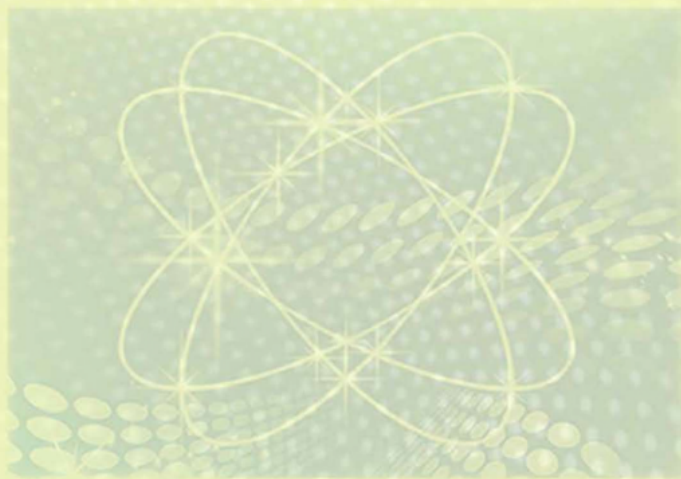


普通植物病理学实验实习指导

毕朝位 陈国康 主编



西南师范大学出版社

图书在版编目 (CIP) 数据

普通植物病理学实验实习指导 / 毕朝位, 陈国康主编. — 重庆: 西南师范大学出版社, 2017.7

ISBN 978-7-5621-8840-7

I. ①普… II. ①毕… ②陈… III. ①植物病理学-实验-高等学校-教学参考资料 IV. ① S432.1-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字 (2017) 第 172858 号

普通植物病理学实验实习指导

毕朝位 陈国康 主编

责任编辑: 赵 洁

装帧设计: 尹 恒

排 版: 重庆大雅数码印刷有限公司·瞿 勤

出版发行: 西南师范大学出版社

地址: 重庆市北碚区天生路 2 号

邮编: 400715

印 刷: 重庆市国丰印务有限责任公司

开 本: 720 mm × 1030 mm 1/16

印 张: 10

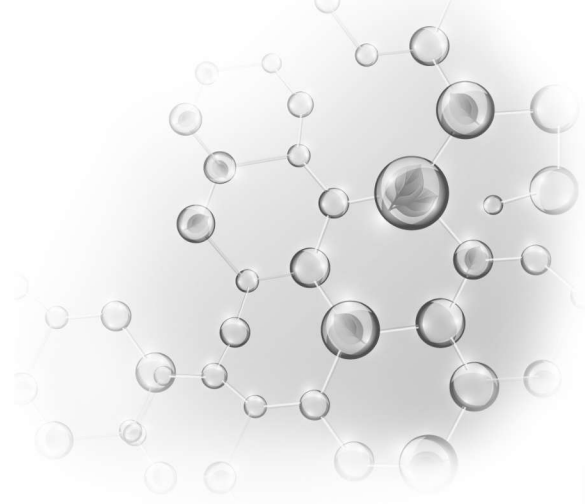
字 数: 180 千字

版 次: 2017 年 8 月 第 1 版

印 次: 2017 年 8 月 第 1 次印刷

书 号: ISBN 978-7-5621-8840-7

定 价: 28.00 元



前 言

“普通植物病理学实验实习”主要是配合“普通植物病理学”的教学内容,帮助学生理解和掌握植物病理学的基础理论,学习基本知识和基本技能的实验指导课程。该内容以前是“普通植物病理学”的实验教学部分。为了加强对学生实践与创新能力的培养,突出学生个性化发展,本科生教学计划调整之后的“普通植物病理学”的实验和教学实习部分被独立作为一门必修课,总学时由原来的 54 学时,调整为 94 学时(其中实验 54 学时,教学实习 1.5 周),并且由原来的期课改为年课。

