

前 言

《普通植物病理学实验指导》是与国家级精品课程教材《普通植物病理学》配套使用的实验课教材，既可作为植物保护专业本科学生《普通植物病理学》的配套实验教材，又可作为独立开设普通植物病理学实验课的教材，还可作为植物病理学研究工作者的参考书。

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的能力为重点。为此，在实验内容上除了选用传统普通植物病理学实验的植物病害病原物形态观察、验证性实验外，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。

目前，国内多数农业院校的普通植物病理学实验教学利用多媒体或影像展示等电化教学手段。因此，本书压缩了观察性实验的次数，扩大每一次观察性实验的容量，设置了综合性和设计性实验课。在普通植物病理学实验教学课时的安排上，大多数院校设置了实验课和教学实践（实习）环节，并采用集中上课的模式。根据植物病理学实验课程的特点，实际上，许多技术操作性实验难以在规定的3学时中完成全过程，有些实验需要长达几个月才能完成。采用集中上课时，往往需要由指导教师或实验技术人员替代学生完成部分的实验内容。这种实验难以达到普通植物病理学实验的教学目的。因此，在课时安排上建议将实验课和教学实践（实习）课统筹安排，将一定学时集中上课和一定学时分散操作相结合，这更能满足植物病理学实验课程的教学要求。同时，建议实验室对学生开放。本书将大部分观察性实验课、综合性和设计性实验课作为实验室对学生开放实验的主要内容，使学生除在规定的集中上课时间内进入实验室外，在课外时间可根据时间与实验室条件进入实验室继续完成相关的实验，从时间上保证了学生可独立完成每个实验的内容。

本书共28个实验，包含植物病害的症状类型观察，各类病原物的形态观察，病原物的分离、培养、接种、致病过程的观察，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，植物病害的流行和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，如血清学技术、电镜技术、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，使培养的学生能适应现代植物病理学发展的要求。在实验内容安排上，将观察性实验课时的比重降低，提高了操作技能训练实验课时的比重，加入

了“植物病害的诊断与病原物的鉴定”、“病原物的致病性分化鉴定”和“寄主植物的抗病性鉴定”3个综合性、设计性实验。实验内容分为必做实验（实验一至实验八、实验十至实验十二、实验十七）和选做实验（实验九、实验十三至实验十六、实验十八至实验二十八），不再区分实验课和教学实践（实习）课。对选做实验，教材使用单位可根据教学条件和学生的兴趣选择相关实验内容；全体学生可同时选一个实验，也可分成若干小组，不同组选做不同实验。其中，实验二十六至实验二十八是综合性、设计性实验，建议每个学生至少选做其中一个实验。

本书主要按目的要求、材料与仪器、实验内容和方法、作业与思考题的体例编写。本书既可满足目前许多院校独立开设普通植物病理学实验课的要求，又可满足将实验课作为《普通植物病理学》课程组成部分的要求。

本书的编写是在国家级精品课程教材《普通植物病理学》编写委员会指导下进行的，由福建农林大学植物病理学系、植物病毒研究所一批从事实验教学多年的教师和实验技术人员共同完成。参与编写的有刘国坤（实验一、实验八和实验十二）、鲁国东（实验二、实验三、实验四）、王宝华（实验二、实验三、实验四、实验十二和实验十九）、蔡学清（实验五、实验六、实验七、实验十四、实验二十、实验二十一、实验二十三和实验二十六）、唐乐尘（实验五、实验六和实验二十二）、许文耀（实验九、实验十三、实验十四、实验十七、实验二十五、实验二十七和实验二十八）、林成辉（实验十和实验十一）、林丽明（实验十五、实验十六、实验十八、实验十九和实验二十）、洪永聪（实验十三、实验二十五、附录 I 和附录 II）、陈玉森（实验二十四和附录 II）。初稿完成后，由许文耀、刘国坤、蔡学清三位老师负责统稿。感谢胡方平教授、张绍升教授审稿。在本书编写期间，得到福建农林大学植物病毒研究所、植物病理学系和科学出版社的大力支持和帮助，在此谨致谢意。

