

194年9月21日

全国高等农业院校教材

普通植物病理学实验指导

许志刚 编

植物保护和植物病理学专业用

农业出版社

(京)新登字060号

全国高等农业院校教材
普通植物病理学实验指导

许志刚 编

• • •

责任编辑 胡志江

农业出版社出版 (北京市朝阳区农展馆北路2号)
新华书店北京发行所发行 农业出版社印刷厂印刷

787×1092mm16开本 5.75印张 129千字

1993年10月第1版 1993年10月北京第1次印刷

印数 1—1,150册 定价3.00元

ISBN 7-109-02182-2/Q·129

编者 许志刚 (南京农业大学)
主审 古希昕 (华南农业大学)
审稿 夏怡厚 (福建农学院)

前 言

普通植物病理学实验指导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。内容包括两大部分:一是植物病害的症状识别和病原生物的形态特征的观察;二是有关病害的侵染、流行和相关实验研究的基本技术。第一部分的实验内容一般安排在整个学期的教学过程中同步进行;第二部分则可根据具体情况安排,大多是结合在教学实习中进行。通过实验,提高学生的观察、思考、分析的能力,锻炼学生独立操作的能力。

实验内容的安排是在部分重复微生物学的基础上开始的,引导学生逐步进入植物病理学的领域,并为以后深入学习病原生物学、农业植物病理学、植物病害防治学和进一步开展试验研究打下坚实的基础。每个实验中的材料和用具一项,主要是为指导教师在准备实验时作参考的,教师可结合当地条件和教学要求适当选择,作业与思考是供学生复习参考的。

本书编写过程中,承蒙山东农业大学、山西农业大学、吉林农业大学、浙江农业大学、福建农学院和西北农业大学等植病组老师的大力支持,提供宝贵意见;郑小波积极协助编写部分内容,一并表示衷心的感谢。全书的插图由王金堂、张燕华和许阳协助描绘,大部分取材于 Agrios 的植物病理学和方中达先生编著的《植病研究方法》。由于编者水平有限,疏漏不足之处在所难免,敬请指正。

编 者

1990年12月

目 录

前言

实验须知	1
实验一、病害的症状	2
实验二、真菌一般形态观察和临时玻片制备	5
实验三、鞭毛菌亚门真菌及所致病害	10
实验四、接合菌亚门真菌及所致病害	15
实验五、子囊菌亚门真菌及所致病害	17
实验六、半知菌亚门真菌及所致病害	21
实验七、担子菌亚门真菌及所致病害	25
实验八、植物细菌病害及其诊断	28
实验九、细菌的形态和培养性状	33
实验十、植物病毒和病毒病害	38
实验十一、植物病毒的接种与传染	41
实验十二、植物病毒的体外抗性	44
实验十三、植物寄生线虫及线虫病	46
实验十四、寄生性高等植物	50
实验十五、消毒与灭菌	52
实验十六、常用培养基	56
实验十七、病原生物的分离与培养	59
实验十八、病原生物的接种技术	66
实验十九、孢子萌发与环境条件	68
实验二十、病原物的越冬与越夏	70
实验二十一、病原物的致病性和寄主抗病性	72
实验二十二、植物病害的调查	76
实验二十三、显微描绘与显微计测	79
实验二十四、植物病害标本采集、制作和鉴定	83

实 验 须 知

1. 每次实验前, 学生要仔细预习实验指导, 明确实验的目的与要求, 了解实验内容和应注意的事项。

2. 认真听取老师指导, 按要求逐项细心操作, 爱护仪器设备, 节约材料, 损坏物品要及时报告。

3. 遵守实验室纪律。实验时, 不准在实验室内谈笑喧哗、吸烟与饮食, 不要在室内来回走动, 共同保持室内的整洁与安静。严禁以酒精灯互相点火, 以确保安全。

4. 认真记录实验的结果, 绘图要精确, 比例要适当 (参见图 4), 按时上交实验报告。

5. 实验结束时, 仪器用具要擦干净并放回原处, 清除垃圾, 实验室要打扫干净。

6. 需要进一步培养观察的实验材料, 应写好标签, 注明实验内容、日期和试验人员姓名, 以防混淆或丢失。

7. 学生应准备绘图纸、报告纸、HB 和 2H 的绘图铅笔、直尺、小刀和橡皮等绘图用具。

实验一、病害的症状

症状是有病植物外部可见的病状和病征的统称。植物生病后，有一定的病理变化程序。无论是侵染性病害或非侵染性病害，首先在植物体内发生一系列外部观察不到的生理生化的变化，继而细胞和组织开始发生病变，并出现肉眼可见到的变化，这就是病状。有些侵染性病害，主要是真菌和细菌病害，不仅表现出病状，在病部还能见到引起植物生病的病原物，它们依附在病植物体上，例如，病植物上的霜霉、白粉、黑粉、菌核、菌脓以及寄生在植物上的寄生性种子植物等。这些致病生物出现在病变部分即称“病征”。所以，植物病害的症状应该包括“病征”和“病状”两部分。但是，植物受病毒、菌原体、类细菌和线虫等危害后，只能看到植物本身的病状，这些病害习惯上也统称为症状。

人们对病害的认识和研究，都首先从症状开始，症状有一定的变化幅度，常因品种抗性、环境条件以及发病时期（或后期）不同而有变化，因此观察病害症状应连续观察它在不同时期和不同条件下的表现。

