

植病研究方法

方中达 编

农业出版社

植病研究方法

方中达 编

农业出版社出版 新华书店北京发行所发行
农业出版社印刷厂印刷

787×1092 毫米 16 开本 26.25 印张 586 千字
1979 年 1 月第 1 版 1979 年 1 月北京第 1 次印刷
印数 1—14,800 册

统一书号 16144·1821 定价 2.70 元

再 版 前 言

《植病研究方法》是在1957年由高等教育出版社出版的，无论是内容或一些问题的提法，已经不适应形势的发展。现作了适当修改，进行再版。

修订出版的《植病研究方法》仍保持原来初级教材的形式，在阐明基本理论的基础上，列举一些具有代表性的操作方法。事实上，即使是一种比较好的方法，经过不同工作者的实践，往往也会有所改进和发展。本书和其他文献中介绍的方法，只能作为参考。近二十年来，植物病理学的研究中采用了许多新技术，书中也简略地提到一些，但是作为普及性的参考书，着重介绍的是在一般设备条件下可以采用的方法。

这次修订时，根据对原书的意见，作了较多的增删，如着重充实了植物真菌病害、植物细菌病害和植物病毒病的内容，并增加了显微镜的使用、放线菌、植物线虫病以及抗病性和致病性分化的测定等四章。至于第十五、十六两章，基本还是原来的内容，留待以后有机会再进一步修订。

在修订过程中，许多同志提供了宝贵的意见和资料，特别是周家炽同志为植物病毒病部分的修订提供了不少资料，许志刚同志则完成了植物线虫病的大部分编写工作。

植病研究方面涉及的面很广，作者的实践经验有限，书中一定存在不少问题，希望读者批评和指正。

方 中 达

一九七七年四月

目 录

第一章 植物病害的调查 1

第一节 调查的类别 1

1. 一般调查 1
2. 重点调查 1
3. 调查研究 2

第二节 发病程度 3

1. 记载方法 3
 - (1) 直接计数法 3
 - (2) 分级计数法 3
 - 〔1〕 分级用文字叙述 4
 - 〔2〕 分级用图或照相表示 4
 - 〔3〕 分级标准制作法 5
2. 感染指数 6
3. 取样方法 7
 - (1) 样本数目 7
 - (2) 取样地点 7
 - (3) 样本类别 7
 - (4) 样本大小 8
 - (5) 取样时间 8

第三节 病害损失的估计 8

1. 估计的方法 8
2. 典型病害损失的估计 9
 - (1) 麦类锈病 9
 - (2) 黑穗病 9
 - (3) 马铃薯晚疫病 10
 - (4) 棉花黄萎病 11
 - (5) 大麦云纹病 11
 - (6) 小麦全蚀病 12
 - (7) 甜菜黄化病毒病 12
 - (8) 小麦条纹花叶病 12
 - (9) 根瘤线虫 13

第二章 植物病害和菌类标本的采集和制作 14

第一节 标本的采集 14

第二节 标本的制作 15

1. 标本干燥制作法 15
2. 浸渍标本制作法 16
 - (1) 防腐浸渍液 16
 - (2) 防腐漂白浸渍液 16
 - (3) 保存绿色的浸渍液 17

- 〔1〕 醋酸铜浸渍液 17
- 〔2〕 硫酸铜亚硫酸浸渍液 17
- 〔3〕 瓦查浸渍液 17
- (4) 保存黄色和桔红色标本的浸渍液 17
- (5) 保存红色的浸渍液 17
 - 〔1〕 赫斯娄浸渍液 18
 - 〔2〕 波尔浸渍液 18
 - 〔3〕 瓦查保存红色浸渍液 18
- (6) 保存真菌色素的浸渍液 18
 - 〔1〕 硫酸锌福尔马林浸渍液 18
 - 〔2〕 醋酸汞冰醋酸浸渍液 18
 - 〔3〕 醋酸铅浸渍液 18
- (7) 浸渍标本的保存 18

3. 真菌菌种干燥保存法 19

第三节 标本的整理、排列和保藏 19

1. 玻面纸盒保藏 20
2. 蜡叶标本纸上保藏 20
3. 封套内保藏 20

第三章 实验室的一般操作 22

第一节 玻璃器皿的洗涤 22

1. 洗涤剂 22
 - (1) 水 22
 - (2) 铬酸洗涤液 22
 - (3) 高锰酸钾 23
 - (4) 酸和碱 23
 - (5) 有机溶剂 23
 - (6) 肥皂和其他洗涤剂 23
2. 各种玻璃器皿的洗涤 23
 - (1) 新的器皿 23
 - (2) 一般器皿 24
 - (3) 载玻片和盖玻片 24
 - (4) 发酵管等小器皿 24
 - (5) 滴定管和吸管 24
 - (6) 特殊清洁法 24

3. 玻璃器皿的干燥 25

第二节 分析天平的使用 25

1. 分析天平的结构与砝码 25
2. 使用注意事项 25
3. 天平的休止点和灵敏度 26
 - (1) 休止点 26
 - (2) 灵敏度 26

第三节 溶液的配制 27

1. 浓度表示的方法	27
(1) 百分数溶液	27
〔1〕 重量计算	27
〔2〕 容量计算	27
(2) 克分子量溶液	29
(3) 克当量溶液	29
(4) 元素含量计算	29
2. 各种溶液的配制法	30
(1) 盐的水溶液	30
(2) 碱的水溶液	30
(3) 酸的水溶液	31
第四章 显微镜	32
第一节 明视野显微镜	32
1. 光学系统各部分的性能	32
(1) 物镜	33
〔1〕 分辨率	33
〔2〕 数值口径	33
〔3〕 放大倍数、焦距和工作距离	34
(2) 聚光镜和虹彩光圈	34
(3) 目镜	35
(4) 反光镜	35
(5) 光源	36
2. 使用方法	36
(1) 低倍镜镜检	36
(2) 高倍镜镜检	36
(3) 油浸镜镜检	36
3. 保养	37
第二节 暗视野显微镜	37
(1) 反光镜侧面照射	37
(2) 星形虹彩光圈	37
(3) 暗视野聚光镜	38
第三节 相差显微镜	38
1. 工作原理	38
2. 环状光阑和环状相板	39
3. 使用方法	40
第四节 荧光显微镜	40
1. 荧光现象	40
2. 荧光显微镜的构造	40
3. 使用方法	41
第五节 透射电子显微镜	41
第六节 扫描电子显微镜	42
第五章 培养条件和其他环境因素的控制	44
第一节 酸度	44
1. 氢离子浓度和pH值	44
2. 缓冲溶液	47
(1) 缓冲作用	47
(2) 缓冲溶液的 pH 值	47

