

国家级实验教学示范中心植物学科系列实验教材



Putong Zhiwu
Binglixue Shiyan

普通植物 病理学实验

王生荣 张俊华 冉隆贤 主编
易图永 张铨哲



北京大学出版社
PEKING UNIVERSITY PRESS

013042464

S432.1-33
01

国家级实验教学示范中心植物学科系列实验教材

普通植物病理学实验

主 编 王生荣 张俊华 冉隆贤
易图永 张铨哲
参 编 杨明秀 李永杰 刘大伟
李焕宇 李会平 甄志先



S432.1-33
01



北京大学出版社
PEKING UNIVERSITY PRESS



北航

C1650272

图书在版编目(CIP)数据

普通植物病理学实验/王生荣,张俊华,冉隆贤,易图永,张铨哲主编. —北京:北京大学出版社, 2013.4

ISBN 978-7-301-22382-6

I. ①普… II. ①王…②张…③冉…④易…⑤张… III. ①植物病理学—实验—高等学校—教材 IV. ①S432.1-33

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2013)第 074239 号

书 名: 普通植物病理学实验

著作责任者: 王生荣 张俊华 冉隆贤 易图永 张铨哲 主编

责任编辑: 张 敏

标准书号: ISBN 978-7-301-22382-6/S·0025

出版发行: 北京大学出版社

地 址: 北京市海淀区成府路 205 号 100871

网 址: <http://www.pup.cn> 新浪官方微博: @北京大学出版社

电子信箱: zpup@pup.cn

电 话: 邮购部 62752015 发行部 62750672 编辑部 62765014 出版部 62754962

印 刷 者: 北京大学印刷厂

经 销 者: 新华书店

787mm×1092mm 16 开本 9.75 印张 200 千字 彩插 2

2013 年 4 月第 1 版 2013 年 4 月第 1 次印刷

定 价: 24.00 元

未经许可,不得以任何方式复制或抄袭本书之部分或全部内容。

版权所有,侵权必究

举报电话: 010-62752024 电子信箱: fd@pup.pku.edu.cn

国家级实验教学示范中心植物学科系列 实验教材编写委员会

主 任 张宪省 (山东农业大学)
吴伯志 (云南农业大学)

副主任 李 滨 (山东农业大学)
崔大方 (华南农业大学)
杨立范 (北京大学出版社)

委 员 (按姓氏笔画排列)
张宪省 (山东农业大学)
吴伯志 (云南农业大学)
项文化 (中南林业科技大学)
李 滨 (山东农业大学)
李保同 (江西农业大学)
杨立范 (北京大学出版社)
杨学举 (河北农业大学)
肖建富 (浙江大学)
张金文 (甘肃农业大学)
陈建斌 (云南农业大学)
邹德堂 (东北农业大学)
周 琴 (南京农业大学)
崔大方 (华南农业大学)
彭方仁 (南京林业大学)
蔺万煌 (湖南农业大学)
燕 玲 (内蒙古农业大学)

前 言

普通植物病理学实验作为国家级实验教学示范中心植物学科系列实验教材的一部,其主要实验内容以普通植物病理学的教学内容为主,也参考了农学专业、种子专业、园林专业、林学专业开设的“植物病理学”、“林木病理学”、“园林植物病理学”、“园艺病理学”、“果树病理学”等课程的总论部分的教学内容,旨在帮助学生掌握和理解植物病理学的基础理论知识、掌握基本实验操作技能。实验分上、下篇编写,上篇为病原学实验,包括植物病害的症状识别,病征特征观察和各种病原微生物的形态特征观察,目的是使学生了解和掌握主要病害症状和病原物鉴定特征,为病害的田间识别诊断打下一定基础;下篇为基本技术实验,包括有关植物病害室内诊断技术,标本采集制作技术,病原菌分离培养技术,病害侵染、流行、病害调查和药剂筛选的基本研究技术和方法,目的是提高学生观察、思考和分析问题的能力,锻炼学生在生产实践中进行一些病害调查、监测和防治,培养动手操作能力,以提高应用性人才培养的针对性。