本书编写的指导思想是在培养植物病理学基本操作技能的基础上,以提高学生的实践能力、设计能力和分析问题能力为重点。为此,所选实验内容上除了传统普通植物病理学实验的植物病原物形态观察、验证性实验外,还加入了学生自己动手完成植物病害发生、发展过程相关环节的实验,同时设计了若干个综合性和设计性实验。

本书共有 23 个实验和 6 个教学实习,包含植物病害症状类型观察,各类病原物的形态观察,病原物的分离、培养、接种、致病过程观察,病原物致病性分化和寄主抗病性鉴定,病原物的生理生化特性,植物病害的调查、诊断与鉴定,植物病害标本的采集与制作,植物病害的流行与防治等经典的植物病理学实验及研究技术,着重训练学生的基本操作技能。同时,加入了现代植物病理学的实验技术手段,如 PCR 技术、植物病原检索鉴别计算机辅助系统的应用等相关内容,以培养学生适应现代植物病理学发展的要求。总体来说,本书降低了观察性实验课时的比例,提高了操作技能训练实验课时的

比例,同时还加入了综合性、设计性实验。在具体实验教学中,可以根据教学条件和学生的兴趣选择相关的实验内容进行教学。

本书实验一~八、十、十四、十八、二十三和教学实习一~四由毕朝位编写,实验九、十一~十三、十五~十七、十九~二十二和教学实习五、六由陈国康编写。本书的编写得到了西南大学植物保护学院植物病理学系各位老师的大力支持和帮助,谨此致以衷心的感谢。

本教材得到“重庆市本科高校‘三特行动计划’特色专业”“西南大学首批优势专业建设”项目资助,特此感谢。

限于编者的水平,书中的疏漏和错误在所难免,恳请各位同行和读者提出宝贵意见与建议。

编 者

2017年3月



目录



🔍	植物病理学实验室守则	001
🔍	普通植物病理学实验	005
	实验一 植物病害症状观察	007
	实验二 显微镜的使用和临时病原玻片的制作	014
	实验三 植物病原真菌的形态观察	022
	实验四 植物病原壶菌、接合菌的识别与鉴定	027
	实验五 植物病原子囊菌的识别与鉴定	030
	实验六 植物病原担子菌形态特征的比较与生活史观察	038
	实验七 植物病原有丝分裂孢子真菌鉴别特征观察比较	043
	实验八 植物病原根肿菌、卵菌形态观察及霜霉目鉴定	054
	实验九 植物病原真菌的分离纯化技术	060
	实验十 植物病原真菌 ITS 的检测与鉴定	065
	实验十一 植物病原细菌的分离纯化技术	069
	实验十二 植物病原细菌革兰氏染色	073
	实验十三 植物病原细菌鞭毛染色	077
	实验十四 植物病原细菌 16S rDNA 的检测与鉴定	080
	实验十五 植物病毒病的症状观察及病毒内含体检查	084
	实验十六 植物病毒的接种方法	087
	实验十七 植物线虫的分离方法及形态观察	091
	实验十八 寄生性种子植物及寄生关系的一般特征	094

实验十九 植物病程观察·····	097
实验二十 植物病原菌孢子萌发的测定与应用·····	101
实验二十一 植物病原菌的致病力差异测定·····	104
实验二十二 寄主植物的抗病性鉴定·····	106
实验二十三 种子检验及种子处理·····	114

普通植物病理学教学实习 ————— 121

实习一 植物病害的田间调查·····	123
实习二 植物病害标本的采集、制作及保存·····	127
实习三 植物病害田间诊断和鉴定·····	133
实习四 显微计测与显微描绘·····	139
实习五 培养基、棉塞的制作及灭菌操作·····	144
实习六 柯赫氏法则证病实验·····	147