(3) 稀释对缓冲溶液 pH 值的影响	50
(4) 溶液的缓冲容	51
3. pH值的测定	51
(1) 比色法	51
〔1〕 指示剂	51
〔2〕 比色标准	55
(2) 电位测定法	56
〔1〕 一般原理	56
〔2〕 酸度计	58
〔3〕 酸度的测定	59
4. 酸度的调节	60
(1) 土壤酸度的测定和调节	60
(2) 微生物对酸度反应的测定	60
〔1〕 培养方法	60
〔2〕 孢子萌发法	60
第二节 氧化还原电位	60
1. 氧化和还原	60
2. 氧化还原电位的测定	61
(1) 电位测定法	61
(2) 氧化还原指示剂测定法	62
3. 氧化还原电位对微生物的影响	64
第三节 氧的供应	66
1. 供氧的方法	66
2. 氧吸收率的测定	66
3. 振荡机	67
第四节 温度	67
1. 温度的测量和调节	67
2. 微生物对温度反应的测定	68
第五节 湿度	69
1. 湿度的测量和调节	69
2. 小容器空气湿度的调节	69
3. 土壤湿度的调节	70
第六节 光照	71
第七节 植物的营养条件	72
第六章 培养基	74
第一节 微生物的营养	74
1. 碳素来源	74
2. 氮素来源	75
3. 矿物质营养	76
4. 生长物质	77
第二节 培养基的成分和种类	78
(1) 天然培养基	78
(2) 半组合培养基	79
(3) 组合培养基	79

第三节 培养基的理化性状	79
1. 固体和液体培养基	79
(1) 琼胶和明胶	79
(2) 硅胶	80
2. 培养基浓度和成分比例	81
3. 培养基的酸度和缓冲容	82
(1) 各种微生物对酸度的适应范围	82
(2) 培养基酸度的调节方法	82
(3) 缓冲容的影响和调节	82
4. 培养基的氧化还原条件	83
第四节 常用培养基的配制	83
1. 马铃薯葡萄糖琼胶培养基	83
2. 肉汁陈培养基	84
(1) 蛋白胨	84
(2) 牛肉浸膏	85
(3) 酵母膏	85
3. 燕麦片琼胶培养基	86
4. 玉米粉琼胶培养基	86
5. 麦芽膏琼胶培养基	86
6. 植物组织和煎汁	87
7. 玉米粉砂土培养基	87
8. 查彼培养液	87
9. 土壤浸液琼胶培养基	87
第五节 培养基的保藏	88
第六节 灭菌对培养基的影响	88
1. 酸度的变化	88
2. 碳水化合物的水解	88
3. 葡萄糖发生的反应	88
4. 沉淀物的产生	89
第七节 选择性培养基	89
1. 一般选择性培养基	89
2. 特殊选择性培养基	90
第七章 灭菌	91
第一节 灭菌的原理和方法	91
1. 热力灭菌	91
(1) 干热灭菌	91
(2) 湿热灭菌	91
〔1〕 加压蒸气灭菌	92
〔2〕 流动蒸气灭菌	93
(3) 热力灭菌的检验	94
2. 过滤灭菌	94
(1) 原理和方法	94
(2) 几种细菌滤器的性能和使用	95
〔1〕 查次滤器	95
〔2〕 烧结玻璃滤器	96
〔3〕 薄膜滤器	96

(3) 滤器的洗涤	96
(4) 空气的过滤灭菌	96
3. 辐射灭菌	97
(1) 电离辐射	97
(2) 紫外线辐射	98
4. 化学灭菌	98
(1) 环氧乙烷	98
(2) 氧化丙烯	99
(3) 氯、甲醛和酒精	99
第二节 各种材料的灭菌处理	99
1. 玻璃器皿的灭菌	99
2. 培养基的灭菌	100
3. 土壤的灭菌	100
4. 刀、剪、镊等的灭菌	101
第八章 植物真菌病害	102
第一节 真菌病害和真菌标本的 检查	102
1. 症状的观察和描述	102
2. 显微镜检查	103
(1) 菌丝体和子实体的挑取检视	103
〔1〕 水作浮载剂	103
〔2〕 乳酚油	103
〔3〕 水合氯醛液	104
〔4〕 甘油	105
〔5〕 甘油明胶	105
〔6〕 苯酚醋酸明胶	105
〔7〕 氧化二乙烯	106
(2) 叶面真菌的粘贴检视	106
〔1〕 透明胶带粘贴	106
〔2〕 醋酸纤维素粘贴	106
〔3〕 火棉胶和其他粘贴剂	106
(3) 组织整体透明检视	106
〔1〕 水合氯醛透明	106
〔2〕 乳酚油水合氯醛透明	107
〔3〕 水合氯醛苯酚透明	107
〔4〕 乳酸透明	107
〔5〕 吡啶透明	108
(4) 真菌的玻片培养检视	108
(5) 琼胶培养基中真菌的检视	109
(6) 组织浸离检视	109
(7) 徒手切片检视	109
3. 显微计测和显微描绘	110
(1) 显微计测的方法	110
〔1〕 接目测微尺计测法	110
〔2〕 显微绘图仪计测法	111
〔3〕 螺旋测微计	111
〔4〕 放映计测法	111
(2) 真菌孢子的计测问题	111
〔1〕 浮载剂的影响	111
〔2〕 孢子大小的记载法	112
(3) 显微描绘	112