随着本科专业教学计划、教学时数的不断改革调整及全国南北种植制度和病害的主要种类的差异,各校、各专业的课堂教学也都各有侧重。随着生物科学的不断深入研究,其研究手段和方法也在不断改进。许多新的研究技术和方法不断被应用到植物病理学的研究领域,初学者不但要认真学好和掌握植物病理学实验所需的基本功,还应该了解和掌握一些新技术、新方法的应用,以便在今后进一步深入学习和研究工作中得心应手,因此本实验中也介绍了电子显微镜(扫描)在植物病理学中的应用,PCR等基本分子生物学手段在植物病理学中的应用等新技术。有条件的院校可在本科教学中进行实验,没有条件的可以供感兴趣的同学参考。因此本指导书可以作为研究生学习期间参考和今后走上工作岗位的一本主要手册。列入书中的实验项目和实习材料也较多,各校可根据教学计划和上课专业选择合适的实验内容进行教学。

本书是在国家级实验教学示范中心植物学科组的领导下,由北京大学出版社组织全国农林植物类教学示范中心的院校集体讨论编写。感谢甘肃农业大学、东北农业大学、河北农业大学、湖南农业大学等院校领导、教务处、教学示范中心及学校老师的大力支持;也要感谢本书编辑北京大学出版社的张敏老师对本书组织编写、审读加工所付出的辛勤劳动。全书共包括43个实验项目,其中:前言,实验1,9~11,30,32,33,40,42,43由甘肃农业大学王生荣编写;实验12~13由甘肃农业大学李焕宇编写;实验6~8由河北农大李会平编写,15,16由河北农大甄志先编写,17,18,31由河北农业大学冉隆贤编写;实验26~28由东北农大刘大伟编写,实验19~25,36~38由东北农大张俊华编写;实验2~5,29由湖南农业大学易图永编写;实验14,34,35,39,41由东北农业大学张铨哲、杨明秀和李永杰编写。全书最后由王生荣统稿,彩色照片均由王生荣提供。