1. 目的要求 通过植物病害症状的观察，学习描述和记载植物病害症状的方法，掌握植物病害的症状类型、特点以及了解症状在病害诊断中的作用。

2. 材料和用具 各种类型的病害标本、幻灯片和挂图等。扩大镜、小刀及记载用具。

3. 内容与方法

3.1 病状类型 分为五大类型（图1）。

3.1.1 变色 植物受到外来有害因素的影响后，常导致色泽的改变，如褪色、条点、白化、色泽变深或变浅等，统称为变色。主要表现为：

（1）褪绿或黄化：褪绿和黄化是由于叶绿素的减少而叶片表现为浅绿色或黄色。如小麦黄矮病、植物的缺铁、缺氮等。

（2）花叶与斑驳：如烟草花叶病、菜豆花叶病、黄瓜花叶病等。

（3）变红色或紫色：如玉米

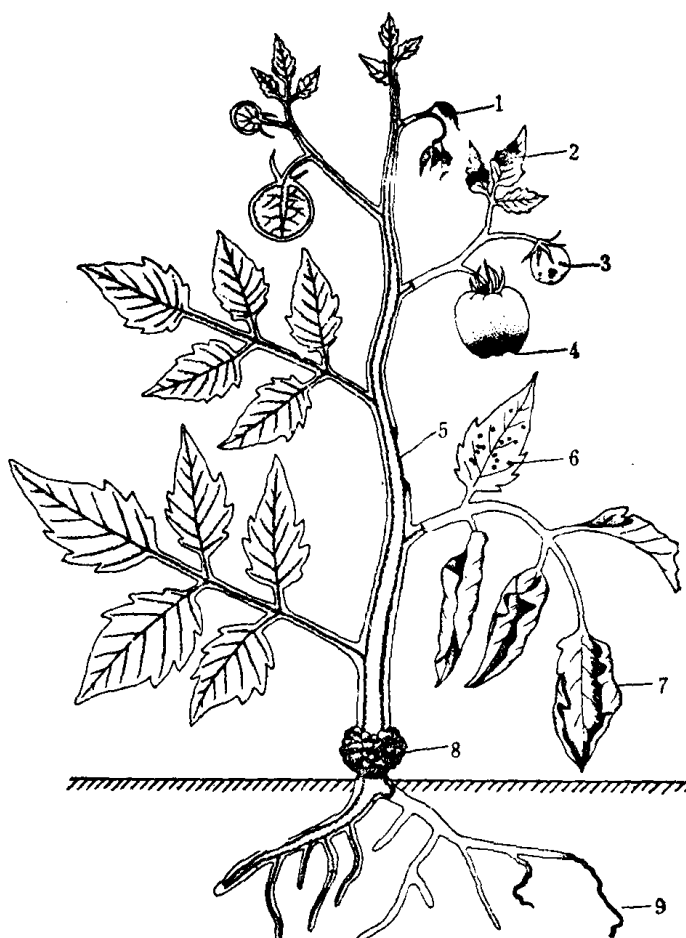


图1 植物病害症状（仿Agrios）

左侧为健株，右侧为病株

1. 梢枯 2. 叶枯（斑） 3. 果斑 4. 果腐
5. 溃瘍 6. 斑点 7. 卷叶 8. 瘰癧 9. 根腐

或谷子红叶病、植物缺铁等症。

3.1.2 坏死 坏死是由于受病植物组织和细胞的死亡而引起的。

(1) 斑点：根、茎、叶、花、果实的病部局部组织或细胞坏死，产生各种形状、大小和颜色不同的斑点，如玉米大、小斑病、十字花科蔬菜黑斑病。

(2) 枯死：芽、叶、枝、花局部或大部分组织发生变色、焦枯、死亡。如马铃薯晚疫病、水稻白叶枯病。

(3) 穿孔和落叶落果：在病斑外围的组织形成离层，使病斑从健组织中脱落下来，形成穿孔，如桃细菌性穿孔病等；有些植物的花、叶、果等受病后，在叶柄或果梗附近产生离层而引起过早的落叶、落果等。

(4) 疮痂：果实、嫩茎、块茎等的受病组织局部木栓化，表面粗糙，病部较浅，如柑桔疮痂病、梨黑星病、马铃薯疮痂病等。

(5) 溃疡：病部深入到皮层，组织坏死或腐烂，病部面积大，稍凹陷，周围的寄主细胞有时增生和木栓化，多见于木本植物的枝干上的溃疡症状。如杨树溃疡病、橡胶树条溃疡病、柑桔溃疡病、番茄溃疡病等。

(6) 猝倒和立枯：大多发生在各种植物的苗期，幼苗的茎基或根冠组织坏死，地上部萎蔫以致死亡，如棉花苗期立枯病、瓜苗猝倒病、水稻烂秧病等。

3.1.3 萎蔫 引起植物萎蔫的原因有生理性的和病理性的两种。如棉花枯萎病、棉花黄萎病、瓜类枯萎病、茄科植物青枯病等。用小刀或刀片斜切番茄青枯病和棉枯萎病株的茎基部，注意维管束部分有无变褐色？根部有无变色？

3.1.4 腐烂 腐烂是较大面积植物组织的分解和破坏的表现，根据症状及失水快慢又分为干腐和湿腐。如玉米干腐病、苹果腐烂病、甘薯茎线虫病都是干腐的症状；湿腐如大白菜软腐病、甘薯根霉软腐病、柑桔贮藏期青霉病、苹果果实的轮纹病等。