第二节 真菌的分离和培养112

1. 真菌的分离113

- (1) 分离的准备工作.....113
- (2) 分离材料的选择.....114
- (3) 组织的表面消毒.....114
 - 〔1〕 升汞溶液.....114
 - 〔2〕 漂白粉.....115
 - 〔3〕 酒精和其他表面消毒剂.....115
- (4) 一般分离方法.....115
 - 〔1〕 组织分离法.....115
 - 〔2〕 稀释分离法.....115
 - 〔3〕 细菌污染的排除.....116
- (5) 各种类型病害病原真菌的分离法.....116
 - 〔1〕 斑点病病原真菌的分离.....116
 - 〔2〕 维管束组织内病原真菌的分离.....116
 - 〔3〕 根腐病菌的分离.....117
 - 〔4〕 肉质组织中病菌的分离.....117
 - 〔5〕 种子内病菌的分离.....117
 - 〔6〕 孢子分离法.....117
- (6) 特殊类型真菌的分离.....117
 - 〔1〕 粘菌的分离.....117
 - 〔2〕 壶菌的分离.....117
 - 〔3〕 水生藻菌的分离.....118
 - 〔4〕 绵霉属和疫霉属真菌的分离.....118
 - 〔5〕 锈菌的分离.....119
 - 〔6〕 黑粉菌的分离.....120
 - 〔7〕 高等担子菌的分离.....121
- (7) 土壤中一般真菌的分离.....123
 - 〔1〕 稀释平板分离法.....123
 - 〔2〕 土壤平板分离法.....123
 - 〔3〕 土壤中菌丝体分离法.....124
- (8) 土壤中植物病原真菌的分离.....124
 - 〔1〕 腐霉属和疫霉属真菌的分离.....124
 - 〔2〕 镰刀霉属真菌的分离.....125
 - 〔3〕 轮枝孢霉属真菌的分离.....125
 - 〔4〕 丝核菌的分离.....126
 - 〔5〕 小菌核属真菌的分离.....126

2. 菌种的纯化和单孢子的分离127

- (1) 琼胶平板稀释纯化法.....127
- (2) 稀释纯化法.....127
- (3) 琼胶平板表面单孢子挑取法.....128
- (4) 玻璃毛细管分离法.....129
- (5) 干孢子分离法.....129
- (6) 显微操作器分离法.....129

3. 真菌的培养和生长量的测定130

- (1) 培养性状的观察.....130
- (2) 生长量的测定.....131
 - 〔1〕 目力估测.....131
 - 〔2〕 直线生长.....131
 - 〔3〕 湿重测定.....131
 - 〔4〕 干重测定.....132
- (3) 真菌的移植.....132

4. 真菌菌种保存133

- (1) 室温保存.....133
- (2) 低温保存.....134

- (3) 矿物油下保存.....134
- (4) 土壤中保存.....135
- (5) 干燥保存.....135
- (6) 冷冻干燥保存.....135
- (7) 灭菌蒸馏水中保存.....136
- (8) 防止霉类的侵害.....136

第三节 真菌孢子的产生、萌发和

计数136

1. 真菌孢子产生的条件137

2. 促使真菌孢子产生的途径137

- (1) 培养基的种类和成分.....137
 - 〔1〕 减低养分的浓度.....137
 - 〔2〕 改变碳源、氮源和它们的比例.....138
 - 〔3〕 选用不同的培养基.....138
 - 〔4〕 微量元素和维生素等.....138
- (2) 培养基的物理性状.....138
 - 〔1〕 固体和液体培养基.....138
 - 〔2〕 氢离子浓度.....138
 - 〔3〕 灭菌方法.....138
- (3) 培养条件.....139
 - 〔1〕 温度.....139
 - 〔2〕 光照.....139
- (4) 培养方法.....139
 - 〔1〕 通气和振荡.....139
 - 〔2〕 移植方法.....140
 - 〔3〕 培养时期.....140
 - 〔4〕 划碎菌落.....140

3. 孢子萌发的条件140

- (1) 温度.....140
- (2) 湿度.....140
- (3) 空气.....141
- (4) 氢离子浓度.....141
- (5) 养分和其他刺激萌发的物质.....141
- (6) 光照.....141
- (7) 孢子的寿命和生活力.....141
- (8) 孢子的成熟度和休眠期.....142

4. 孢子萌发的方法142

- (1) 悬滴法.....143
- (2) 载玻片上萌发法.....143
- (3) 培养皿中萌发法.....143
- (4) 琼胶平板表面萌发法.....144
- (5) 其他方法.....144

5. 孢子萌发的记载144

6. 真菌孢子的计数144

- (1) 计数计数法.....144
- (2) 培养皿计数法.....145
- (3) 混浊度计数法.....145

第四节 病原真菌的接种.....146

1. 植物病害发生的条件146

- (1) 寄主植物的感病性.....146
- (2) 病原菌的致病性.....147
 - 〔1〕 病原菌的菌系和生理小种.....147

〔2〕病原菌的培养条件	147
〔3〕病原菌的退化	147
〔4〕接种的菌量	147
(3) 接种的条件	148
〔1〕温度	148
〔2〕湿度	148
〔3〕光照	148
2. 接种植物的准备和管理	148
3. 接种方法	149
(1) 种子传染病害的接种	149
〔1〕拌种法	149
〔2〕浸种法	149
〔3〕花期接种法	149
〔4〕特殊的方法	150
(2) 土壤传染病害的接种	150
〔1〕土壤接种法	150
〔2〕蘸根接种法	150
〔3〕根部切伤接种法	150
(3) 气流和雨水传播病害的接种	150
〔1〕喷洒法	150
〔2〕喷撒法	151
〔3〕涂抹法	151
〔4〕注射法	151
〔5〕针刺法	151
(4) 昆虫传染病害的接种	151
4. 接种试验的记载	151
5. 寄生现象的观察	151
(1) 侵入前的现象	152
(2) 侵入现象	152
〔1〕气孔形状、大小的观察	152
〔2〕病菌从气孔侵入的观察	153
〔3〕其他自然孔口侵入的观察	153
〔4〕伤口侵入的观察	153
〔5〕直接穿透侵入的观察	154
(3) 侵入后的现象	155
〔1〕酶的作用	155
〔2〕毒素的作用	156
6. 植物显微化学测定	156
(1) 淀粉的碘液测定	157
(2) 纤维素的测定	157
〔1〕碘氯化锌测定法	157
〔2〕碘液和硫酸测定法	157
(3) 粘胶类物质的测定	157
〔1〕钨红染色法	158
〔2〕铁盐吸收法	158
(4) 木质的测定	158
〔1〕高锰酸钾反应	158
〔2〕间苯三酚反应	158
〔3〕藏红染色	158
〔4〕混合染料染色	158
(5) 木栓质细胞壁的染色	158
(6) 角质层的染色	159
(7) 甲壳质的染色	159
(8) 氧化酶的测定	159
〔1〕愈疮木胺试剂	159

