

植物病害診斷与病原識別

病 毒

(植物保护专业参考教材)

华北农业大学植保系植病教研組

1975年9月

毛主席語錄

列宁为什么說对资产阶级专政，这个问题要搞清楚。这个问题不搞清楚，就会变修正主义，要使全国知道。

思想上政治上的路线正确与否是决定一切的。

农业学大寨。

教育必須为无产阶级政治服务，必須同生产劳动相結合。

一个正确的認識，往往需要經過由物质到精神，由精神到物质，即由实践到認識，由認識到实践这样多次的反复，才能夠完成。这就是馬克思主义的認識論，就是辯証唯物論的認識論。

要把一个落后的农业的中国改变成为一个先进的工业化的中国，我們面前的工作是艰苦的，我們的經驗是很不夠的。因此，必須善于学习。

讀書是学习，使用也是学习，而且是更重要的学习。

改訂学制，廢除不急需与不必要的課程，改变管理制度，以教授战争所必需之課程及发揚学生的学习积极性为原则。

不破不立。破，就是批判，就是革命。破，就要講道理，講道理就是立，破字当头，立也就在其中了。

同病虫害作斗争。

前 言

无产阶级文化大革命以来，在毛主席革命路线指引下，全国“农业学大寨”的形势一派大好，在农业连年丰收的基础上，又出现了令人鼓舞的跃进形势。以党的基本路线为纲，学理论，促干劲，使植物保护战线的工作不断向前发展。

在贯彻农业八字宪法“保”字的过程中，同修正主义路线作斗争，“同病虫害作斗争”，批判洋奴哲学、科学神秘论及群众落后论，以政治统帅业务，依靠群众，并树立人定胜天的信心。在党的一元化领导下，一支以贫下中农为主体的植保科技队伍正在茁壮成长。这支群众性的农业科技队伍，将在同农作物病虫害的斗争中，在“把国民经济搞上去”的事业中，为巩固无产阶级专政作出更大的贡献。

为了战胜植病灾害，必须向造成植物病害的病原微生物真菌、细菌及病毒作斗争。首先要了解斗争对象，由表及里的识别症状和病原，掌握病原物的特性，进一步了解病害的发展规律，从而才能明确防治上的主攻方向。

造成植物毒病的病毒，由于比真菌及细菌还小得多，从形态上见到它还是近三十年来发现电子显微镜以后的事，所以人们对病毒比较生疏，但是它在农作物中的为害却不平凡，已由过去为害烟草、果蔬发展到禾本科大田作物，经常给农业生产带来一定的损失，是农作物高产稳产的敌人。为此，本教材介绍了植物病毒的本质、侵入及传播特点，并着重编写了毒病的症状类型，病毒的电镜形态以及在生物学、物理学和抗血清等一般常用鉴别病毒的基本知识及技术，同时以较大篇幅编入了包括近几年提出的菌原质及类病毒在内的重要农作物病毒类型检索表，属于工具书，可供植保专业工农兵学员及广大植保工作干部在生产防治及科研时，向自然作斗争的参考。

由于农作物病毒病害种类复杂，症状的变化幅度较大，我们的实践经验很少，吸收和总结群众的经验不够，特别是检索表部分，只是按照目前已有的资料及认识来安排，可能其中有与实际情况不完全符合的地方，因此还有待在今后的实践中不断修改提高。在“教育必须为无产阶级政治服务，必须同生产劳动相结合”的教育方针下，去伪存真，去粗取精加以批判吸收。必须按照“一个正确的认识，往往需要经过由物质到精神，由精神到物质，即由实践到认识，由认识到实践这样多次的反复，才能够完成。”的教导不断认识不断提高，使这门科学为无产阶级政治服务，为广大贫下中农服务，为防治病毒病害服务。在进一步贯彻农业八字宪法中有所发展，有所前进。为我国的农业大上快上服务。

本教材错误地方，希望批评指正。

植物毒病诊断与病原鉴定

目 录

一、植物病毒的本质.....	1
二、植物病毒的侵入及传播.....	2
三、病毒病害的诊断.....	3
(一) 症状类型及其变化.....	3
(二) 传染方式的确定.....	9
(三) 寄主范围及鉴别寄主的测定.....	13
(四) 病毒的致死温度, 稀释限点及存活期的测定.....	14
(五) 病毒的提纯及电镜观察.....	14
(六) 病毒的抗血清制备及抗血清反应测定.....	16
四、重要农作物主要病毒类型的检索(包括类菌原质及类病毒).....	18
(一) 小麦上的病毒类型.....	18
(二) 水稻上的病毒类型.....	20
(三) 玉米上的病毒类型.....	21
(四) 十字花科作物上的病毒类型.....	22
(五) 茄科作物上的主要病毒类型.....	23
(六) 瓜类作物上的病毒类型.....	27
(七) 大豆、蚕豆及芸豆上的病毒类型.....	28

一、植物病毒的本質

植物病毒是现在所知最为微小及结构简单的生命体，由于它们能够增殖，因此把它们归入生物，但也有认为是介于生命与非生命之间的东西。它们的结构简单，一般分成外面由蛋白组成的衣壳和由内部核酸组成的核心。各种病毒的特性主要决定于它们核酸的组成及排列，另外也同组成蛋白的氨基酸的不同有关。植物病毒的核酸主要为核糖核酸（RNA），而动物病毒的核酸主要为去氧核糖核酸（DNA）。

整个病毒的个体称为病毒粒体（Virion），这种粒体有多种形态，例如杆状的、截杆状的、子弹状的、球状的（或称等径多面体的）、线条状的等等。特别的是寄生在细菌上的病毒（称作噬菌体的）往往在球体或多角体外有一条“尾巴”，因此呈蝌蚪状。

病毒不象其他微生物那样能消化其他生物的组成以作为自己的营养之用，因为它们不具有消化或分解物质的酶，因此它们不能在死亡的生物细胞中活动，它们只能在活的细胞中，利用活细胞中的各种现成的有机物质来合成象它们自己一样的核酸和蛋白衣壳，因此看起来这也象是一种“繁殖”，但这种“繁殖”方式同细菌或其他微生物都是不一样的。也可以说是一种非常原始的“繁殖方式”。