实验内容和插图参考了大量文献和前人的论著,引用文献在本书参考文献一栏中逐一进行了收列,在这里再次表示诚挚的感谢。

由于编者水平有限,加之时间仓促,错误和不足之处在所难免,敬请同行和读者提出宝贵意见,以期进一步修改完善。

王生荣

2012年9月



蚕豆白粉病



大白菜软腐病



大麦黄矮病



大麦条纹病



番瓜瓜腐病



大麦坚黑穗



番茄白粉病



甘蓝霜霉病



辣椒疫病



大麦散黑穗



苹果锈果病



茄子灰霉病



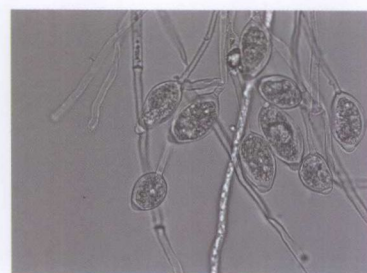
三叶草白粉病



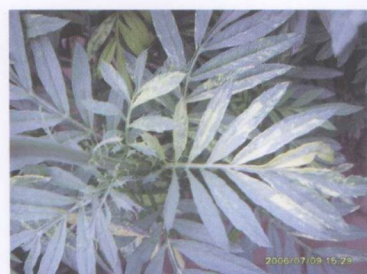
三叶草菟丝子



三叶草锈病



晚疫病菌孢子囊



万寿菊花叶病



万寿菊叶斑病



西葫芦白粉病



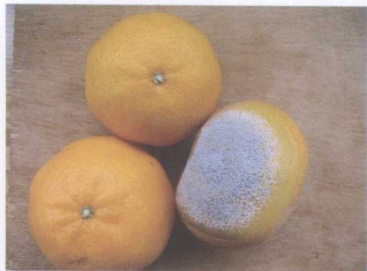
西葫芦灰霉病



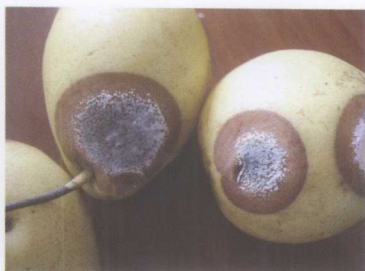
小麦条锈



杏褐腐



柑橘青霉



梨青霉腐烂



马铃薯疮痂病



马铃薯晚疫病



马铃薯早疫病



苜蓿叶斑病



苹果白粉病



苹果褐腐病



苹果黑星病



苹果锈病



苹果锈病叶背症状



玉米大斑病



玉米大斑危害果穗



洋葱霜霉病



玉米丝黑穗在叶上症状



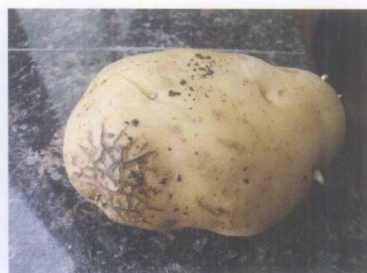
玉米丝黑穗



玉米瘤黑粉病



玉米锈病



马铃薯黑痣病



黄瓜黑星病



麦散黑穗病



北航

C1650272

目 录

上篇 病原学实验

实验 1	植物病害的症状观察	(3)
实验 2	菌物一般形态的观察	(8)
实验 3	黏菌、根肿菌及其所致病害	(13)
实验 4	卵菌及其所致病害(一)	(17)
实验 5	卵菌及其所致病害(二)	(21)
实验 6	接合菌及其所致病害	(25)
实验 7	子囊菌及其所致病害(一)	(28)
实验 8	子囊菌及其所致病害(二)	(35)
实验 9	担子菌及其所致病害(一)	(38)
实验 10	担子菌及其所致病害(二)	(41)
实验 11	担子菌及其所致病害(三)	(46)
实验 12	无性菌类——丝孢纲及其所致病害	(49)
实验 13	无性菌类——腔孢纲及其所致病害	(51)
实验 14	植物病原菌物的分离技术	(54)
实验 15	植物病原细菌的分离和纯化	(57)
实验 16	植物病原细菌鞭毛染色	(59)
实验 17	植物病原细菌革兰氏染色	(62)
实验 18	植物病原细菌的生理生化测定	(64)
实验 19	植物病毒的生物测定	(69)
实验 20	植物病毒粒体的电镜观察	(71)
实验 21	植物病毒内含体的观察	(73)
实验 22	植物病毒株系的测定	(74)
实验 23	植物病毒 ELISA 检测	(76)
实验 24	琼脂双扩散法检测植物病毒	(78)
实验 25	植物病毒的分子检测	(80)
实验 26	植物病原线虫的形态观察	(83)
实验 27	植物病原线虫的分离	(85)
实验 28	植物病原线虫的接种技术	(87)
实验 29	寄生性种子植物	(89)

下篇 基本技术实验

实验 30	生物显微镜的使用	(95)
实验 31	培养基的制作与灭菌	(98)
实验 32	植物病害标本的采集与制作	(102)
实验 33	植物病理玻片制作技术	(107)
实验 34	显微计测和显微描绘	(111)
实验 35	植物病害田间调查	(113)
实验 36	病原菌生理小种的鉴定	(116)
实验 37	温度对植物病害流行的影响	(119)
实验 38	大豆感染灰斑病菌后防御酶活性测定	(120)
实验 39	寄主抗病性测定	(123)
实验 40	种子带菌检验方法	(125)
实验 41	杀菌剂室内毒力测定	(129)
实验 42	扫描电子显微镜在植物病原鉴定中的应用	(134)
实验 43	RAPD 技术在植物病原学研究中的应用	(137)
附录	植物病理学实验常用培养基、溶液和缓冲液	(141)
参考文献		(147)

上 篇

病原学实验

实验 1 植物病害的症状观察

【实验目的】

通过观察不同病害标本,学习什么是症状,什么是病征,什么是病状,了解病害症状在病害鉴定和诊断中的作用。

【实验原理】

寄主植物受到病原物的侵染或非生物因子的影响,经过一系列的病理变化过程,表现在生理生化、组织结构,最后在外形态上出现有别于正常植株的病变,称为植物病害的症状。症状是认识和诊断病害的基础。为了便于掌握和识别病害,一般把症状分为两个方面:病状(symptom)和病征(sign)。

1. 病状类型

病状是指寄主植物受到病原物的侵染或非生物因子的影响而表现出的不正常状态。为了便于描述,人为地将植物病害的病状分为五大类。

(1) 变色

变色(discolor)是指植物发病后色泽发生改变,是病毒引起的病害中的常见症状之一。一种是叶片或植株均匀变色,表现为褪绿和黄化;另一种是不均匀变色,出现深绿和浅绿相间的花叶,黄色和绿色相间的花脸;此外,还有斑驳、条纹、条点、沿脉变色、明脉等(图 1-1)。