〔2〕联苯胺试剂	159
〔3〕1-萘酚和苯二胺试剂	159
(9) 过氧化酶的测定	159
(10) 细胞的酸度	159

第九章 植物细菌病害161

第一节 细菌病害标本的检查161

1. 症状的观察161
2. 显微镜检查162

第二节 病原细菌的分离和培养163

1. 分离方法163
 - (1) 培养皿稀释分离法163
 - (2) 平板划线分离法163
2. 特殊分离培养基165
 - (1) 选择性培养基165
 - 〔1〕属的选择性培养基166
 - 〔2〕种的选择性培养基167
 - (2) 单个细菌生长培养基170
 - (3) 致病性甄别培养基171

3. 细菌菌种保存171
 - (1) 室温和冰箱保存171
 - (2) 矿物油下保存172
 - (3) 干燥保存172
 - (4) 冷冻干燥保存172
 - (5) 液体悬浮保存172

4. 细菌的计数173
 - (1) 计数计数法173
 - (2) 混浊度计数法173
 - (3) 平板菌落计数法174
 - (4) 其他方法175

第三节 致病性的测定175

1. 过敏性反应的测定176
2. 常规接种测定177
 - (1) 接种物的准备177
 - (2) 接种方法177
 - 〔1〕叶斑病和叶枯病的接种177
 - 〔2〕肿瘤和茎秆枝条病害的接种178
 - 〔3〕腐烂病的接种178
 - 〔4〕萎蔫病的接种179

第四节 细菌的形态179

1. 细菌运动的观察179
 - (1) 悬滴法179
 - (2) 培养法179
2. 细菌的大小和形状180
 - (1) 苯酚品红染色法180
 - (2) 亚甲蓝染色法180
3. 革兰氏染色法180
 - (1) 结晶紫草酸铵染色法181
 - (2) 甲基紫染色法182
4. 鞭毛染色182

(1) 载玻片的准备	182
(2) 细菌悬浮液的配制	182
(3) 涂片	183
(4) 染色	183
〔1〕 赖夫生染色法	183
〔2〕 西萨—基尔染色法	184
〔3〕 银盐“染色”法	184
5. 荚膜染色	185
(1) 绘图墨汁显示法	185
(2) 硫酸铜染色法	185
6. 芽孢染色	185
(1) 苯酚品红苯胺黑染色法	186
(2) 孔雀绿藏红染色法	186
7. 抗酸性染色	186
8. 类脂内含物染色	187
9. 异染粒染色	187
10. 细胞壁染色	187
11. 晶体染色	188
第五节 培养性状	188
1. 培养性状的描述	189
(1) 培养液培养性状	189
(2) 琼胶斜面培养性状	189
(3) 琼胶平板培养性状	189
2. 细菌的色素	190
3. 鉴别性培养液上的生长	191
(1) 孔氏培养液	191
(2) 费美培养液	191
(3) 乌兴斯基氏培养液	191
第六节 生理和生物化学性状	192
1. 温度的关系	192
2. 细菌的耐干能力	192
3. 细菌的耐盐性	192
4. 好氧性和厌氧性	193
5. 碳素化合物的利用和分解	193
(1) 发酵试验	194
(2) 柠檬酸盐和丙二酸盐的利用	195
〔1〕 柠檬酸盐的利用	195
〔2〕 丙二酸盐的利用	195
(3) 甲基红和V.P. 试验	196
〔1〕 甲基红试验	196
〔2〕 V.P. 试验	196
(4) 七叶灵水解	196
6. 氮素化合物的利用和分解	196
(1) 硝酸盐和亚硝酸的还原	196
〔1〕 格里斯试剂测定法	197
〔2〕 特罗姆斯陀夫试剂测定法	197
(2) 蛋白胨的分解	197
〔1〕 氨的产生	198
〔2〕 硫化氢的产生	198

〔3〕 吡噪的产生	198
7. 大分子化合物的分解	199
(1) 明胶液化	199
(2) 淀粉水解	199
(3) 脂肪的分解	199
8. 其他反应测定	200
(1) 石蕊牛乳	200
(2) 氧化酶	200
(3) 接触酶	200
第七节 血清学反应	201
1. 抗原和抗体	201
2. 凝集反应	201
(1) 原理	201
(2) 抗血清的制备	202
〔1〕 动物的准备	202
〔2〕 免疫注射	202
〔3〕 抗血清的处理	203
(3) 凝集反应的测定方法	203
〔1〕 载玻片凝集反应	203
〔2〕 试管凝集反应	203
3. 凝集素吸附反应	204
4. 补体固定反应	205
5. 沉淀反应	206
6. 荧光抗体	206
(1) 原理	206
(2) 细菌荧光抗体技术	207
(3) 使用荧光抗体须注意的问题	208
第八节 细菌的噬菌体	208
1. 噬菌体的分离、纯化、繁殖和保存	209
(1) 噬菌体的分离	209
(2) 噬菌体的纯化	211
(3) 噬菌体的繁殖	211
(4) 噬菌体的保存	212
2. 噬菌体的定量	212
(1) 一般琼脂平板法	213
(2) 表层平板法	214
(3) 双层琼脂法	214
3. 噬菌体性状的观察和测定	215
(1) 噬菌斑的大小和形状	215
(2) 寄主范围的测定	215
(3) 失毒温度的测定	216
(4) 血清学反应	216
(5) 噬菌体的吸附现象和它的利用	217
〔1〕 测定未吸附的噬菌体	217
〔2〕 测定受感染细菌的数目	218
(6) 噬菌体的潜育期和繁殖量	219
〔1〕 离心除去游离噬菌体	219
〔2〕 抗血清除去游离噬菌体	219
4. 噬菌体的应用	220
(1) 植物病原细菌的鉴定	220