—流胶也是腐烂的一种，桃树等木本植物受病菌为害后，内部组织坏死并腐烂分解，从病部向外流出粘胶状物质，如桃树流胶病。

3.1.5 畸形 由于病组织或细胞的生长受阻或过度增生而造成的形态异常。植物病害的畸形症状很多，常见的有：

(1) 徒长：如水稻恶苗病。

(2) 矮化、矮缩和丛生：矮化是植株各个器官的长度成比例变短或缩小，病株比健株矮小得多，如玉米矮化病。矮缩则主要是节间缩短茎叶簇生在一起，如水稻矮缩病、小麦黄矮病等。

丛生是枝条或根异常地增多，导致丛枝或丛根，如枣疯病、桑萎缩病、泡桐丛枝病和苹果发根病和小麦丛矮病等。

(3) 瘤肿：病部的细胞或组织因受病原物的刺激而增生或增大，呈现出瘤肿，如玉米瘤黑粉病、桃根瘤病、番茄根结线虫病等。

(4) 卷叶：叶片卷曲与皱缩，有时病叶变厚、变硬，严重时呈卷筒状，如马铃薯卷叶病和蚕豆黄化卷叶病。

(5) 蕨叶：叶片发育不良，叶片变成丝状、线状或蕨叶状，如番茄蕨叶病、辣椒蕨叶病。双子叶植物受2,4-D的药害也常变成蕨叶状。

(6) 变叶：正常的花器变成叶片状结构，使植物不能正常开花结实，如玉米霜霉病。

3.2 病征类型 病征是指在植物病部形成的、肉眼可见的病原物的结构。识别各种不同类型的病征，对诊断病害很有帮助。

细菌病害的病征较简单，通常是在病部出现液滴状或颗粒状菌脓。但真菌病害的病征较复杂，依其形态不同，可区分为多种类型：大致分为霉状物、粉状物、锈状物、小黑粒和小黑点、块状物、伞状物等，并常以这些特征来命名这些病害。有些类型的病征可根据其他特征进一步区分，如粉状物可根据其色泽不同，分为白粉、黑粉等。

菌脓：水稻条斑病和白叶枯病。

霉状物：瓜类绵腐病、马铃薯晚疫病、十字花科蔬菜霜霉病、甘薯软腐病、柑桔青霉病、洋葱灰霉病。

粉状物：小麦白粉病、瓜类白粉病、苹果白粉病、小麦散黑粉病、玉米瘤黑粉病、水稻粒黑粉病。

锈状物：菜豆锈病、甘蔗锈病、十字花科蔬菜白锈病。

煤污状物：茶煤病、桑污叶病、桔煤污病等。

菌核：水稻纹枯病、水稻小菌核病、稻曲病、油菜菌核病等。

小黑粒和小黑点：小麦白粉病、苹果树腐烂病、棉花轮纹病、菜豆斑点病。

膜状、块状和伞状物：木耳、银耳、平菇、灵芝、草菇、马勃等。

3.3 综合症 在同一寄主植物上一种病害可能表现出几种症状类型，这几种症状同时表现或先后接连表现出来，称为综合症。例如大豆花叶病毒病可以有变色、花叶、顶芽坏死和畸形等几种类型的症状在同一植株上出现。水稻白叶枯病可以有叶枯、枯心、黄斑驳和菌脓等多种症状在同一植株上出现。掌握这些症状特征对于正确诊断病害是十分重要的。

3.4 复合症 由两种或两种以上的病原物（或害虫）同时侵染一株植物时所表现的复合症状，如小麦蜜穗病、大豆顶枯花叶病等。

4. 实验时间 3 学时。

5. 作业与思考题

作业：根据温室和田间的参观，实验室标本的观察以及幻灯片、照片等观察到的病害，选择不同症状类型的病害，扼要描述其症状特点，填入下表（要求至少描述十种病害）。

病害症状记录

受害植物	病害名称	发病部位	症状类型	症状特点

(1) 植物病害的定义是什么？

(2) “病状”、“病征”、“症状”、“综合症”的定义，并举例说明。

(3) 症状在病害诊断上有什么作用？

(4) 为什么一种病害可以表现出不同的症状？

实验二、真菌一般形态观察和临时玻片制备

真菌的分布很广，有一部分可寄生在动物和植物体上引起真菌病害。在植物病害中，真菌病害的数量最多。作物上常见的病害如黑粉病、锈病、白粉病和霜霉病等都是真菌寄生引起的。历史上有名的两次大饥荒就是由马铃薯晚疫病菌和水稻胡麻斑病菌为害所致。

1. 目的要求 通过观察，认识病原真菌的营养体及其变态，认识真菌的子实体、有性繁殖、无性繁殖产生的各种类型孢子。

2. 用具 挑针、刀片、木板、酒精灯、火柴、载玻片、盖玻片、纱布、乳酚油、二甲苯、显微镜、擦镜纸、吸水纸等。

3. 内容与方法

3.1 病原真菌的营养体——真菌营养生长阶段的结构统称为真菌的营养体 真菌典型的营养体是丝状体，少数为单细胞。

单根丝状的营养体称为菌丝；许多菌丝在一起就称为菌丝体。用挑针挑取在培养皿内的瓜果腐霉病菌 (*Pythium aphanidermatum*) 和立枯丝核菌 (*Rhizoctonia solani*) 或镰刀菌的菌丝体，用蒸馏水或乳酚油作浮载剂，制临时玻片镜检，观察菌丝有无隔膜？菌丝体直径变化是否明显？颜色有无差别？