限于编者的水平，书中疏漏和错误在所难免，敬请各位同行和读者不吝批评指正。

编 者

2006年6月18日

目 录

前言

实验一 植物病原类型及病害症状观察	1
一、目的要求	1
二、材料与仪器.....	1
三、实验内容和方法.....	1
(一) 植物病原物的基本形态观察	1
(二) 植物病害的症状观察	3
四、作业与思考题	6
实验二 根肿菌、卵菌与接合菌门菌物形态特征观察	7
一、目的要求.....	7
二、材料与仪器.....	7
三、实验内容和方法.....	7
(一) 根肿菌门特征观察	7
(二) 卵菌门特征观察	8
(三) 接合菌门菌物特征观察	12
四、作业与思考题	13
实验三 子囊菌形态特征观察	14
一、目的要求	14
二、材料与仪器	14
三、实验内容和方法	14
(一) 古子囊菌	15
(二) 丝状子囊菌类	15
四、作业与思考题	22
实验四 担子菌形态特征观察	23
一、目的要求	23
二、材料与仪器	23
三、实验内容和方法	23
(一) 冬孢菌纲	23
(二) 黑粉菌纲	26
(三) 其他担子菌	29
四、作业与思考题	29

实验五 半知菌形态特征观察 (一)	30
一、目的要求	30
二、材料与仪器	30
(一) 材料	30
(二) 仪器	30
三、实验内容和方法	30
(一) 丝孢目	31
(二) 瘤座菌目	32
(三) 束梗孢目	33
(四) 无孢目	33
四、作业与思考题	34
实验六 半知菌形态特征观察 (二)	35
一、目的要求	35
二、材料与仪器	35
(一) 实验材料	35
(二) 实验仪器	35
三、实验内容和方法	35
四、作业与思考题	37
实验七 植物病原细菌及其所致病害症状观察	38
一、目的要求	38
二、材料与仪器	38
(一) 各种细菌性病害的标本	38
(二) 培养物	38
(三) 其他材料和仪器	38
三、实验内容和方法	39
(一) 植物细菌性病害的症状观察	39
(二) 植物病原细菌的琼脂平板培养性状的观察	40
(三) 革兰氏染色	40
(四) 鞭毛染色程序	42
四、作业与思考题	46
实验八 植物病原线虫的形态观察	47
一、目的要求	47
二、材料与仪器	47
三、实验内容和方法	47
(一) 腐生线虫	47
(二) 线虫的形态观察	47

(三) 植物寄生线虫主要属的形态观察	48
四、作业与思考题	52
实验九 非侵染性病害症状观察	54
一、目的要求	54
二、实验材料	54
三、实验内容和方法	54
(一) 营养缺乏症的观察	54
(二) 药害症状的观察	56
(三) 大气污染的急性毒害症状观察	56
(四) 温度不适受害状观察	57
四、作业与思考题	58
实验十 消毒与灭菌技术	59
一、目的要求	59
二、材料与仪器	59
三、实验内容和方法	59
(一) 消毒	59
(二) 灭菌	60
四、作业与思考题	64
实验十一 培养基的制作技术	65
一、目的要求	65
二、材料与仪器	65
三、实验内容和方法	65
四、作业与思考题	68
实验十二 病原物的分离和培养	69
一、目的要求	69
二、材料与仪器	69
(一) 材料	69
(二) 仪器	69
三、实验内容和方法	70
(一) 病原菌物、细菌、线虫的分离	70
(二) 培养	72
(三) 培养性状观察	72
四、作业与思考题	73
实验十三 病原物的越冬(夏)形态与菌物孢子的萌发	74
一、实验目的	74
二、材料与仪器	74

(一) 材料	74
(二) 仪器	75
三、实验内容和方法	75
(一) 病原菌的越冬(夏)	75
(二) 菌物孢子的萌发	76
四、作业与思考题	77
实验十四 种子带菌检验和种子处理	78
一、实验目的	78
二、材料与仪器	78
三、实验内容和方法	78
(一) 种子带菌率的检验	78
(二) 种子消毒	80
四、作业与思考题	81
实验十五 植物病毒的提纯	83
一、目的要求	83
二、材料与仪器	83
三、实验内容和方法	83
四、作业与思考题	84
实验十六 植物病毒的接种与传染	85
一、实验目的	85
二、材料与仪器	85
三、实验内容和方法	85
四、作业与思考题	87
实验十七 植物病原物的接种	88
一、目的要求	89
二、材料与仪器	89
三、实验内容和方法	89
(一) 菌物、细菌的常用接种方法	89
(二) 病毒的接种	91
四、作业与思考题	91
实验十八 植物病毒的电镜观察	92
一、目的要求	92
二、材料与仪器	92
三、实验内容和方法	92
四、作业与思考题	93
实验十九 植物病原物的 PCR 检测	94