(2) 利用寄主细菌测定噬菌体的存在	220
(3) 利用噬菌体测定寄主细菌的存在	220
(4) 病害防治上的应用	221
第九节 植物病原细菌的分类	221
1. 属的性状	221
(1) 棒状杆菌属	221
(2) 假单胞杆菌属	222
(3) 黄单胞杆菌属	222
(4) 欧氏杆菌属	222
(5) 野杆菌属	222
2. 植物病原细菌种的划分	222
第十章 放线菌	225
第一节 放线菌的分离和培养	225
1. 分离	225
(1) 土壤分离	225
〔1〕 甘油精氨酸培养基	226
〔2〕 淀粉酪朊培养基	226
〔3〕 大豆粉葡萄糖培养基	226
(2) 植物病组织中分离	226
2. 纯化和培养	227
3. 菌种的保存	227
第二节 琼胶平板上颞颥作用的测定	227
1. 纯化菌种的测定	227
(1) 颞颥体和测定生物琼胶平板表面接种	228
(2) 颞颥体接种混有测定生物琼胶平板	228
2. 土壤中颞颥体直接筛选	228
(1) 平板稀释法	228
(2) 三层琼胶法	228
(3) 喷雾法	229
第三节 培养滤液效价的测定	229
1. 抑制生长浓度测定法	229
(1) 液体培养测定	230
(2) 琼胶平板培养测定	230
2. 环柱测定法	231
3. 纸碟测定法	231
第四节 放线菌的形态观察	231
第十一章 植物病毒病	232
第一节 植物病毒的基本概念	232
1. 植物病毒的本质	232
2. 植物病毒的分类和鉴定	232
3. 植物病毒的命名	233
第二节 植物病毒病的症状	234
1. 症状的类型	234
(1) 花叶	234
(2) 变色	235

(3) 环斑和斑纹	235
(4) 坏死	235
(5) 矮缩和畸形	236
2. 组织内部变化的诊断意义	237
3. 细胞的内含体	237
(1) 内含体的种类	237
(2) 内含体检查诊断的意义	237
(3) 内含体的检查方法	238
〔1〕 直接检查	238
〔2〕 直接染色检查	238
〔3〕 固定染色检查	238
4. 生理变化的测定	240
第三节 症状类似病毒病的病害	240
1. 类菌原体病害	240
(1) 类菌原体病害的发现	240
(2) 类菌原体病害的诊断	241
〔1〕 病毒粒体检查	241
〔2〕 类菌原体检查	241
〔3〕 四环素类的治疗作用	241
(3) 类菌原体的分离、培养和接种	241
2. 虫毒	242
(1) 虫毒的病状	242
(2) 虫毒的诊断	243
3. 生理性病害和药害	244
第四节 植物病毒的传染——接种实验	244
1. 机械传染	244
(1) 机械接种的方法	245
〔1〕 病株汁液摩擦接种	245
〔2〕 喷枪接种法	245
〔3〕 病组织直接接种法	245
〔4〕 注射接种法	245
(2) 影响汁液摩擦接种效率的因素	245
〔1〕 接种植物	245
〔2〕 接种材料	246
〔3〕 接种汁液和添加物	246
〔4〕 磨料	246
〔5〕 水洗的影响	246
(3) 机械传染病毒的钝化	246
〔1〕 致死温度	247
〔2〕 稀释限点	247
〔3〕 体外保毒期	247
〔4〕 抗药力	247
2. 嫁接传染	248
(1) 顶接法	248
(2) 侧接法	248
(3) 靠接法	248
(4) 套接法	248
3. 菟丝子传染	249
4. 昆虫和螨的传染	249
(1) 蚜虫传染	249

〔1〕 蚜虫传染的病毒类型	249
〔2〕 蚜虫的饲养和转移	250
〔3〕 蚜虫传染实验方法	251
(2) 叶蝉和飞虱传染	252
〔1〕 叶蝉传染的方式和类型	253
〔2〕 叶蝉的饲养和转移	253
〔3〕 叶蝉传染实验方法	253
〔4〕 经卵传染	253
〔5〕 病毒在虫媒体内的繁殖	253
5. 种子和花粉的传染	254
(1) 种子传染实验	254
(2) 种子内病毒的检查	254
(3) 花粉传染实验	254
(4) 病毒在植株间的花粉传染	254
6. 土壤传染	255
(1) 土壤线虫的传染	255
〔1〕 田间观察	255
〔2〕 病土接种	255
〔3〕 线虫接种	256
〔4〕 土壤处理	256
(2) 土壤真菌的传染	256
第五节 寄主范围和鉴别寄主	256
1. 寄主范围	256
2. 鉴别寄主	257
3. 局部病斑寄主	257
第六节 病毒的分离和提纯	260
1. 植物病毒的分离	261
(1) 一般分离办法	261
(2) 混合感染病毒的分离	261
(3) 病毒株系的鉴别	261
〔1〕 症状和其他生物学性状的改变	261
〔2〕 株系的干扰现象	262
〔3〕 血清学的测定	262
〔4〕 其他方法	262
(4) 病毒的纯化	262
2. 植物病毒的提纯	263
(1) 提纯病毒的繁殖	263
(2) 病株汁液的制备	264
(3) 病株汁液的澄清	265
〔1〕 低速离心和过滤	265
〔2〕 加热和冰冻溶化	265
〔3〕 汁液的酸化	265
〔4〕 硫酸铵盐析	265
〔5〕 有机溶剂的提取	265
〔6〕 吸附剂的处理	266
(4) 病毒的初提纯	266
〔1〕 超离心法	266
〔2〕 沉淀法	266
(5) 病毒的精提纯	267
〔1〕 密度梯度离心法	267
〔2〕 电泳法	267
〔3〕 柱型色层分离法	267
第七节 植物病毒血清学	269