附录 植物病理学实验常用培养基配方 ——— 151



植物病理学实验室守则

一、实验室基本要求

1. 参加实验的学生，要遵守学习纪律，按时进入实验室，在指定的桌面上就座，不得迟到早退，不得无故缺席，按时完成实验任务。

2. 每次实验前要充分预习实验指导，明确本次实验的目的和要求、原理和方法、内容和作业等，以保证实验顺利进行。

3. 实验课前，必须做好实验用具准备和检查工作。

4. 实验进行中，严格遵守课堂秩序，不得高声交谈和随意走动，有疑问直接请教老师。实验操作要小心谨慎，认真观察实验现象，做好实验记录。

5. 实验结果记载和绘图应实事求是，不准任意改动，相互抄袭。实验报告要用统一的实验报告纸和铅笔完成，要求字迹清楚，绘图规范，按时交报告。

6. 爱护实验仪器，节约药品，遇有故障，及时报告老师。如有损坏，应报告登记，按相关规定赔偿。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臂，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。借用的仪器用具，用后要清洗干净，按时归还。

7. 注意实验安全，使用易燃易爆、有毒有害等药品时要当心，禁止用酒精灯互相接火。

8. 实验完毕应将仪器放回原处，将实验桌整理好，负责清洁的同学把实验室打扫干净，关上水电和门窗，经老师检查确定后方可离开。

二、实验室安全知识

在实验室中，要经常与毒性强、有腐蚀性、易燃烧或具有爆炸性的化学药品直接接触，要常使用易碎的玻璃和瓷质器皿，以及在煤气、水、电等高温设备的环境下进行紧张而细致的工作。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、水阀门及电闸所在位置。

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. 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。制片上的活菌应先用3%的来苏尔或5%的石炭酸溶液中浸泡半小时后再洗刷。

4. 进行高压蒸汽灭菌时，严格遵守操作规程。负责灭菌的人员灭菌过程中不得离开灭菌室。

5. 使用电器设备（如烘箱、恒温水浴锅、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，一律不得使用。

6. 使用浓酸、浓碱，必须极为小心地操作，防止四溅。用吸量管量取这些试剂时，必须使用橡皮球，绝对不能用口吸取。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。

7. 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或取出固体。低沸点的有机溶剂不准在火焰上直接加热，只能在水浴时利用回流冷凝管加热或蒸馏。

8. 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；用毛巾或抹布擦拭洒出的液体，并将液体拧到大的容器中，然后再倒入带塞的玻璃瓶中。

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

10. 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装入密封塑料袋中，送到指定的地点集中处理。

11. 有毒物品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

在实验过程中若不慎发生受伤事故，应立即采取适当的急救措施。

1. 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碎片，然后用硼酸溶液洗净，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，并立即到医院治疗。

2. 烫伤：一般用医用酒精消毒后，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，要用大量自来水冲洗，再用5%的硼酸溶液或2%的乙酸溶液涂洗。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%的碳酸氢钠溶液或5%的氢氧化铵溶液洗涤。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用干木棍使导线与触电者分开；③使触电者和地面分离。急救者必须做好防止触电的安全措施，手和脚必须绝缘。



普通植物病理学 实验

PUTONG ZHIWU BINGLIXUE SHIYAN

实验一

植物病害症状观察

一、目的要求

通过对植物病害标本的观察，了解植物病害种类及其多样性，掌握主要植物病害的症状表现及其特点，初步掌握正确描述植物病害症状的方法，同时加深对植物病害的感性认识。

二、材料和用具

(一) 病害症状标本

1. 烟草花叶病毒病 (*Tobacco mosaic virus*) 标本
2. 番茄花叶病毒病 (*Tomato mosaic virus*) 标本
3. 番茄条纹病毒病 (*Tomato stripe virus*) 标本
4. 番茄蕨叶病毒病 (*Tomato fern leaf virus*) 标本
5. 小麦白粉病 (*Blumeria graminis*) 标本
6. 柑橘炭疽病 (*Colletotrichum gloeosporioides*) 标本
7. 十字花科蔬菜霜霉病 (*Peronospora parasitica*) 标本
8. 番茄晚疫病 (*Phytophthora infestans*) 标本
9. 十字花科蔬菜细菌软腐病 (*Erwinia carotovora* subsp. *carotovora*) 标本
10. 十字花科蔬菜菌核软腐病 (*Sclerotinia sclerotiorum*) 标本
11. 棉花黄萎病 (*Verticillium dahliae*) 标本
12. 棉花枯萎病 (*Fusarium oxysporum* f.sp. *vasinfectum*) 标本
13. 番茄青枯病 (*Ralstonia solanacearum*) 标本
14. 桃缩叶病 (*Taphrina deformans*) 标本