(1) 马铃薯花叶病

(2) 烟草花叶病

图 1-1 花叶症状

(2) 坏死

坏死(necrosis)是指植物发病以后其细胞和组织的局部死亡,主要有叶斑和叶枯、猝倒、溃疡等。根据形状,分为圆斑、角斑、条斑、蛇眼、环斑、轮纹斑等;根据颜色,可分为黑斑、褐斑、灰斑、紫斑和白斑等;根据大小,可分为大斑、小斑。一般把果实和枝条上的坏死称为疮痂或溃疡斑;幼苗近地面茎组织坏死,引起突然倒伏的现象,称为猝倒病(damping off);如果叶片中央坏死,病斑外围的组织形成离层,使病斑从健康组织中脱落下来,就形成穿孔。



(1) 大麦条纹病

(2) 玉米大斑病

图 1-2 坏死症状

(3) 腐烂

腐烂(rot)是指植物发病后其细胞和组织较大面积的消解和破坏。坏死和腐烂有时很难区别,要认真观察。一般来说,腐烂是指植物组织受到较大面积的破坏,细胞间中胶层离析,组织崩溃,而坏死则多少保持原有组织和细胞的轮廓。根据腐烂后的质感,分为干腐、湿腐和软腐;根据腐烂的部位不同,又可分为根腐、基腐、茎腐、果腐、花腐和穗腐等。



(1) 杏褐腐

(2) 大白菜软腐病

图 1-3 腐烂症状

(4) 萎蔫

萎蔫(wilt)是指植物的输导组织受到阻塞或失水而发生的膨压降低,枝叶萎垂的现象。侵染性病害引起的萎蔫一方面是由于病原菌产生的毒素毒害导致的失水现象;另一方面,由于寄主产生的主动抵抗机制,如侵填体等和病原菌的小孢子等的直接阻塞导致的萎蔫,这些病理萎蔫一般都是不可逆的。



(1) 辣椒疫病

(2) 西瓜枯萎病

图 1-4 萎蔫症状

(5) 畸形

畸形(malformation)是植物受侵染和产生激素的刺激而表现的异常生长现象。一是局部或部分器官的促进性生长,细胞分裂加快,数量增多,导致叶片和器官增大、增厚和局部肿瘤;另一方面,由于抑制性生长,导致生长发育不良,造成植株矮缩、矮化、小叶、小果、卷叶、蕨叶、扁枝、花变叶等。



(1) 玉米丝黑穗病

(2) 玉米瘤黑粉病

图 1-5 畸形症状

2. 病征类型

病征(sign)是指在发病植物部位形成的病原物的各种结构特征。它是肉眼可见的病原物结构,识别各种不同类型的病征,对病害诊断很有帮助,如有锈粉状物可以诊断为锈病等。但并不是所有的植物病害都有病征,有的病害既有病状又有病征,如大多数菌物和细菌病害;有的病害,如病毒病害一般只有病状没有病征。在有病征的病害中菌物性病害的病征特征是粉状物、霉状物、小黑点等较为明显,而细菌性病害的病征主要是菌胶粒或细菌溢。

(1) 粉状物

粉状物是指引起植物病害的某些菌物在病部形成一定量的产孢结构和孢子所表现出来的特征。根据着生部位、形状及颜色,可以进一步分为以下4种。

① 黑粉状物:着生在被破坏的植物穗部、籽粒内外、叶及叶鞘组织内及形成的肿瘤内部,形成大量黑粉,特征显著,是黑粉病所特有的病征,如玉米瘤黑粉、小麦散黑穗、水稻粒黑粉等。

② 白粉状物:初期在植物表面长出灰白色绒状霉层,以后产生大量白色粉状物(分生孢子)是白粉病的主要病症,如小麦白粉病、瓜类白粉病、月季白粉病等。

③ 锈粉状物:是大多数锈病所特有的病征。在植物表皮下形成,使表皮隆起呈疱状,表皮破裂后散出大量颜色略有差异的锈粉状物,据此可识别为锈病,如小麦锈病、玉米锈病、杨树锈病等。