1. 植物病毒抗血清的制备	269
2. 沉淀反应	270
(1) 玻管沉淀反应法	270
(2) 环状沉淀反应法	271
(3) 微量沉淀反应法	271
〔1〕 玻片微量沉淀法	271
〔2〕 矿物油下微量沉淀法	271
(4) 琼胶扩散法	271
〔1〕 双相扩散法	271
〔2〕 单相扩散法	272
3. 凝集反应	273
(1) 叶绿体凝集反应	273
(2) 膨润土絮凝反应	273
(3) 红血球凝集反应	274
〔1〕 直接红血球凝集法	274
〔2〕 红血球凝集抑制法	274
4. 荧光抗体	274
(1) 荧光抗血清的制备	274
(2) 检查组织的准备	275
(3) 切片或涂片的染色	275
5. 病毒血清学反应测定注意的问题	275
第八节 植物病毒的电子显微镜	
观察	276
1. 金属蒸气投影和染色法	276
2. 病株直接取样观察	276
第九节 植物病毒定量	277
1. 侵染性测定法	277
(1) 机械传染的病毒	277
〔1〕 局部病斑法	277
〔2〕 淀粉斑反应法	278
〔3〕 系统感染率的测定法	278
(2) 虫媒传染的病毒	278
2. 血清学反应定量法	278
(1) 沉淀反应限点定量法	279
(2) 最适比值定量法	279
3. 电子显微镜计数	279
4. 物理和化学方法	279
第十节 植物病毒病的防治	280
1. 虫媒传染的防止	280
2. 索引法	280
3. 病毒在植株内的分布和分生组织培养	282
4. 热处理治疗	283
第十二章 植物线虫病	284
第一节 植物寄生线虫的采集	284
1. 线虫病的症状	284
2. 标本的采集	284
(1) 病变组织的采集	284
(2) 病根和根际土壤的采集	285

(3) 样本的保存.....	285
第二节 线虫的分离	285
1. 植物材料中线虫的分离.....	285
(1) 直接观察分离法.....	285
(2) 漏斗分离法.....	285
(3) 培育分离法.....	286
(4) 组织捣碎分离法.....	286
2. 土样线虫的分离	286
(1) 直接过筛法.....	287
(2) 线虫滤纸分离法.....	287
(3) 沉降分离法.....	287
(4) 漂浮淘析分离法.....	288
(5) 漂浮分离法.....	289
〔1〕 简易漂浮法.....	289
〔2〕 漂浮器分离法.....	289
第三节 线虫玻片标本的制作	290
1. 杀死和固定	290
(1) 杀死.....	290
(2) 固定.....	290
〔1〕 碘液.....	290
〔2〕 福尔马林冰醋酸固定液.....	290
〔3〕 福尔马林冰醋酸酒精固定液.....	290
〔4〕 三羟基乙胺福尔马林固定液.....	291
〔5〕 布因固定液.....	291
2. 脱水.....	291
(1) 甘油酒精快速脱水法.....	291
(2) 乳酚油快速脱水法.....	291
(3) 甘油快速脱水法.....	292
(4) 甘油缓慢脱水法.....	292
3. 染色.....	292
(1) 植物组织内线虫的染色.....	292
〔1〕 碘液染色法.....	292
〔2〕 棉蓝乳酚油染色法.....	292
〔3〕 猩红R染色法.....	292
〔4〕 溴酚蓝或溴百里蓝染色法.....	293
(2) 固定线虫的染色.....	293
(3) 线虫活体的染色.....	293
4. 制片和封固	294
(1) 临时玻片.....	294
(2) 永久玻片.....	294
〔1〕 一般制片和封固法.....	294
〔2〕 阿拉伯胶混合液封固法.....	295
〔3〕 胞囊标本的制作.....	295
〔4〕 线虫横断面标本制片法.....	295
〔5〕 异皮线虫会阴部分标本的制作.....	295
(3) 石蜡切片.....	296
第四节 线虫的计数和计测	297
1. 线虫的计数	297
(1) 植物组织或土壤中分离到的线虫计数.....	297
(2) 根部胞囊线虫的计数.....	297
(3) 根组织内线虫的计数.....	297

2. 线虫死活的鉴别	297
(1) 刺激法.....	297
(2) 染色法.....	298
(3) 体形的变化.....	298
(4) 荧光检验法.....	298
3. 线虫的计测与记载	298
(1) 德曼氏公式.....	298
(2) 柯柏氏公式.....	299
第五节 线虫的培养和接种	299
1. 线虫的培养.....	299
(1) 培养基上单独培养.....	299
〔1〕 卵磷脂组合培养基.....	299
〔2〕 麦芽粉琼脂培养基.....	300
〔3〕 其他培养基.....	300
(2) 真菌上的培养.....	300
(3) 植物组织上的培养.....	301
2. 线虫的接种	301
(1) 线虫的单独接种.....	301
〔1〕 带虫材料的混播混栽法.....	301
〔2〕 喷雾接种法.....	301
〔3〕 伤口接种法.....	302
(2) 线虫与其他病原物的混合接种.....	302
第六节 植物线虫病的调查	302
1. 调查方法.....	302
2. 记载方法.....	302
(1) 根结线虫为害的记载标准.....	302
(2) 胞囊线虫为害的记载标准.....	303
(3) 茎线虫为害的记载标准.....	303
3. 损失的估计	303
第十三章 切片机切片和染色方法.....	304
第一节 轮转切片机切片——石蜡切片法	304
1. 固定.....	304
(1) 固定的药品.....	305
〔1〕 酒精.....	305
〔2〕 福尔马林.....	305
〔3〕 醋酸.....	305
〔4〕 铬酸.....	305
〔5〕 钨酸.....	305
〔6〕 升汞.....	306
〔7〕 苦味酸.....	306
(2) 固定液.....	306
〔1〕 福尔马林醋酸酒精固定液 (FAA).....	306
〔2〕 铬酸醋酸福尔马林固定液.....	306
〔3〕 铬酸醋酸钨酸固定液.....	307
〔4〕 铬酸醋酸固定液.....	307
〔5〕 氧化二乙烯固定液.....	307
(3) 固定方法.....	307
2. 脱水.....	308
(1) 丁醇.....	308