病毒也象其他微生物一样，能受外界的物理和化学因素的影响，发生钝化、分解等现象。病毒之间也有“杂交”现象，那就是两种病毒的核酸之间发生了部分的互换或者它们的衣壳发生了互换等等，因此在自然界经常出现病毒的变异。那些变化比较小的病毒往往称为一种病毒的变株（Variant）或株系（Strain）。

病毒的体积同细菌比起来是小多了。一种小型的球状细菌的直径大约是300微毫米（ μm 或 nm ），但是一种最大的球状病毒的直径只能达120微毫米而最小的不到20微毫米。一个小型的杆状细菌的宽度可以达300微毫米而一个最宽的长条病毒的宽度只能达24微毫米。由于光学显微镜只能看到长及宽都超过200微毫米的物体，所以在我们所用的最高倍的光学显微镜下不能看到病毒粒体，而必然要采用电子显微镜。较好的电子显微镜能分辨出1微毫米的物体。

近年来发现，有一些“病毒病”不是由病毒所致而是由一种比病毒粒体大得多的有机体所致。这种有机体很象细菌，但没有细胞壁，因此形态就不固定，有时是球状，有时又可以象变形虫状，其组成也比病毒复杂得多。有人认为可能是细菌的可滤性阶段，但细菌的可滤性阶段（即无细胞壁阶段）是能恢复细胞壁的，而这种有机体永远不能恢复细胞壁，现在称这种有机体为菌原质或支原菌（mycoplasma）的类似体，菌原质早在动物中发现为一种病原物。植物病害的病原物所谓菌原质不一定同动物的完全相同，因此简称为类菌原质。另一类病毒称为不完全病毒，因为它们的核酸不能合成蛋白衣壳，因此又称作类病毒（Viroid）。

二、植物病毒的侵入及传播

植物病毒只能通过植物表皮细胞上的极细微的伤口（即不影响细胞生命的伤口）侵入植物体内。因此在植物茎叶表皮摩擦致伤的部位可以侵入，同时也可以通过刺吸口器的昆虫，在它们饲食时把病毒带入细胞内。此外用一切嫁接的方法也可以由带病毒的接枝或接芽把病毒传到无病毒的接本上去。

病毒一旦侵入合适的寄主后，便在细胞中大量增殖。在一个细胞中增殖的病毒又可以通过细胞之间小通道称作胞间连丝（Plasmodesma）的扩展到邻接的细胞中去，而扩展得更快的是通过维管束中的韧皮部的筛管，向植物的上下转移。各种病毒在植物的什么组织中才能大量繁殖是各不相同的。有些病毒在叶肉组织或薄壁组织中就能繁殖，而有些病毒只能在韧皮组织中繁殖，更有少数病毒只能在木质部繁殖。

一株发病的植物并不是所有细胞或所有组织中都有病毒的，因为病毒在植物体内的分布是极不均匀的。此外在衰老的部分，病毒的量就极小，而在生长发育旺盛的部分病毒的量就较大。

在自然情况下，病毒是如何传播的呢？

主要的传播方式是依靠昆虫及螨类。另外是依靠无性繁殖，例如接枝、接芽、分根及压条等。比较少的是依靠土壤中的真菌及线虫。有少数病毒可以通过花药来传染。病植物结的种子只有一部分带有病毒。并非所有植物病毒都能通过种子来传播。即使是一种植物的某一种病毒能通过种子传布，也不是所有的种子全都带有病毒的，其中只有一部分带毒。虽然说通过摩擦可以传染，但在自然情况下，这种传染方式是有限的。

最重要的是昆虫及螨类的传播。昆虫里面传染一般农作物病毒最多的首先是蚜虫、叶蝉及飞虱。这些都是刺吸口器的昆虫，另外有一些咀嚼口器的昆虫也能传染，但没有刺吸口器的那样普遍和重要。

这些昆虫在传染病毒时可以分为专化性的及非专化性的。所谓专化性的（specific）即是说某一种病毒只能由某一种或几种近缘的虫种来传染，其他都不能传。所谓非专化性（non-specific），即一种病毒可以由类似的刺吸或咀嚼方式的虫种来传染。凡是专化性传染的昆虫或螨和病毒之间往往具有密切的生物学关系，有时传毒昆虫本身就是病毒的一个寄主。这种传毒的昆虫或螨就称作介体（vector）。

从介体的生物学关系来看，一般可以分为三个类型：（一）传毒虫得到病毒后，病毒只在口器部分起传染作用，经过若干次的刺吸或咀嚼寄主植物后，病毒在口器部分就消失了，不能再传染。这一类称作非持久性的（non-persistent），（二）一个介体在得到病毒后，病毒通过胃腸和血淋巴，达到唾腺，通过唾腺分泌的唾液再传染病毒，但病毒不能在这些介体中繁殖或极少繁殖，因此，一旦唾腺的病毒已经完全排出后，便不能再传染了。这一类介体能传染病毒经历的时期，有长有短，视其进入体内的病毒的数量而定，所以称作半持久

性的 (Semi-persistent)。从病毒进入虫体到病毒达到唾腺而能开始传染时需要一段时间, 这一段时间称作循环期 (Circulation period)。

(三) 同半持久性的情况很相象, 但病毒在介体内不断地繁殖, 因此介体一旦得毒后终生都能传染, 至死方休。这就称作持久性的 (persistent)。从病毒进入虫体到病毒繁殖至一定的量而达到唾腺, 并开始能传染, 也需要一段时间。这段时间既包括病毒繁殖的时间, 也包括病毒通过胃肠, 进入血淋巴, 到达繁殖场所, 再进入唾腺的时间, 因此称作潜育期 (Incubation period)。这些生物学关系, 特别是循环期和潜育期的长短往往是鉴别病毒的标志之一, 但是这类时期的长短也是受环境影响的。一般来说最接近于介体生长发育的环境, 这类时期最长, 相反就短。

有少数介体, 能将病毒传给它们的卵, 从而新孵化出来的幼虫就能传毒, 这种方式叫做经卵传染 (Transovarial transmission)。但经卵传染有一定的百分率, 不是全部卵都带病毒。

三、植物病毒的诊断

植物病毒, 由于其体积太小, 在一般的情况下, 不可能直接根据病毒的形态特性来区分它们。在电子显微镜发明以前, 人们也区分出一系列不同的病毒, 那是根据一些间接的生物学特性来区别的。这些早期没有看到病毒粒体以前的区分到后来用电子显微镜观察复证后, 极大多数也是很正确的。当然有一些区分出来的单位, 经过进一步的血清反应试验, 被认为是属于同一类型的也有。这里列出六项诊断要点:

1. 症状的类型及其变化
2. 侵染方式的确定
3. 寄主范围及鉴别寄主
4. 致死温度、稀释限点及存活期
5. 病毒的提纯及电镜观察
6. 病毒的抗血清反应

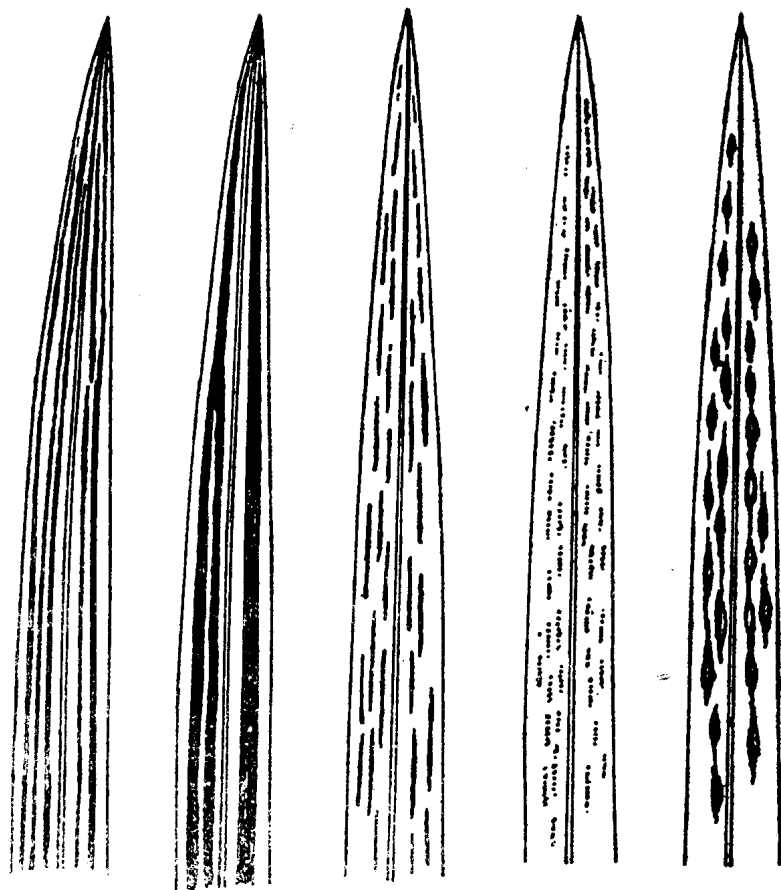
1至4项是属于间接诊断的, 也就是较早时期所用的诊断方法。5至6项是属于直接诊断的方法, 也就是较现代的方法。这里必须指出, 要确定一种病毒, 单用1至4项, 可以作出初步鉴定, 但不能作绝对的结论, 因为绝对的结论必须在进一步作了5及6项才能作出。然而反过来只进行第5项而不进行1至4项, 那么什么鉴定也不能作出。至于第6项, 在具有已知的抗血清情况下, 能单独作结论。如果是一种新的病毒, 还不存在已知的抗血清时, 那么第6项只能告诉人们它不是某一病毒, 而不能告诉你它是什么病毒。因此对一种新病毒来说, 主要必须完成1至5, 最后用第6项来看看它和那一类病毒有亲缘关系。

在过去的间接诊断中, 还采用沉淀常数等物理数据, 现在既然可以直接从电镜中观察病毒的体形及大小, 因此这一项目就不是必要的了。

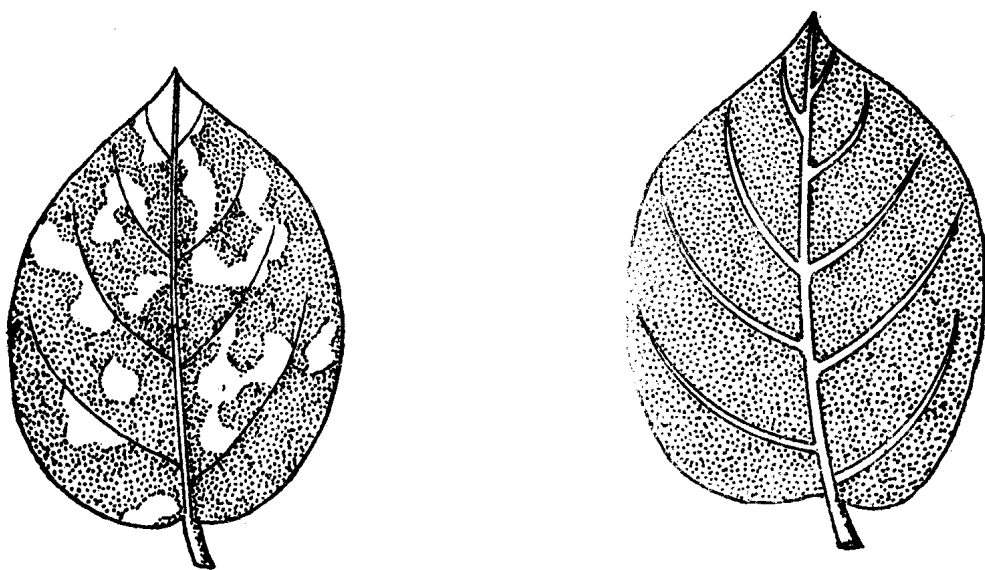
现在把各项的具体内容简述于下:

1. 症状类型及其变化

甲、花叶 (mosaic): 这是指叶片色泽不匀, 形成深绿淡绿, 黄绿相间等症状 (图1)。

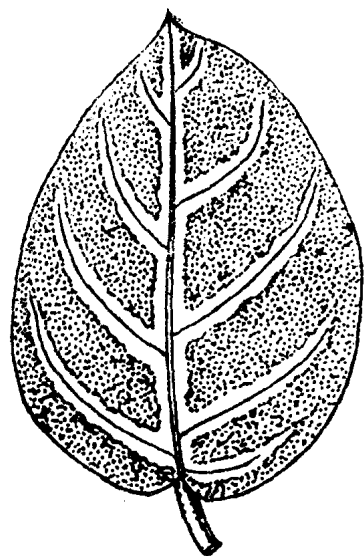


条 纹 条 斑 线 条 条 点 棱条斑



斑 驳 明 脈

图 1 花叶症类



沿脉变色
图1 花叶症类

这一类又可以分为：

斑驳(mottle)：即不同的色泽成为块状或圆斑状的相嵌，大多出现在双子叶植物上，但单子叶植物上有时亦能出现。果实上亦可能出现。

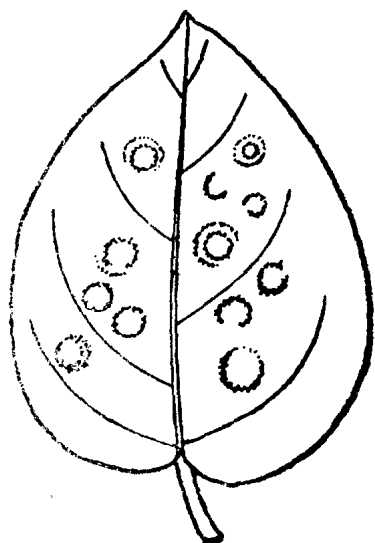
条纹(stripe, streak)条点(striate)：即在单子叶植物的平行叶脉间，出现不同色泽的长条纹，短条纹或由小而短的点及条连续成为虚线状的长条，有时短条是棱形的，即两端狭，中间宽的叫**梭条纹**(Apindle streak)。

沿脉变色(Vein-banding)：即沿着叶脉平行地退色，象银上一道边。

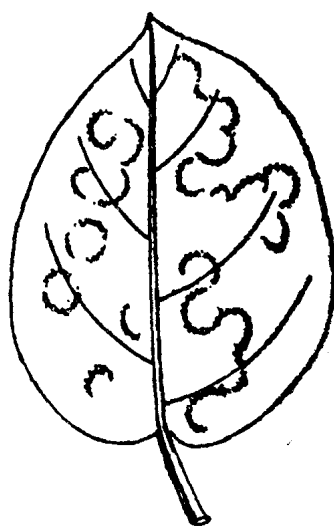
脉明(vein-clearing)：有时亦称明脉，即叶脉成为半透明，这往往是形成花叶症的前期或初期症状。

乙、**环斑(Ring spot)**，**环纹(Ring line)**，**线纹(Line pattern)**，**橡叶纹(Oak line pattern)**：所有这些

指的是在叶面或果面形成单线的或同心纹的环。环的线纹可能是淡色的或枯死的(**环斑**)；如果线条虽有形成环的趋势，但不形成全环而作连续的环状屈曲状，也有单线的或双线的(**环纹**)，如果线纹不成环状那就叫做**线纹**，如果线纹在叶片上形成如一张橡树叶的轮廓，那就叫做**橡叶纹**，有时也称**橡叶症**。(图2图3)