一、目的要求	95
二、材料与仪器	95
(一) 材料	95
(二) 仪器	95
三、实验内容和方法	95
(一) 溶液配制	95
(二) DNA 提取	97
(三) PCR 检测	99
(四) 电泳检测	99
(五) 植物病毒的 PCR 检测	100
四、作业与思考题	101
实验二十 植物病原物血清学检测	102
一、目的要求	103
二、材料与仪器	103
三、实验内容和方法	103
(一) 抗血清的制备	103
(二) 血清学反应	104
四、作业与思考题	107
实验二十一 植物病原细菌的生理生化特性测定	108
一、目的要求	108
二、材料与仪器	108
三、实验内容和方法	108
(一) 生长温度	108
(二) 耐干能力	109
(三) 耐盐性	109
(四) 好氧性和厌氧性	110
(五) 发酵实验	111
四、作业与思考题	112
实验二十二 植物病原检索鉴别的计算机辅助系统	114
一、植物病原检索研究和应用现状	114
二、植物病原计算机检索软件的原理和使用技术	115
三、病原计算机检索的关键技术	117
(一) 知识、信息数据库的构建	117
(二) 植物病原检索的计算机实现	118
(三) 网络化查询模式的计算机应用技术	119
四、前景展望	120

实验二十三 植物病害调查 ·····	121
一、目的要求·····	121
二、材料与仪器·····	121
三、实验内容和方法·····	121
(一) 一般调查·····	121
(二) 重点调查·····	121
(三) 植物病害田间调查的时间和次数·····	122
(四) 常用取样方法·····	122
(五) 病情的计算与表示法·····	122
四、作业与思考题·····	123
五、附录：几种常见病害的严重度分级标准·····	124
实验二十四 植物病害标本采集与制作 ·····	127
一、目的要求·····	127
二、材料与仪器·····	127
三、实验内容和方法·····	128
(一) 标本的采集·····	128
(二) 标本的整理·····	129
(三) 标本的制作·····	130
四、作业与思考题·····	138
实验二十五 植物病原物的计测与显微描绘 ·····	140
一、目的要求·····	142
二、材料与仪器·····	142
(一) 材料·····	142
(二) 仪器·····	143
三、实验内容和方法·····	143
四、作业与思考题·····	145
实验二十六 植物病害的诊断与病原物的鉴定 (综合性实验) ·····	146
一、目的要求·····	147
二、实验方案设计·····	148
三、实施·····	148
四、作业与思考题·····	148
实验二十七 病原物的致病性分化鉴定 (设计性实验) ·····	149
一、目的要求·····	149
二、实验方案设计·····	149
三、实施·····	150
四、作业与思考题·····	150

五、附录：几种作物病害病原物小种鉴定的鉴别品种和生理小种命名方案·····	150
实验二十八 寄主植物的抗病性鉴定（设计性实验） ·····	154
一、目的要求·····	154
二、实验方案设计·····	155
三、实施·····	155
四、作业与思考题·····	155
五、附录：几种作物病害的抗性分级标准·····	155
附录 I 植物病理学常用培养基 ·····	161
附录 II 植物病理学常用溶液和试剂 ·····	166
附录 III 植物病理学实验室守则 ·····	175
主要参考文献 ·····	176

实验一 植物病原类型及病害症状观察

植物病害是植物与病原在外界环境条件影响下相互作用并导致植物生病的过程。植物病害根据病原类型可分为两大类：一类由非生物病原引起的非侵染性病害，即不适宜的物理和化学因子所引起的病害。另一类由生物因素引起的侵染性病害，即病原物所引起的植物病害。植物病害的病原物主要有菌物、细菌、病毒、线虫、寄生性植物等。

植物生病后，会产生一定的病理变化程序。无论是侵染性病害或是非侵染性病害，首先在植物体内发生一系列生理病变，继而细胞和组织发生病变，最后表现为植物外部可见的症状。

一、目的要求

植物病害的病原物主要有菌物、细菌、病毒、线虫、寄生性植物等。通过实验观察，初步识别这些病原物的基本形态和结构特点；结合植物病害症状观察，掌握规范描述和记载植物病害症状的方法；了解各类病原物所致植物病害症状的异同点，理解植物病害的概念，为学习和掌握植物病害的诊断技术奠定基础。