3.2 真菌营养体的变态 病原真菌营养体在一定条件下可发生变态而形成特殊的结构，这些变态是真菌适应性的表现，其作用是抵抗不良的环境条件，有利于传播、固着吸收和繁殖。主要的变态有吸器、假根、菌核、子座以及根状菌索等。

(1) 吸器：吸器的形态有圆球状、棒状、裂片状、掌状、根状等。在示范镜下观察小麦白粉病菌 (*Erysiphe graminis*) 和大白菜霜霉病菌 (*Peronospora parasitica*) 的吸器形态，也可用小镊子撕取病叶的表皮，制临时玻片放在显微镜下观察，注意吸器的形状和在细胞内的位置。

(2) 假根：是由菌丝分化的根状分枝。从培养皿内的培养基上挑取甘薯软腐病菌 (*Rhizopus stolonifer*) 制片，镜检，观察在孢囊梗基部的假根。

(3) 菌核：是菌丝体的菌丝纠结而成的坚固的颗粒状休眠体。观察小核菌属 (*Sclerotium*) 的菌核切片及标本，以及水稻和油菜上菌核的标本。比较两种菌核的大小、形状和色泽有何不同？

(4) 根状菌索：许多菌丝体平行生长并纠结成绳索状，称为根状菌索。在示范镜下观察苹果或甘薯紫纹羽病菌的根状菌索。

(5) 子座：由菌丝体或由菌丝体和寄主组织共同组成的着生子实体的垫状物。在子座上形成无性或有性孢子。在显微镜下观察麦角病菌 (*Claviceps purpurea*) 头状子座的切片，注意其内部结构与菌核有何区别，或镜检大叶黄杨叶斑病菌 (*Cercospora* sp.) 的垫状子座。

3.3 病原真菌的繁殖体——子实体 真菌产生孢子的机构称为子实体。病原真菌孢

子的形态特征是鉴定和分类学上重要的依据。真菌的孢子可分为无性孢子和有性孢子两类：

3.3.1 无性孢子 指真菌无性繁殖过程中产生的各种孢子。这类孢子在形成过程中没有经过任何性结合的过程。

(1) 游动孢子囊和游动孢子：鞭毛菌亚门真菌的无性繁殖器官是孢子囊。大多数鞭毛菌孢子囊可释放出具鞭毛、在水中能游动的孢子，即游动孢子，故其孢子囊又称为游动孢子囊。镜检水霉菌 (*Saprolegnia* spp.)、绵霉菌 (*Achlya* spp.) 或疫霉菌 (*Phytophthora* spp.) 在水中的培养物，注意观察菌丝有无分隔、孢子囊的形态、游动孢子的形成以及释放过程，游动孢子休止后的形态，注意孢囊梗与菌丝有无区别。

(2) 孢子囊和孢囊孢子：接合菌亚门真菌的无性繁殖器官是孢囊孢子。镜检根霉菌 (*Rhizopus* spp.)、毛霉菌 (*Mucor* spp.)、犁头霉菌 (*Absidia* spp.) 的孢子囊结构、孢囊孢子、孢囊梗、假根及匍匐丝。

(3) 分生孢子：半知菌亚门真菌和子囊菌的无性世代繁殖时都可产生分生孢子。分生孢子的色泽、形态变化较大，从无色至深色、单孢到多孢，并具多种形态。分生孢子着生在分生孢子梗上，分生孢子梗有色或无色、散生或聚生，或着生在分生孢子盘或分生孢子器内。

采用挑、刮或切片的方法，观察下列各病害标本，注意观察其分生孢子的颜色，有隔或无隔，隔膜的类型及其形态；分生孢子梗的形态，是否分枝及分枝的类型、颜色、着生位置等，若着生在分生孢子盘或分生孢子器内，注意观察分生孢子盘或器的形态。

玉米小斑病菌 (*Bipolaris maydis*)

花生黑斑病菌 (*Cercospora arachidicola*)

小麦白粉病菌 (无性世代) (*Oidium monilioides*)

柑桔青霉病菌 (*Penicillium italicum*)

棉花黄萎病菌 (*Verticillium dahliae*)

稻瘟病菌 (*Piricularia oryzae*)

马铃薯早疫病菌 (*Alternaria solani*)

(4) 厚壁孢子：又称厚垣孢子。由菌丝中个别细胞膨大、细胞壁加厚而形成的一种厚壁孢子。对不良环境的抵抗能力较强。

挑取棉花枯萎病菌 (*Fusarium oxysporum*) 或樟疫霉 (*Phytophthora cinnamomi*) 的培养物制片、镜检，观察厚垣孢子的形状、颜色和壁的厚度。

3.3.2 有性孢子 真菌有性生殖产生的孢子是由两个有亲和力的性细胞结合后发育形成的，包括卵孢子、接合孢子、子囊孢子和担孢子。

(1) 卵孢子：是鞭毛菌亚门真菌产生的有性孢子，常由形态、大小不同的雌、雄性器官交配形成。卵孢子通常形成于藏卵器内，每个藏卵器内可包含1至多个卵孢子，其数目因真菌种类不同而异。

挑取水霉 (*Saprolegnia* sp.) 或绵霉 (*Achlya* sp.) 的菌丝团、腐霉 (*Pythium* sp.) 或疫霉 (*Phytophthora* sp.) 的培养物 (连同培养基) 制片、镜检。