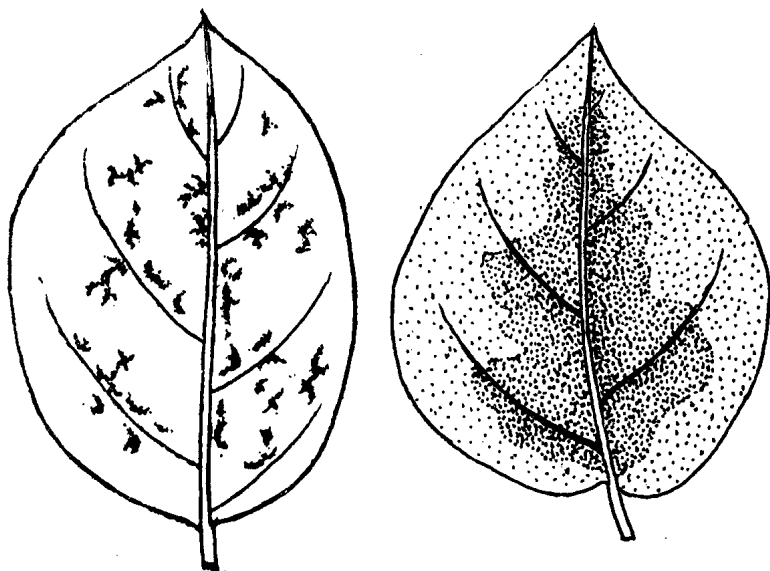


环 斑



环 纹

图2 环斑及环纹症



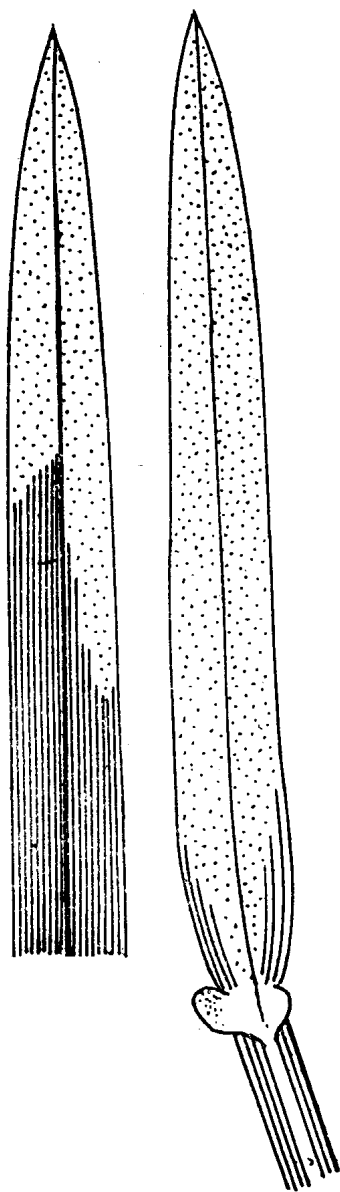
蚀 纹

橡 叶 症

图3 蚀纹及橡叶症

丙、变色：这主要指叶片色泽的全部或局部变成缺少叶绿素（退绿chlorosis），变黄或橙，变红或紫，变深蓝等（图4）

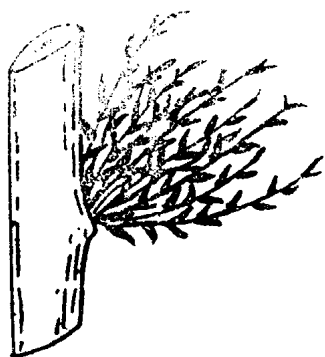
丁、畸形生长：这里包括各种反常的生长现象。（图5图6）



半叶变色

全叶变色

图4 变 色



丛 枝



丛 簇

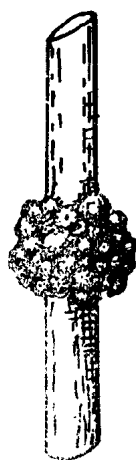
图5 反常生长



扁 枝



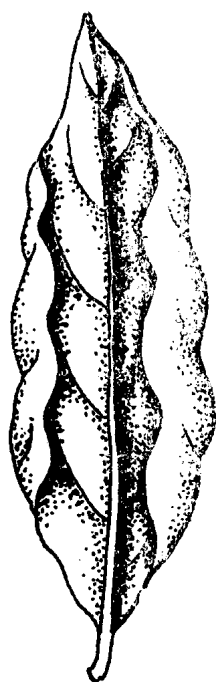
肿 枝



瘤 肿

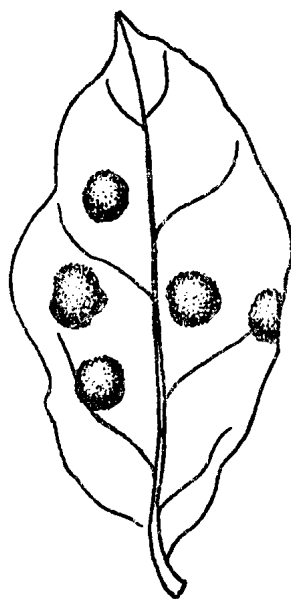
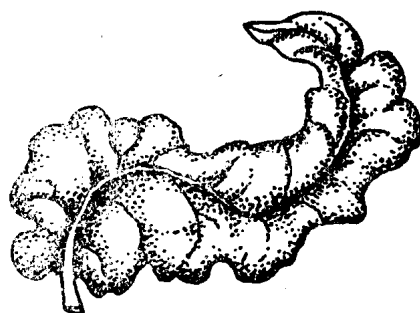


脉 突

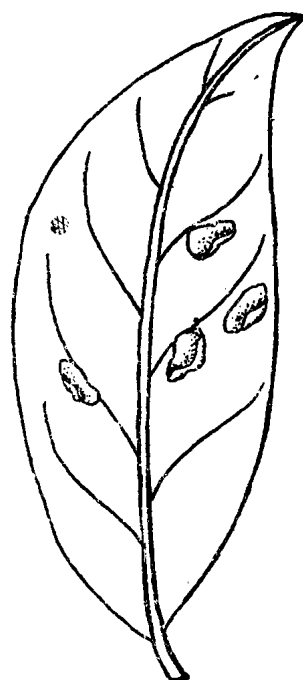


卷 叶

曲叶→



疱 斑



耳 突

图6 反常生长

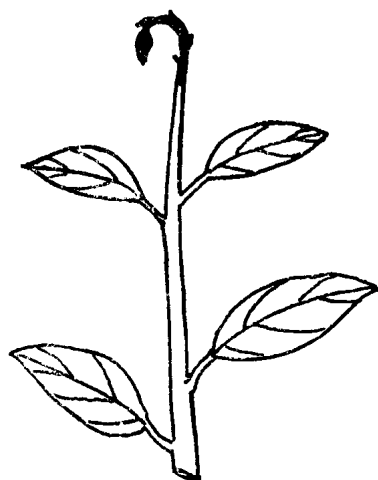
叢枝(witches broom): 在一个芽点上抽出许多瘦弱的枝条, 象帚把一样, 俗称“疯枝”。
叢簇(Rosette): 这是指草本植物从根部或其他生长点上抽出许多分蘖, 形成簇状的丛。
变叶 (phyllody): 即原来应该是花瓣的器官变成叶状, 或花瓣失去原来的色泽而出现叶绿素。

扁枝及肿枝: 即枝条或树干不成为圆柱形而成为扁圆柱形或在某些部位肿大成棒槌状。

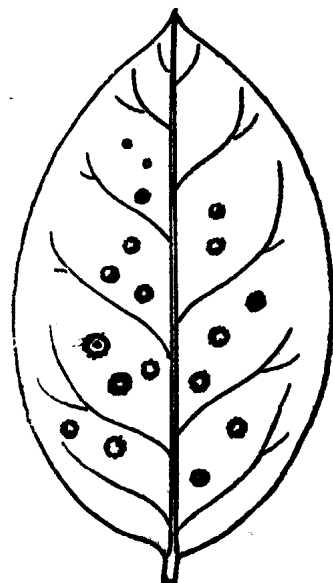
凹穴: 这发生在树木的树皮上, 出现小的陷穴。



坏死条



顶尖坏死



坏死斑



块茎切面中的坏死

图7 坏死

皱缩、疱斑、曲叶(leaf curl)、卷叶(leaf roll): 皱缩是指叶面高低不平, 疱斑是指叶片上有鼓起疱状生长, 曲叶及卷叶的意思有时都指叶片上卷或下卷, 严格来说, 卷向同叶片主脉成直角的叫曲叶; 同主脉平行的叫卷叶。

小叶、小果: 指叶片或果实比一般的瘦小, 有时数量增多。

耳突: (enation) 这是指在叶片的叶脉上长出一些象耳朵状的增生物。

脉突: 指在叶脉上的某些部分, 叶脉变粗而鼓起, 有时甚至变色。

瘤肿: 这是指在病植株任何部位长出的瘤状肿大物。

矮化: 这是指一切节间缩短或停留不能伸长的症状。

戊、坏死及变质 (图5): 坏死 (necrosis) 是指植物的某些组织死亡, 例如在叶片上

发生斑点状的坏死就叫做**坏死斑**，条状的死亡就叫作**坏死条**。在韧皮部可以发生韧皮坏死，在生长点或顶芽可以发生**顶尖坏死**等等。**变质**是指植物组织的质地变软或变硬或不该生长木栓的地方长出木栓等等，此外，在果实表面还可能发生星状裂开（**星裂**）或纵状裂（**纵裂**）等等。