15. 十字花科蔬菜根肿病 (*Plasmodiophora brassicae*) 标本
16. 枣疯病 (*Phytoplasma ziziphi*) 标本
17. 果树根癌病 (*Agrobacterium tumefaciens*) 标本
18. 瓜类根结线虫病 (*Meloidogyne incognita*) 标本
19. 蕹菜白锈病 (*Albugo ipomoeae-aquaticae*) 标本
20. 樱花花变叶病 (*Phytoplasma* sp.) 标本
21. 柑橘青霉病 (*Penicillium italicum*) 标本
22. 冬瓜绵腐病 (*Pythium aphanidermatum*) 标本
23. 茄褐纹病 (*Phomopsis vexans*) 标本
24. 马铃薯白绢病 (*Sclerotium rolfsii*) 标本
25. 小麦秆锈病 (*Puccinia graminis* f.sp. *tritici*) 标本
26. 棉花立枯病 (*Rhizoctonia solani*) 标本
27. 棉花猝倒病 (*Pythium* spp.) 标本
28. 柑橘溃疡病 (*Xanthomonas axonopodis* pv. *citri*) 标本
29. 柑橘疮痂病 (*Sphaceloma fawcettii*) 标本
30. 苹果干腐病 (*Botryosphaeria ribis*) 标本
31. 小麦叶锈病 (*Puccinia recondite* f.sp. *tritici*) 标本
32. 小麦条锈病 (*Puccinia striiformis* f.sp. *tritici*) 标本
33. 小麦腥黑穗病 (光腥: *Tilletia foetida* 网腥: *T. caries*) 标本
34. 小麦散黑穗病 (*Ustilago tritici*) 标本
35. 水稻稻瘟病 (*Magnaporthe grisea*) 标本
36. 水稻白叶枯病 (*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*) 标本
37. 玉米大斑病 (*Setosphaeria turcica*) 标本
38. 玉米小斑病 (*Bipolaris maydis*) 标本
39. 高粱炭疽病 (*Colletotrichum graminicola*) 标本
40. 油菜菌核病 (*Sclerotinia sclerotiorum*) 标本

(二) 实验用具

手柄放大镜、显微镜、解剖针、载玻片、盖玻片、镊子、剪刀等。

三、内容和方法

植物病害是指植物由于受到病原生物或不良环境条件的持续干扰，其干扰强度超过了植物能够忍耐的程度，使植物正常的生理功能受到严重影响，从而在局部或整体的生理和外观上表现出异常，甚至死亡的现象。这种偏离了正常生长状态的植物就是发生了病害。

植物发生病害后所表现出来的异常状态就是植物病害的症状。其中寄主植物本身的不正常表现称为病状，病原物在病部的特征性表现称为病征。

(一) 病状类型观察

1. 变色

植物生病后局部或全株失去正常的颜色称为变色，其主要原因是叶绿素合成受到抑制，或色素比例失调。变色主要有两种表现形式，一种是整株、整叶或部分均匀变色，如褪绿和黄化；另一种是不均匀变色，如花叶、斑驳、明脉、碎色等。

2. 坏死

坏死是指植物细胞和组织的死亡，常发生在叶、茎、果等部位，造成局部坏死，一般有明显的边缘。在叶片上常表现为叶斑和叶枯，叶斑坏死组织脱落形成穿孔，叶斑有轮纹则称为轮斑或环斑。幼苗近地面的茎组织坏死形成立枯和猝倒。木本植物的茎、枝条坏死称为枝枯。在果树的叶片、果实或枝干上还有疮痂和溃疡病状。