取禾谷类作物，如水稻、小麦、大麦、玉米等的霜霉病 (*Sclerophthora macrospora*) 病组织做徒手切片。滴一滴乳酚油于载玻片上，挑几块切片于乳酚油中，在酒精灯火

焰上微微加热，使病组织透明，盖上盖玻片、镜检，观察卵孢子形态。

观察藏卵器的形态、色泽、壁光滑或有饰纹；雄器形态及其位置；卵孢子形态，每个藏卵器内卵孢子的数目、卵孢子是否充满藏卵器。

(2) 接合孢子：接合菌亚门真菌产生的有性孢子，由两个形状和大小相似的雌、雄配子囊结合而成。

挑取根霉 (*Rhizopus* sp.)、毛霉 (*Mucor* sp.) 或梨头霉 (*Absidia* sp.) 正、负菌株在 PDA 培养基上交配7—10天后的培养物制片、镜检，观察接合孢子的形状、表面的饰纹、色泽、配囊柄的形状，有无丝状附属物。

(3) 子囊孢子：子囊菌亚门真菌的有性孢子，产生在子囊内。子囊孢子有色或无色、单孢或多孢，具多种形状。子囊通常棍棒状，有的近球状，散生或着生在一定形态的子囊果内。

采用挑、刮或切片的方法，制片镜检下列病害标本。观察子囊孢子的形状、单细胞或多细胞、有色或无色；子囊的形状，是否具双层子囊壁，子囊有无固定孔口；子囊果的类型，有闭囊壳、子囊壳、子囊盘或子囊腔。

桃缩叶病菌 (*Taphrina deformans*)

小麦白粉病菌 (*Erysiphe graminis*)

桑里白粉病菌 (*Phyllactinia corylea*)

小麦赤霉病菌 (*Gibberella zeae*)

苹果树腐烂病菌 (*Valsa mali*)

麦角病菌 (*Claviceps purpurea*)

(4) 担孢子：担子菌亚门真菌产生的有性孢子。担孢子产生在担子上。冬孢菌纲的担孢子产生在冬孢子萌发后形成的担子上。

观察小麦腥黑穗病菌 (*Tilletia caries*) 冬孢子萌发形成的担子及担孢子的形态。黑粉菌孢子萌发的条件是恒温 (15—25℃) 和定期的光照，连续培养3—5天，冬孢子即可萌发。

3.4 临时玻片

3.4.1 浮载剂 制作临时玻片都要使用浮载剂，浮载剂的作用是防止材料干燥和集中光线，以利于显微镜下观察。浮载剂的种类很多，最常用的是水和乳酚油，其次是甘油、甘油明胶、希尔浮载剂等。

(1) 水：水浮载剂一般使用蒸馏水，应用最为方便。对细菌、真菌孢子等无不利影响。观察细菌游动、线虫活动，真菌孢子萌发都必须用水作浮载剂。测量真菌菌丝直径和真菌孢子大小时也以水作浮载剂为好。但是用水作浮载剂制片时较易形成气泡，制成的玻片也易干燥而不能保存。

(2) 乳酚油：乳酚油长期以来一直是真菌学和植物病理学工作者习惯使用的浮载剂。乳酚油的组成如下：苯酚结晶 (加热熔化) 20ml、乳酸20ml、甘油40ml、水20ml。各成分混合后成为油状粘稠液体，具杀死和固定病原物的作用，可使干瘪的真菌孢子膨胀复原，还可使病组织变得略为透明。

如在乳酚油中加入0.05—0.1%的染料制成棉蓝乳酚油、藏红乳酚油等，还能使菌丝或孢子略微着色，更便于观察。用乳酚油制作的玻片可长期保持湿润不会干燥，它的缺点

是能使原生质发生收缩,而且它的折射率与真菌菌丝及孢子很相近,因此在乳酚油玻片中,很难精确测量病原物的大小。另外,乳酚油能与许多封固剂起作用,盖玻片也易滑动,不易封固。

(3) 希尔 (Shear) 浮载剂: 其配方如下: 2%醋酸钾水溶液、30ml、甘油120ml、酒精180ml。

3.4.2 临时玻片的制作 临时玻片制作方法很多,如涂、撕、粘、挑和切片等,可以根据病原物的类型选择使用。

(1) 涂抹法: 细菌和酵母菌的培养物常用涂抹法制片。将细菌或酵母菌的悬浮液均匀地涂在洁净的载玻片上,在酒精灯火焰上烘干、固定,再加盖玻片封固。加盖玻片前还可进行染色处理,使菌体或鞭毛着色而易于观察。

(2) 撕取法: 用小金属镊子仔细撕下病部表皮或表皮毛制成临时玻片。此法可以观察着生在寄主或基物表面的菌丝和孢子,寄主表皮细胞内的真菌菌丝、吸器和休眠孢子囊堆,以及病毒病的内含体等。

试以小麦白粉病叶、烟草花叶病病叶、蚕豆花叶病叶、受禾谷多粘菌为害的小麦病根等为材料,用撕取法制作临时玻片,观察病原物的形态。

(3) 粘贴法: 将塑料胶带纸剪成边长5mm左右的小块,使胶面朝下贴在病部,轻按一下后揭下制成玻片。粘贴法用于菌丝或子实体着生于病组织或基物表面的材料制片,特别适用于观察分生孢子在分生孢子梗上的着生情况。

(4) 挑取法: 采用挑取法可以直接用挑针从病组织或基物(如培养基)上挑取表面的霉状物、粉状物或孢子团制成玻片。也可以先将埋生或半埋生的真菌子实体(如子座、分生孢子器、子囊壳等)连同部分病组织一同排列载玻片上,再用挑针将病菌子实体剥离出来制片。