〔1〕 特丁醇.....	308
〔2〕 正丁醇.....	309
(2) 氧化二乙烯.....	309
(3) 酒精.....	309
(4) 苯.....	310
(5) 丙酮.....	310
3. 石蜡渗透.....	310
4. 包埋.....	311
5. 切片.....	312
(1) 固着.....	312
(2) 切片刀的角度.....	312
(3) 切片刀的保养.....	312
(4) 切片的厚薄.....	312
6. 粘贴.....	313
7. 去蜡.....	314
8. 染色.....	314
(1) 染料的性状.....	314
(2) 常用染料的性能.....	317
〔1〕 苏木精.....	317
〔2〕 酸性品红.....	317
〔3〕 碱性品红.....	317
〔4〕 藏红 O.....	317
〔5〕 结晶紫和龙胆紫.....	317
〔6〕 曙红 Y.....	317
〔7〕 赤藓红.....	317
〔8〕 苏丹Ⅲ和苏丹Ⅳ.....	317
〔9〕 橙 G.....	317
〔10〕 苯胺蓝.....	318
〔11〕 卡红.....	318
〔12〕 亚甲蓝.....	318
〔13〕 中性红.....	318
〔14〕 浅绿 SF.....	318
〔15〕 坚牢绿 FCF.....	318
(3) 染色方法的三个典型.....	318
〔1〕 单染——铁矾苏木精染色法.....	319
〔2〕 复染——藏红 O 坚牢绿染色法.....	320
〔3〕 三重染——弗蓝敏三重染色法.....	320
(4) 植物组织中细菌和真菌的染色.....	321
〔1〕 苯酚品红染色法.....	321
〔2〕 苏木精曙红 Y 染色法.....	321
〔3〕 硫堇蓝橙 G 染色法.....	321
〔4〕 结晶紫染色法.....	322
9. 透明.....	322
10. 封固.....	322

第二节 滑行切片机切片——木材

切片..... 322

1. 切片.....	322
2. 染色.....	323
(1) 苏木精藏红 O 染色法.....	323
(2) 藏红 O 苯胺蓝染色法.....	323
(3) 藏红 O 浅绿染色法.....	323
(4) 硝酸银染色法.....	323

第十四章 抗病性和致病性分化测定..... 324

第一节 名词说明..... 324

1. 植物的抗病性.....	324
2. 病原物致病性的分化.....	326

第二节 典型病害..... 327

1. 小麦秆锈病..... 327

(1) 菌种的采集、培养、纯化和保存.....	327
〔1〕 采集.....	327
〔2〕 培养和纯化.....	327
〔3〕 保存.....	328
(2) 锈菌的接种.....	328
〔1〕 注射接种.....	328
〔2〕 苗期叶面接种.....	328
(3) 抗性的测定.....	329
〔1〕 苗期接种的测定.....	329
〔2〕 病圃的测定.....	331
(4) 致病性的分化.....	331
〔1〕 生理小种的温室苗期鉴定.....	331
〔2〕 生理小种的病圃鉴定.....	333

2. 黑粉病..... 333

(1) 黑粉病的接种物.....	333
(2) 抗性的测定.....	334
〔1〕 小麦和大麦散黑穗菌.....	334
〔2〕 小麦腥黑穗菌和秆黑粉菌、裸大麦 坚黑穗菌、高粱两种粒黑穗菌和粟 粒黑穗菌.....	335
〔3〕 燕麦散黑穗菌和坚黑穗菌、有皮大 麦的坚黑穗菌.....	335
〔4〕 小麦矮腥黑穗菌.....	335
〔5〕 高粱和玉米丝黑穗菌.....	335
〔6〕 玉米黑粉菌.....	335
〔7〕 甘蔗黑穗菌.....	336
(3) 致病性的分化.....	336

3. 白粉病..... 337

(1) 白粉病的接种物.....	337
(2) 抗性的测定.....	337
〔1〕 大田测定.....	337
〔2〕 苗期接种测定.....	338
(3) 致病性的分化.....	338
〔1〕 苗期接种鉴定.....	338
〔2〕 叶片离体接种鉴定.....	338

4. 稻瘟病..... 339

(1) 接种物的准备.....	339
(2) 抗性的测定.....	339
〔1〕 病圃测定.....	340
〔2〕 苗期接种测定.....	340
〔3〕 叶稻瘟抗性的其他接种测定法.....	341
〔4〕 穗颈瘟的抗性测定.....	341
〔5〕 品种水平抗性的测定.....	342
(3) 致病性的分化.....	342

5. 玉米大斑病和小斑病..... 343

(1) 抗性的测定.....	343
----------------	-----

〔1〕自然发病田和大田人工接种测定	343
〔2〕苗期接种测定	345
(2)致病性的分化	345
6.枯萎病(附黄萎病)	346
(1)抗性的测定	346
〔1〕病田测定	346
〔2〕苗期接种测定	347
(2)致病性的分化	348
7.水稻纹枯病	349
(1)抗性的测定	349
〔1〕病田测定	349
〔2〕病圃苗期接种测定	349
(2)致病性的分化	350
8.黄瓜霜霉病	350
9.马铃薯晚疫病	350
(1)抗性的测定	350
〔1〕过敏性反应测定	351
〔2〕田间抗性的测定	351
〔3〕过氧化氢酶的测定	352
(2)致病性的分化	352
10.水稻白叶枯病	353
(1)抗性的测定	353
〔1〕自然发病田观察	353
〔2〕大田喷雾接种诱发	353
〔3〕成株期伤口接种	354
〔4〕苗期伤口接种	357
(2)致病性的分化	358
11.黄瓜细菌性角斑病	358
(1)抗性的测定	359
(2)致病性的分化	359
12.青枯病	359
(1)抗性的测定	359
〔1〕病田测定	359
〔2〕苗期接种测定	360
(2)致病性的分化	360
13.烟和其他作物的花叶病	361
(1)抗性的测定	361
〔1〕温室苗期接种	362
〔2〕田间接种	362
(2)致病性的分化	363
14.马铃薯病毒病	363
(1)抗性的测定	364
〔1〕抗侵染的测定	364
〔2〕过敏性反应的测定	364
〔3〕免疫性的测定	364
(2)致病性的分化	364
15.水稻病毒病	365
(1)大田抗性测定	365
(2)苗期接种测定	366

第十五章 病害的流行、预测和防治 367

第一节 病害的流行 367

1.病害发生的季节性与气候的关系	367
2.孢子的产生和传播	367
(1)孢子的产生	367
(2)孢子传播的测定	368
〔1〕培养皿培养法	368
〔2〕玻片粘着法	368
〔3〕孢子吸取法	368
3.孢子的寿命	368
〔1〕玻片上的干燥法	368
〔2〕棉线上的干燥法	368
〔3〕孢子直接干燥法	369
4.病菌的越冬	369
〔1〕菌核和菌丝体死活鉴别法	369
〔2〕真菌孢子死活鉴别法	369
〔3〕细菌死活鉴别法	369