④ 白锈状物:是植物白锈病产生的特有病征。类似锈状物,但呈白色。也注意与白粉状物的区别。

(2) 霉状物

霉状物由各种菌物的菌丝、孢子梗及孢子所构成,是植物病原菌物病害常见的病征。霉层的颜色、形状、大小、结构、疏密质地等方面的差异,标志着病原菌物的种类不同,也是识别和诊断的依据之一。

① 霜霉状物:霉层下部较稀疏而上部密集交叉,着生于叶片背面,呈灰色、灰白色霜状,如十字花科霜霉病,也有紫色至黑色霉层,如黄瓜霜霉病。

② 绵霉状物:是指病部产生的大量白色、均匀的霉层,有的绒丰满如棉絮状,有的细密平展,

有的则稀疏。常伴随有腐烂症状,如瓜类绵腐病。

③ 灰霉、青霉、绿霉:是根据霉层颜色命名的,青霉、绿霉一般都是青霉病菌所表现的病征。多发生在果实、块茎等腐烂部位,如柑橘青霉病。灰霉则是灰葡萄孢菌(*Botrytis*)侵染植物后所表现的病征,病部霉层致密,鼠灰色,如西葫芦灰霉病。

此外还有许多无性菌类引起的病害,在气候潮湿时,在病部产生不太明显的霉状物,颜色呈灰色、褐色、黑色等,统称为霉层,如玉米大斑病。

(3) 点状物

点状物是很多病原菌物繁殖器官的特征,颜色由浅到深,多数呈褐色或黑色。不同病害所形成的点状物的形状、大小、凸出表面的程度、分布特点、疏密程度各不相同。如杨树白粉病的小黑点散乱分布在叶片表面,而苹果果实炭疽病则在发病部位排列成轮纹状的黑色小点,苹果腐烂病内外子座形成的黑点排列不规则。

(4) 颗粒状物

颗粒状物主要是指形成的菌核。是由菌丝丛横交结而形成的一种致密的组织结构,呈颗粒状,其大小差异很大,有的形成于表面部位,有的形成于茎秆髓腔中,如向日葵菌核除了茎基部形成外,还可以在花盘上形成,常见的有油菜菌核病、水稻小菌核病等。

(5) 绳索状物

绳索状物是菌物菌丝平行交结而形成的一种致密的组织结构,呈绳索状,紫色或白色。又称为菌索,如苹果紫纹羽病、白绢病等。

(6) 胶状物

脓状物是细菌性病害的一个主要病征。大多数植物细菌性病害在病部表面溢出含细菌菌体的液滴,呈黄色。如果液滴干燥后成菌胶粒,若弥散在叶片表面,干燥后形成一层薄膜状的菌膜,是识别细菌性病害的依据之一,如黄瓜细菌性角斑、大白菜软腐病等。

【实验材料】

各种病害症状蜡叶标本、液渍标本或新鲜标本。

甘蓝根肿病(*Plasmodiophora brassicae*),马铃薯癌肿病(*Synchytrium endobioticum*),白菜白锈病(*Albugo candida*),番茄脐腐病生理性病害,油菜菌核病(*Sclerotinia sclerotiorum*),玉米黑粉病(*Ustilago maydis*),小麦腥黑穗病(*Tilletia foetida*,光腥)、(*Tilletia caries*,网腥),小麦条锈病(*Puccinia striiformis*),柑橘青霉病(*Penicillium italicum*),柑橘疮痂病(*Elsinoe fawcettii*),玉米小斑病(*Bipolaris maydis*),番茄早疫病(*Alternaria solani*),菜豆炭疽病(*Colletotrichum lindemuthianum*),柑橘溃疡病(*Xanthomonas citri*),桃穿孔病(*Phyllosticta persicae*),烟草(番茄)根结线虫病(*Meloidogyne* spp.),枣疯病(Jujube witches' broom, Phytoplasma),番茄蕨叶病(*Cucumber mosaic virus*),黄瓜霜霉病(*Pseudoperonospora cubensis*),水稻白叶枯(*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*),黄瓜细菌性角斑病(*Pseudomonas lachrymans*)。

【实验设备及用品】

放大镜。

【实验步骤】

认真阅读课本和实验指导,理解各种症状类型的划分,结合所观察的标本,仔细观察实验中所放的每一种标本,从外部形态变化、颜色、大小形状、质地表述症状特点,归纳它们各属于哪种症状类?还可以细分为哪些种类,如腐烂中的根腐?茎腐?软腐?干腐?等等。同时,注意观察