还可以用刀片刮取或用小镊子镊取病部子实体来制片。

(5) 组织透明法: 用水合氯醛或乳酚油或氢氧化钾液将病组织整体透明后再制成玻片。用于观察寄主组织内的细菌、真菌菌丝、吸器、子实体等,可以观察到病原物在寄主内的原有状态。

取病组织小块浸在乳酚油内煮30分钟,材料透明后取出制片。如病原物结构无色时还可加棉蓝、苯胺蓝或酸性品红等染料染色。

少量病组织材料可以放在载玻片上,滴加乳酚油后在酒精灯上徐徐加热至蒸气出现。如此处理数次,待组织透明后加盖玻片进行镜检。

(6) 徒手切片: 徒手切片是日常制作临时玻片时最常用的一种方法。制成的玻片可保持寄主组织和病原物原有的色泽,还可以观察病组织和病原物的解剖结构。切得好的徒手切片并不比石蜡切片差,而且非常方便。用树脂、指甲油或油漆封固后还可以作为半永久玻片保存。

选取病状典型、病征明显的病组织材料制作徒手切片,先在病健交界处切取病组织小块(边长5—8mm),一般的叶片或茎秆皮层组织可直接放在载玻片上或小木块上,用食指轻轻压住,随着手指慢慢地后退,用刀片将压住的病组织小块切成很薄的丝或片,切下的薄片立即放在盛有清水的培养皿或载玻片上的水滴中,用挑针或接种针挑取薄而合适的材料放在另一干净载玻片上的浮载剂液滴中央,盖上盖玻片,仔细擦去多余的浮载剂,即制成

一张临时玻片。

病材料较粗大坚硬的，可用手指捏紧后用锋利的剃刀或单面刀片切。材料较小而柔软的，可夹在新鲜的胡萝卜或马铃薯块中间，连同夹持物一起切成薄片，以下的制作步骤同叶片病组织制片。

病组织材料很干燥的，为防止切片时发生破碎，可先沾少量水湿润软化后再切。

徒手切片获得的是病组织及病原物的剖面薄片，因而能够观察着生于寄主表面的病原物形态，也能够观察寄主组织内部的病原物。如寄主薄壁细胞内的细菌、埋生于寄主组织内的真菌子实体结构等等。此外，徒手切片还可以用来观察和研究寄主组织的病理变化情况。如分期或分段取病组织材料做徒手切片，能够观察病原物的侵染过程，病原物在寄主组织内的扩展情况，以及寄主组织本身的病理反应和变化等。