第二节 病害的预测 370

第三节 病害防治 370

1.杀菌剂的研究	370
(1)杀菌剂毒性的测定	370
〔1〕抑制作用的测定	370
〔2〕杀死作用的测定	371
(2)毒性测定试验的分析	371
(3)杀菌剂防治效果的测定	371
〔1〕种子处理药剂	371
〔2〕土壤处理药剂	372
〔3〕喷洒及撒粉剂	372
(4)药剂的持久性试验	372
〔1〕玻片测定法	372
〔2〕植物表面药剂测定法	372
2.种子检验	373
(1)检验目的	373
(2)检验方法	373
〔1〕肉眼检查	373
〔2〕显微镜检查	373
〔3〕萌芽检查	373
〔4〕分离检查	374
〔5〕索引法	374

第十六章 资料的收集和整理 375

第一节 植物病害文献 375

1.文献收集提纲	375
2.文献来源	376
3.文献的记载	376

第二节 试验结果的统计分析 376

1.平均数、标准差、变异量、变异系数	377
2.两个平均数的比较—t 测验	378
3.变异量分析法	380
(1)拉丁方排列法	381
(2)随机排列法	381
4.对比法试验的分析	382

5. 回归和相关	383
(1) 回归分析	383
(2) 相关系数	384
第三节 图表	385
1. 图	385
(1) 简单线图	385
(2) 散点图	386
(3) 间断性柱形图	386
(4) 连续性柱形图	386
2. 表格	387
3. 绘图	388
第四节 摄影	388
1. 照相机的性能	388

(1) 镜头的焦距	388
(2) 镜头的快慢	389
(3) 光圈	389
2. 滤色片	390
3. 标本的摄影	392
4. 显微摄影	392
第五节 报告	393
1. 准备提纲	393
2. 准备图表	393
3. 报告写作	394
附录 重要化学药品译名对照表	395
补充文献	401

第一章 植物病害的调查

植物病害的分布和为害，发生时期和症状的变化，栽培和环境条件的影响，品种在生产中的表现，以及防治效果等，都要通过调查才能掌握。

无论是那一种调查，目的确定后，所用的方式和方法要符合调查的要求。因此调查前要作充分的准备，调查后对掌握的材料，要很好研究分析。许多问题不是通过一次调查就能作出结论的。调查工作中经常会发生以下这些情况：（一）没有代表性，有些调查工作是片段的，地点也没有选好，调查结果不能反映当地的真实情况；（二）资料不完全，事前没有具体规定所要收集的资料，事后发现已经太迟；（三）发病程度记载不一致，是最常发生的问题，以致各方面的资料不能分析和比较；（四）损失估计错误，这方面可发生的偏差更大，有的是由于估计没有根据，有的是由于主观片面而将损失估计过高。

第一节 调查的类别

病害调查有一般调查、重点调查和调查研究，它们之间的界限不是绝对的，区分的意义在于明确调查目的和采取的方法。

1. 一般调查

当一个地区有关病害发生情况的资料很少，可先进行一般调查。调查的面要广，并且要有代表性。调查的病害种类很多，但对发病率的计算并不要求十分精确。植物检疫性病害调查的性质相似，但目标更加明确，任务是了解这些病害是否发生和发生的地区。

对一般发病情况的调查，为了节约人力和物力，调查次数可以少一些，最好是在发病盛期进行，有一次或两次就够了。如小麦病害调查的适当时期，叶枯病是在抽穗前，条锈病是在抽穗期，叶锈病可以迟一些，秆锈病、赤霉病、腥黑穗病和线虫病等可以迟到完熟期。如果一次要调查几种作物或几种病害的发生情况，可以选一个比较适中的时期。

一般性病害调查，主要是了解病害的分布和发病程度，可以参考如“大麦病害调查记载”方式。

2. 重点调查

经过一般调查发现的重要病害，可作为重点调查的对象，深入了解它的分布、发病率、损失、环境影响和防治效果等。重点调查的次数要多一些，发病率的计算也要求比较准确。比较深入的重点调查，可以参考“作物病害调查记载”方式。

大麦病害调查记载

调查地点 _____ 调查日期 _____ 调查人 _____

病 害 名 称	发 病 率										平 均
	第一田	第二田	第三田	第四田	第五田	第六田	第七田	第八田	第九田	第十田	
散 黑 穗 病											
坚 黑 穗 病											
白 粉 病											
条 纹 病											
网 斑 病											
条 点 病											
叶 锈 病											
秆 锈 病											
其 他											

* 重要病害记载发病率，次要病害和很少发现的病害记载有无。

作物病害调查记载

调查地点和社队名称 _____ 调查日期 _____ 调查人 _____ 作物 _____

品种 _____ 种子来源 _____ 病名 _____

发病率和田间分布情况 _____ 土壤性质和肥沃度 _____

土壤湿度 _____ 灌溉和排水情形 _____ 施肥情形 _____

耕作栽培方法（指出特点） _____

当地温度和降雨（注意发病前和病害盛发时的情形） _____ 有没有其他重要的病虫害 _____

防治方法和防治效果 _____ 群众经验 _____

3. 调查研究

调查研究和重点调查的界限是很难划分的，但调查研究一般不是对一种病害作全面的调查，而是针对其中某一个问题。调查的面不一定要广，但是要深入。除田间观察外，更要注意访问和座谈。由于各种调查研究的内容不同，很难有比较统一的调查表格。

调查研究不需要很多的设备，农田就是实验地，所以实验规模之大和各种对比处理之多，远远超过一般实验研究。许多植物病害问题，是通过调查研究或者是在调查研究的基础上解决的。调查研究和实验研究是互相配合的。调查研究中发现的问题，有些可以通过实验研究得到解决。同时试验研究又为调查研究提出了新的任务，具体地说，也就是提出了需要进一步调查的项目。通过不断地调查研究和实验研究，才能逐步提高对一种病害的认识。