一种病毒所引致的症状，往往不止一种，而且早期和晚期表现的症状也不一致，譬如有些病毒病害在早期发生的症状，往往到后期就隐蔽了。有时我们看到一个名称叫作“**绉缩花叶**”的那就是既有花叶症，也有绉缩症；又如**黄矮病**，那就是既有黄化症又有矮化症。另外一些病名只不过指出其中最主要的症状之一，例如小麦**丛矮**，不过指出它有**丛簇症**又有矮化症而已，实际上还有**条纹花叶症**。

记载症状是诊断的一个重要步骤，但必须注意在自然情况下同一株植物往往可以受两种以上病毒的同时侵染，因此出现一些非常复杂的症状，这类症状只有通过病毒的分离接种才能确知那一种病毒对那一种症状负责。有些症状只有在混合接种时才出现，单独接种时永远不出现。

由此可见，对一个新的病毒病害，不能单凭症状来确认，除非通过上述诸诊断步骤后，才能作出结论。当然对于一些已经确知的病毒病害，可以凭症状来作初步诊断。这种诊断只能指出其主要病原是什么，而不能象其他真菌或细菌病害那样，可以立刻完全排除存在其他病原物的可能性，因为有时确实除主要病毒外，还可能存在着其他病毒。

2. 传染方式的确定

传染方式是诊断一种病毒的重要步骤之一，具体分析，有下述一些侵染方式：

昆虫传染

蚜虫传染

叶蝉传染

飞虱传染

其他昆虫传染

螨传染

线虫、真菌孢子及土壤传染

花药传染及种子传染

病株汁液摩擦传染

嫁接传染及菟丝子桥接传染。

（1）关于昆虫及螨传染方式的测定：

作这一类测定时，不论是何种昆虫或螨都必须饲养在有细网眼的纱笼内，一方面可以通风透光，另一方面可以防止外部昆虫的侵入或内部昆虫的逸出。纱笼的大小形式依培育植物的种类及数量而异。方形的大笼既可以全面用纱，也可以一部分用玻璃，但必须在一面留有两个活动小窗户，以便将手伸入捕虫及工作（图8）。小型的笼既可以仿大型的缩小而不必留小窗户，而应使一面有小门可以启闭。更小型的则可以直径1—2寸的玻璃管，在近底部处开两个孔，蒙上纱网，顶部亦蒙上纱网。这样既便于工作，亦利于通风（见图9）。

