土壤氧气含量等方面起着重要作用。