4. 实验时间 3 学时。

5. 作业与思考题

- (1) 认识病原真菌菌丝、无性孢子、有性孢子有何意义？
- (2) 植物病原真菌的生活史包括哪几个阶段？
- (3) 填图，注明各部分的名称（图 2）。

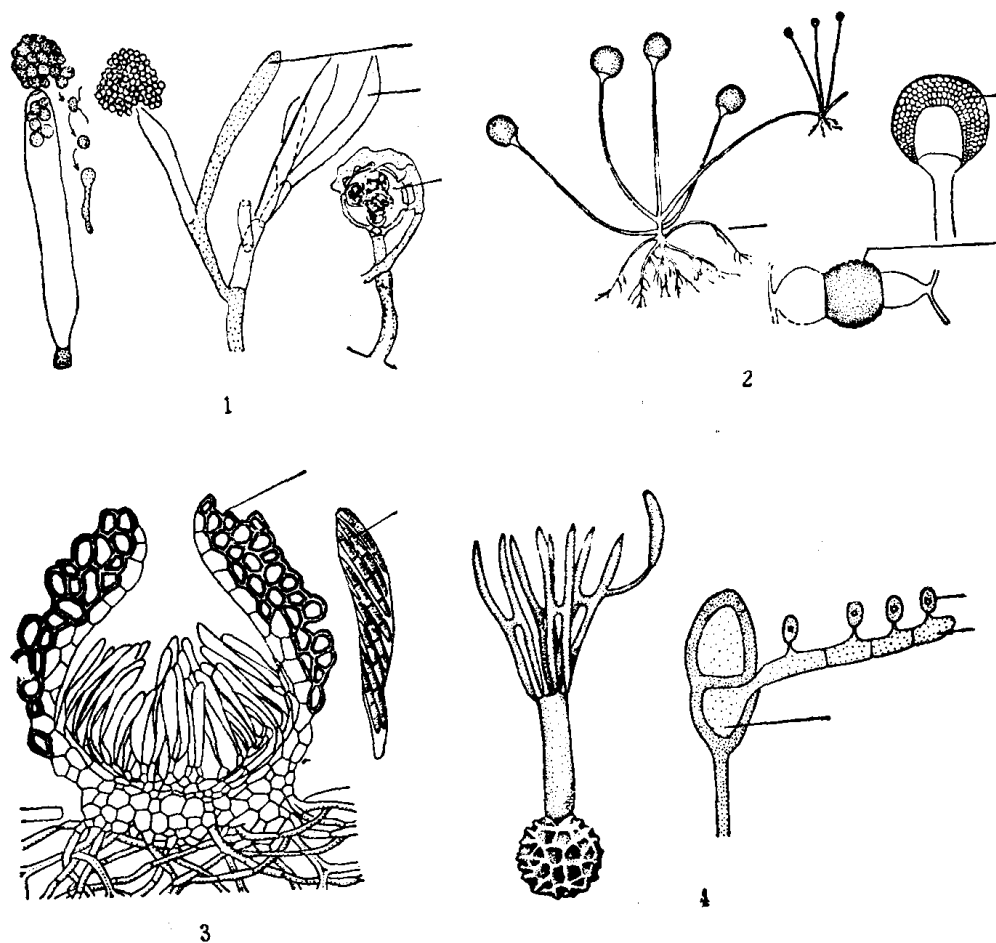


图 2 病原真菌子实体形态图（填注各部分名称）

1. 鞭毛菌 2. 接合菌 3. 子囊菌 4. 担子菌

实验三、鞭毛菌亚门真菌及所致病害

鞭毛菌亚门真菌是一类低等真菌，其中不少是水生的。它们的共同特征是无性繁殖时产生有鞭毛的游动孢子。根据菌体的形态和游动孢子鞭毛的特征而分为根肿菌纲、壶菌纲、丝壶菌纲和卵菌纲。

1. 目的要求 通过实验要了解鞭毛菌亚门真菌的主要形态特征，掌握与植物病害有关的重要属的形态特征、分类依据及所致病害的症状特点（图3），同时学习使用检索表来鉴定病菌，为分类鉴定打下初步基础。实验分两次完成。

2. 材料和用具

2.1 标本材料或永久玻片（任选3—4种）

根肿菌属：芸苔根肿菌（*Plasmodiophora brassicae*）及病害

多粘霉属：禾谷多粘霉（*Polymyxa graminis*）及病害

节壶菌属：玉米褐斑病菌（*Physotherium maydis*）及病害

绵霉属：水稻烂秧绵霉菌（*Achlya* spp.）、烂秧

腐霉属：瓜果腐霉菌（*Pythium aphanidermatum*）

疫霉属：致病疫霉（*Phytophthora infestans*）或烟草疫霉（*Phytophthora nicotianae*）及病害

指梗霉属：粟白发病菌（*Sclerospora graminicola*）及病害

单轴霉属：葡萄霜霉病菌（*Plasmopara viticola*）及病害

假霜霉属：黄瓜霜霉病菌（*Pseudoperonospora cubensis*）及病害

霜霉属：十字花科植物霜霉病菌（*Peronospora parasitica*）及病害

白锈属：十字花科蔬菜白锈病菌（*Albugo candida*）及病害

水霉和腐霉游动孢子形成和释放的录相。

2.2 用具 显微镜、擦镜纸、浮载剂（蒸馏水或乳酚油）、载玻片、盖玻片、挑针、刀片、小木块、吸水纸、酒精灯、火柴。

3. 内容与方法

3.1 根肿菌纲（*Plasmodiophoromycetes*） 根肿菌纲真菌都是寄主细胞内专性寄生菌，其营养体是没有细胞壁的原生质团。繁殖时整个营养体转变为繁殖体。休眠孢子囊萌发时释放出游动孢子，孢子前端生双鞭毛，不等长，尾鞭式。

（1）芸苔根肿菌：是本纲常见的植物病原菌，它是细胞内的专性寄生物，危害植物引起肿根。观察病害标本的症状，注意受害植株的根特别粗而肿大。镜检切片中的病原菌，受害细胞内有病原菌的营养体，为形状不定的原生质团。有的寄主细胞内可见到许多堆积在一起的鱼籽状颗粒，是病菌的休眠孢子。休眠孢子有细胞壁。注意比较有病原菌侵害的寄主细胞与无病原菌的细胞的大小及内含物。

（2）马铃薯粉痂病：只发生在马铃薯的皮层组织，不深入根内部组织。受害马铃薯

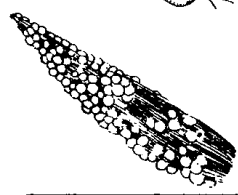
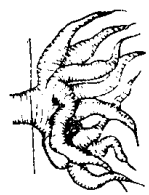
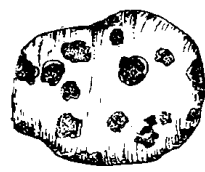
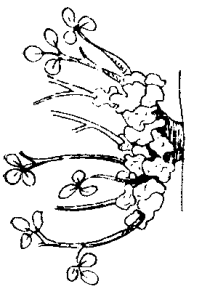
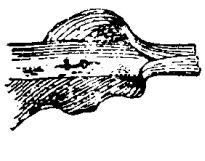
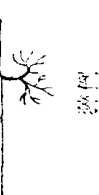
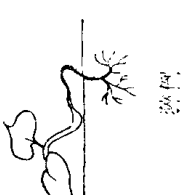
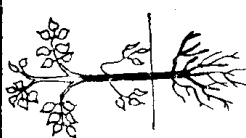
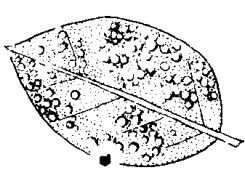
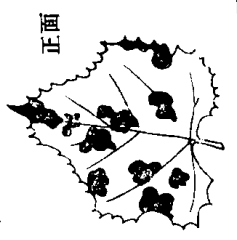
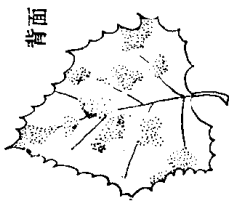
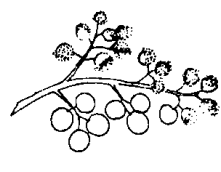
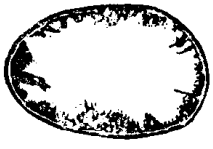
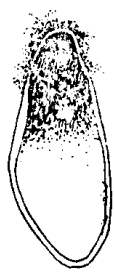
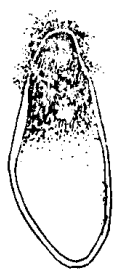
鞭毛菌纲  粘菌  肿根  疮痂	壶菌纲  黑斑  黑斑
卵菌纲  烂种  猝倒  枯萎病 (萎蔫)  根茎腐	接合菌纲  白锈  霜霉  背面  正面  腐烂  软腐
接合菌亚门  软腐  果腐  瓜腐  面包霉变	接合菌亚门  软腐  果腐  瓜腐  面包霉变