所有用来作传染接种试验的昆虫都要确定是不带病毒的。一般不经卵传染的病毒，可以用虫卵在健植株上孵化繁殖，或用初生出来的若虫（例如蚜虫）移到健株上繁殖。如果有可

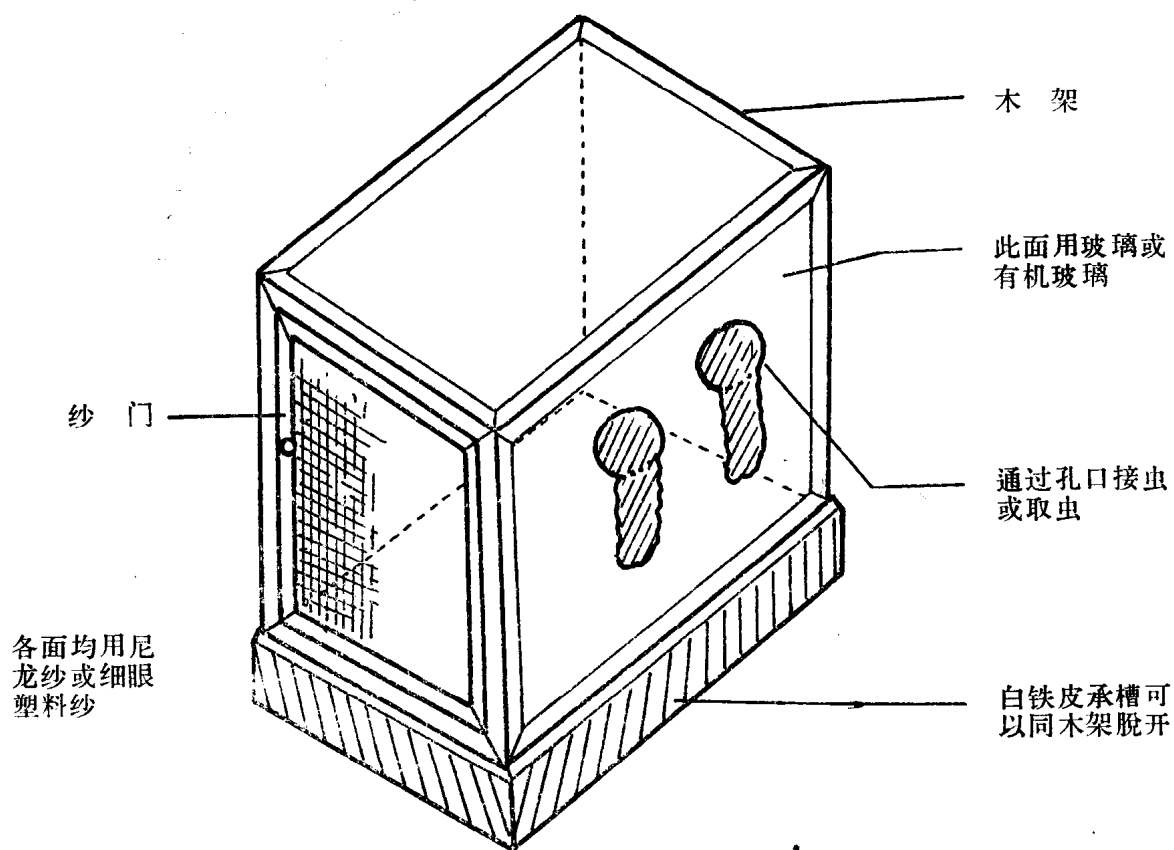


图 8 大型接种笼

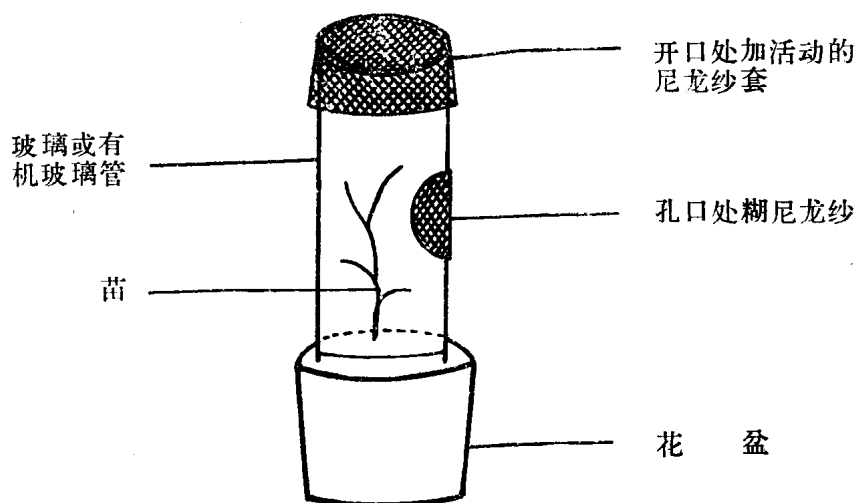


图 9 小型接种笼

能经卵传染的病毒，就必须事先在有关寄主植物上分别饲育雌雄若虫，确定其不能引致病害后，才把它们大量地并笼，使它们交配产卵繁殖。

在接种前必须准备各种龄期的幼苗，每一龄期相差48小时（即每隔48小时播种一次）。给予同样的温湿度及管理，一俟上述条件具备后，即可开始接种。

第一步为得毒饲育。把无毒的3—4龄若虫用吸虫管或毛笔移到拟测定的病株上，一次约30虫，待它们饲育24小时后，将它们分别移至育成的幼苗上，每留3—4头（单子叶植物在2—3叶期，双子叶植物在第一真叶展开期）。在此幼苗上饲育（接毒）48小时后即将它们移到下一龄期（晚播48小时）的幼苗上，再经48小时又移至更下一龄期的幼苗上，依此类推，一直到虫衰老死亡为止。如果一次得毒饲育30头虫，则第一次接种每苗3头，就可以有十个重复。以后每株上的3头带毒虫向下转移，就有十个系列，如下图：

转 移 系 列	
接种重复	
I 1 2 3 4 5	→ X 第一系列
II 1 2 3 4 5	→ X 第二系列
III 1 2 3 4 5	→ X 第三系列
⋮	⋮
X 1 2 3 4 5	→ X 第十系列

经过这样的接种传染试验，可以记录下列诸项，（一）在接种后若干时间开始出现症状？（二）在转移系列中第几次转移才开始发病？（三）在每一系列中，到第几次转移后就不再发病？（四）比较早期症状和后期症状。

通过这样的记录可以得出下述诊断资料：（一）如果每个系列只有第一或第一、二两次转移发病，那么这种病毒是非持久性的。（二）如果在各个系列中第一次发病的植株在若干次转移以后，那么这种病毒的潜育期或循环期为若干天。（三）如果在转移的系列中只有在中间的若干次转移发病，而以后一直到虫死，不再有发病，那就说明这种病毒是半持久性的。（四）如果每个系列从开始发病起，以后每个转移都发病，那就说明这种病毒是持久性的。（五）由于发病有早晚，在整个系列中各种植株龄期的症状可以同时记录和比较。

在作虫传测定时，还有两个数据也应该获得，一个是得毒饲育的最少及最适时间。另一个是接毒饲育的最少及最适时间。作这些测定时，将无毒虫500—600头同时放饲在病株上，经1小时后分批（每批相隔2小时）将放饲过的虫转移到无病同龄幼苗上，每批20头至30头，每苗接2—3虫，经72小时后用药剂灭虫，记录发病率，其发病率开始出现高峰的一批的时间为得毒饲育最适时间，其最早出现发病的一批的时间为得毒饲育最少时间。

测定接毒最少及最适时间时，可以把已经得毒的虫同时放饲在同龄幼苗上，每苗2—3虫，每经一定时间后，用药剂消灭一批接毒虫（每批约10苗），其间隔时间可以定为0.5，1，1.5，3，6，9，15，24，39，63小时，即第一批为经半小时后，第二批经一小时，第三批经一小时半后，按上述类推，全程为63小时共十批。结果以最早发病的一批所经时间为接毒饲育最少时间，以发病开始达到高峰的一批所需的时间为接毒饲育所需最适的时间。

有时为了测定一个病株上什么部位的病毒最浓，最易得毒。这种测定可以把虫封在微型定点饲育笼（见图10）内，定点夹在病株不同部位的叶片上，经最适饲育时间后，按各点分

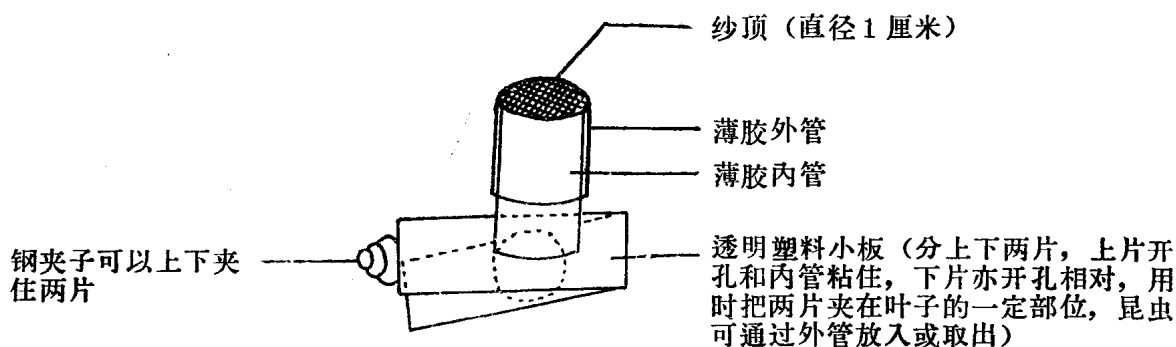


图10 改良麻氏微型接种笼
(叶蝉及蚜虫公用式)