立枯、猝倒、疮痂与溃疡在发生部位、发病特点上均很相似，但也有一定的区别。立枯，幼苗枯死但不倒伏；猝倒，幼苗在坏死处折倒而叶片仍保持绿色；疮痂，病部较浅而且很局限，坏死斑表面粗糙，有的还形成木栓化组织而稍微突起；溃疡，坏死的主要是木质部，病部稍凹陷，周围的寄主细胞有时增生和木栓化，限制病斑进一步扩展。

3. 腐烂

腐烂是植物组织较大面积的分解和破坏。根据腐烂部位，可分为根腐、基腐、茎腐、果腐、花腐等；根据颜色变化，又可分为褐腐、黑腐、白腐等；

根据组织分解程度，有干腐、湿腐、软腐之分。

4. 萎蔫

萎蔫是植物的整株或局部因脱水而枝叶下垂的现象。病原物引起的凋萎一般不能恢复，发病初期有半边叶片、半根枝条垂萎现象，但更常见的是全株性萎蔫。萎蔫期间植株失水迅速，在此期间植株仍保持绿色的称青枯，不能保持绿色的又分为枯萎和黄萎。

对于萎蔫类病害病状的观察以新鲜标本为好，如有条件最好在田间进行观察（尤其是青枯病状）。观察时要注意其维管束组织的病变（变褐），干标本或浸渍标本此特点不明显。

5. 畸形

畸形是植物受害部位细胞分裂和生长发生促进性或抑制性的病变，致使植株整株或局部的形态异常。如叶片的膨胀、皱缩，小叶，蕨叶；整株的徒长、矮化、矮缩；局部器官的瘤肿、癌肿、病瘿、变态；以及丛枝、发根等各种畸形病状。

仔细观察各病害标本，注意发病部位，病部质地、颜色等，根据上述各类病状特征，区分各病害所属病状类型。

（二）病征类型观察

1. 粉状物

粉状物是某些真菌一定量的孢子在病部形成的，包括锈状物、白锈状物、白粉状物、黑粉状物等。

2. 霉状物

霉状物是真菌菌丝、各种孢子梗和孢子在植物表面形成的，包括霜霉、绵霉、灰霉、青霉、绿霉等。

3. 点状物

点状物是在病部产生的针尖至米粒大小的小颗粒状物，大多为病原物的子实体，如子囊壳、分生孢子器、分生孢子盘等。

4. 颗粒状物

颗粒状物是真菌菌丝体形成的一种致密的组织体，如菌核、子座等。

5. 胶状物

胶状物是细菌性病害在病部表面溢出的含菌体的液滴或弥散成的菌液层，白色或黄色，干涸时成菌胶粒或菌膜。

借助手柄放大镜，仔细观察各病害标本发病部位是否具有病征，若有，则注意其形状、大小、颜色、质地、着生状况（埋生、半埋生、表生、先埋生后表皮破裂等）、排列状况等。根据上述各病征特点，区分各病害病征所属类型。

（三）细菌菌脓的诱导

1. 将水稻白叶枯病叶片用酒精棉球擦拭消毒表面后剪成 1~2 cm 长的小段；
2. 在玻璃小烧杯中放入 2 个用水浸湿的棉球；
3. 将小段的病叶片垂直插入烧杯里的棉球中，使其直立，且相互不要靠在一起；
4. 用封口膜将烧杯口封好，并注意叶片顶端不要靠近封口膜；
5. 将烧杯置于 28 ℃ 培养箱中保湿培养过夜后，观察叶片上菌脓出现的情况（注意观察菌脓的颜色、浑浊度以及有无真菌菌丝体出现）。

四、实验学时

2~3 学时。

五、作业与思考题

1. 通过对实验课上陈列标本的观察，选择不同症状类型的病害，扼要描述其症状特点，填入下表。