图3 鞭毛菌和接合菌亚门真菌引致病害的症状
 鞭毛菌纲：粘菌、根肿、马铃薯粉痂、黑斑、冠霉、玉米根腐
 卵菌纲：猝倒、立枯、根腐、根病、软腐、白锈、霜霉、接合菌亚门：软腐、果腐、花腐、面包霉
 (仿Agrios)

表皮粗糙。镜检马铃薯粉痂病菌切片，在寄主根的皮层组织的受害细胞中可看到病原菌的休眠孢子，多个休眠孢子聚集呈海绵球或空心球。有病菌的寄主细胞并不明显肿大。

(3) 禾谷多粘霉：寄生于麦类根表皮细胞或叶鞘表皮细胞中，被寄生的寄主表皮细胞不肿大。该菌本身对寄主细胞危害不大，被寄生的表皮细胞呈褐色小点，必须仔细观察才能见到。选取有小褐点的根，用解剖刀或镊子撕取小麦根基皮层，制成临时玻片，镜检。病菌的休眠孢子常有规律的呈条状排列。

3.2 壶菌纲 (Chytridiomycetes) 壶菌纲真菌的特征是产生具后端生单鞭毛、尾鞭的游动孢子。菌体无隔多核、球形、卵形或丝状体，有的具假根，通常具细胞壁。实验可用尾囊壶菌的紫云英结痂菌或玉米节壶菌为材料。

节壶属 (*Physoderma*) 营养体变形虫状，其间有丝状体相联；休眠孢子扁球形。观察由玉蜀黍节壶菌 (*P. maydis*) 为害玉米引起的褐斑病标本，注意受害部位病斑颜色及特点如何？属于哪种症状类型？用针挑取受害病组织内呈黄褐色粉末状物制成临时玻片，或对病组织作徒手切片，镜检可见到许多金黄色扁球状的休眠孢子囊。

3.3 卵菌纲 (Oomycetes) 卵菌纲有发达的菌丝体，菌丝没有隔膜。无性繁殖形成游动孢子囊，其中产生多个游动孢子。游动孢子具两根鞭毛，其中一根鞭毛为羽毛状，称为茸鞭，茸鞭朝前；另一根为直鞭状，称为尾鞭，尾鞭朝后。有性阶段经过异型的雄器和藏卵器交配，在藏卵器中形成一个或几个卵孢子。

卵菌纲中与植物病害关系密切的是水霉目和霜霉目。水霉目真菌大部分是水生的腐生菌。霜霉目真菌多半是陆生的寄生菌，较高等的霜霉目真菌常为陆生的专性寄生物。

3.3.1 水霉目 通常生活于水中或潮湿土壤中，营腐生生活，仅少数与植物病害有关，如寄生稻苗引起烂秧，无性繁殖产生圆柱形、棒形、洋梨形的游动孢子囊。游动孢子具两游现象。游动孢子囊具层出现象。藏卵器内含1至多个卵孢子。

(1) 水霉属 (*Saprolegnia*)：孢子囊圆筒形或棍棒状，新的孢子囊从老的孢子囊内的基部长出。游动孢子具明显的两游现象〔水稻烂秧水霉菌 (*S. monilifera*)〕。

(2) 绵霉属 (*Achlya*)：孢子囊圆筒形或棍棒形，新孢子囊从老孢子囊基部外侧长出，孢子囊呈聚伞形排列，游动孢子第一个游动时期很短〔水稻烂秧绵霉菌 (*A. spp.*)〕。

观察水稻烂秧症状，注意病谷的颖壳裂口处和幼芽基部有白色放射形棉絮状物，是病菌的营养体。用镊子取一生病的幼苗放于盛有浅水的培养皿中，直接在低倍镜下检查，或用镊子小心撕下病苗上的棉絮状物制成临时玻片镜检。病菌菌丝较粗、无隔。有些菌丝顶端原生质较浓，色较深，其基部与菌丝交界处有一横隔（注意调节可变光栏，在较暗的视野下才可看清楚横隔），是病菌的游动孢子囊。有的孢子囊内无原生质，是已释放游动孢子的空孢子囊。注意比较游动孢子囊和菌丝的形态有无显著区别。注意孢子囊的层出现象，属于哪种层出类型？游动孢子的释放过程及游动情形，是迅速离开孢子囊还是在排孢孔口处休止、聚集？

注意是否产生有性器官，仔细观察藏卵器、卵孢子、雄器的形态、雄器的位置、藏卵器内含单卵球或多卵球。

根据所观察到的病原菌形态，掌握这两个属的区别和主要特征，并参照水霉属和绵霉属的分类依据，推测你所看到的病菌属于哪个属。