别接种同龄幼苗, 计算其发病率, 以发病率最高的点为病毒浓度最高的部位。

(2) 关于线虫、真菌孢子及土壤传染的测定

线虫接种: 有许多过去被认为是土传病毒的, 现在已经证明可以由多种植物根部外寄生线虫所传染。要确定一种病毒是否可以由线虫所传染, 首先要在自然发病地观察发病植物的情况, 凡可能由线虫传染的病株在田间往往形成一小片一小片的。把这种病株连根部周围的土一起取出, 并把根部所带的土用清水洗下, 然后把土中的线虫用任何一种过筛沉淀法分离出来。把这些线虫倾注在钵内灭菌土的一个小穴中, 立刻把拟接种的植物幼苗移入这个小穴, 并且用灭菌土压实, 以后观察被接种的植物是否发病, 其症状如何? 对照区用同样线虫的滤液, 或用人工在健植物根部繁殖的线虫作接种物。

所有可以用线虫接种的病毒一般可以用汁液摩擦接种来传染, 少数木本植物可以用芽接或嫁接来传染。因此有可能用人工摩擦接种的病株或嫁接接种的病株, 在它们的根部加入已知种类的线虫 (土壤是灭菌的), 使其在根围繁殖, 然后用这种带毒的线虫去接种无病的植株, 如上法。这样可以比较各种线虫在土壤中传染病毒的效率。

真菌孢子接种: 现在也有许多过去认为是土壤传染的病毒已经证明是可以由土壤中的一些真菌的游动孢子或休眠孢子来传染。这些真菌都是属于藻状菌的壶菌目及根肿菌目的一些属, 个别是属于腐霉科的一些种。除腐霉科外, 其他藻状菌都难以在培养基上用人工培养而只能在活植物的根上培养繁殖, 当然也有一些可以在 Knop 氏培养液中培育的植物根上繁殖。利用这类真菌接种时, 可以把在无病株上培养好了的游动孢子或休眠孢子转移到有病植株的根上去, 经 2—3 周后, 再把病株上繁殖了的孢子转移到无病株的根上去, 以后观察无病株是否发病。转移的方法有两种: 一种是把被接种的植株的根系浸在带毒孢子的水中过夜, 然后移栽。另一种是当被接植株移栽到灭菌土中时, 把带毒孢子液浇在根部的周围。方法基本上和线虫接种大同小异。

所谓“土壤传染”实际上都是由土壤中某些生物作为介体的。除了上述已知的因素外, 尚有一些未知的因素。对这类未知的因素在土壤中的传染只能仍称之为“土壤传染”。关于这一类病毒的接种, 只能取磨碎的病根及其周围的土壤作为接种材料, 一旦接种成功后, 再进一步探测其存在于土壤中的传毒介体。接种方法一般是把健苗移栽于病根及病土混合体中, 或直接把种子播于病根及病土混合体中。

(3) 关于花药传染及种子传染的测定

有少数病毒可以通过花药将病毒传染给它授粉的种子，从而使这一种子带有病毒而在发芽后出现症状。另外有一部分病毒能从病株直接地把病毒送入种胚，从而使种子带有病毒。要测定花药是否传毒，可以完全仿照人工杂交的方法，即将无病母株去雄，然后将病株的花药来授粉。把这种授粉的种子播种发芽生长，在其生长过程中观察是否传染了病毒。在生长发育过程中第一要采用灭菌灭虫的土壤，第二要在防虫的条件下进行。至于测定母株中的病毒是否能进入种子并引起病害，可以在病母株上去雄，用健株的花药来授粉，以后观察种子发芽后的表现，条件同前。

(4) 病株汁液摩擦传染的测定

这是最普通的一种接种方法，有一些病毒的侵染力极大，采取少许病组织用研钵研碎，加入5倍至10倍的水，用纱布拧出汁液，其中加入少许金钢砂（磨料400目至500目即可），搅匀，然后用剪去头的羊毛笔，沾汁轻轻在接种的叶面来回拂划即可。接种完后，用清水轻轻洗去叶面多余的汁液及磨料，没有毛笔用洗净的手指头沾汁后摩擦亦可，不能太重，方法很多，这是最普通的。

有一些病毒在研碎时要加一些0.05M的Tris缓冲液（pH7.8），以防止病毒被钝化。

另一些极易丧失活力的病毒在接种时，把7—8张病叶片的小片叠一起，用手指夹紧，用利刀切齐，立刻把切面在洒有金钢砂的接种叶面上来回轻轻摩擦。接第二株时，可重新切齐，再把新切面作摩擦之用。完毕后还须用清水冲去多余的磨料及汁渣。

这种接种法一般都是用于叶片的。被接种的叶片最好是新开展的生长旺盛的叶片。

(5) 嫁接传染及菟丝子传染的测定

凡是前述接种方法不能成功的病毒，都可以采用嫁接传染的方法。木本植物用得比较多而一年生的草本植物也可以实行。木本植物可以用皮接及芽接，一般接皮和接芽都是从病树上取下的，而砧木是健株。草本一年生植物一般用靠接的方法，其中一株是健株，一株是病株。双方各在基部切一斜口，一株向上切，一株向下切，然后把两个“切舌”相互插紧，用缚料扎住，以后观察健株上是否会出现症状。如已接活可以把病株的上部及健株的下部剪去，成为健穗接在病砧上。或者相反，使病穗接在健砧上。以后观察发病情况。

菟丝子是一种寄生的显花植物，因为它们寄主范围极广，因此它们能从一种植物绕缠到另一种植物上。菟丝子的种类很多，可以根据当地的情况采用最易繁殖的种类，因为菟丝子结籽，可以用种子繁殖，同时也可以无性繁殖，在繁殖过程中要确定它不带任何病毒，用菟丝子接种时，先把它寄生在病株上，然后把它的蔓绕缠到被接种的健株上，以后观察结果。

3. 寄主范围及鉴别寄主的测定

所谓寄主范围就是测定某一种病毒主要能寄生在那一些种、属或科上，不能寄生在那一些种、属、科上。这个范围是很难有止境的，因为世界上的植物种类太多了。因此对寄主范围来说，从病理学的角度主要是为了测定农作物以外可能作为越冬越夏寄主的植物，这些植物必然是在当地比较普遍的。从病原学的角度来看，主要是要找出一个鉴别寄主，以便把这一病毒与另一病毒区分开来。这种鉴别寄主植物的反应就要求特殊，那就是说从接种到表现症状的时间比较短，最好是能呈枯斑反应，即在摩擦后很快产生各种枯死的斑点、线纹、环斑、环纹等，否则也至少能在接种后不久产生退绿、黄化、变红、明脉等反应。凡是具有这