二、材料与仪器

解剖针、载玻片、盖玻片、放大镜或体视镜、显微镜、记载用具，实验前采集的新鲜植物病害标本，实验室保存的各种类型的植物病害或病原物标本。多媒体幻灯片、挂图或图片等，植物病原菌物的平板培养物、植物病原细菌的平板培养物、分离的活线虫等。

三、实验内容和方法

(一) 植物病原物的基本形态观察

1. 植物病原菌物

植物病原菌物是真核生物，营养方式为吸收营养，典型的营养体为菌丝，多数菌丝的直径在 $5\sim 6\ \mu\text{m}$ 。菌丝由于隔膜的有无可分为无隔菌丝和有隔菌丝。菌物在马铃薯葡萄糖琼脂（PDA）平板上形成圆形或近圆形、四周呈放射状的菌落，菌落可包括菌丝体、子实体和孢子等菌体结构。

(1) 菌物菌落观察

观察平板培养基上腐霉菌（*Pythium* sp.）和镰刀菌（*Fusarium* sp.）菌落

特征，注意观察菌落大小、形状、质地、颜色等培养性状。

(2) 菌物营养体观察

用解剖针挑取植物病原菌物平板培养物于载玻片上的乳酚油中，盖上盖玻片，在光学显微镜下观察。注意菌丝的形状，有无分隔等；观察子实体和孢子的形态特征。

2. 植物病原细菌

植物病原细菌属于原核生物的单细胞生物，其繁殖方式一般是裂殖，在牛肉汁蛋白胨琼脂（NA）平板上一般可形成黏质状的菌落，菌落的形状、质地和颜色等培养性状是细菌分类和鉴定的依据。

细菌菌落观察 观察平板培养的水稻白叶枯病菌（*Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae*）和白菜软腐病菌（*Pectobacterium carotovora* subsp. *carotovora*）的菌落特征。注意观察菌落大小、形状、质地、颜色等培养性状。

注意比较菌物菌落与细菌菌落的特征。

3. 植物病毒的内含体观察

植物病毒是非细胞生物，由核酸和蛋白质衣壳组成杆状、球状、丝状等形态的病毒粒体，大小可用纳米表示，只能用电子显微镜才可观察其粒体的形态。病毒是植物细胞内寄生物，一些病毒在植物细胞内可以形成内含体。

观察烟草花叶病毒（*Tobacco mosaic virus*，TMV）和黄瓜花叶病毒（*Cucumber mosaic virus*，CMV）的电镜照片，注意观察病毒粒体形状、大小。

观察烟草花叶病毒（*Tobacco mosaic virus*，TMV）的结晶状内含体。

4. 植物病原线虫的形态特征

植物病原线虫为低等无脊椎动物，多为雌雄同形，在显微镜下观察，虫体为乳白色透明线形，少数线虫为雌雄异形，雌虫洋梨形或球形；线虫的长一般不到1 mm，宽0.05~0.1 mm。

体视镜下观察培养皿中活动的潜根线虫（*Hirschmanniella* sp.）或其他雌雄同形线虫，并观察根结线虫（*Meloidogyne* sp.）或胞囊线虫（*Heterodera* sp.）的雌虫和雄虫。

5. 寄生性植物

寄生性植物是指因缺乏叶绿素，不能营光合作用或某些器官退化而成为异养的寄生植物。

观察菟丝子（*Cuscuta* sp.）、桑寄生（*Loranthus* sp.）或列当（*Orobanche*

sp.) 的标本。注意观察叶片有无、寄生部位、与寄主接触部位等情况。

(二) 植物病害的症状观察

植物病害症状是诊断植物病害的重要依据，症状可区分为病状和病征。病状是指植物生病后本身形态上表现出的各种异常变化，如颜色变化、形态变化、质地变化等。病征是指在植物染病部位出现的病原物体（繁殖体或营养体）。例如，植物菌物病害在染病部位出现霉层、粉状、黑点、颗粒等结构，植物细菌性病害在染病部位出现菌脓。植物病毒引起的病害及非侵染性植物病害等没有病征的表现。

1. 病状类型

植物病害的症状类型主要分为变色、坏死、腐烂、萎蔫和畸形五大类。

(1) 变色

变色大多发生在叶片上，由于叶绿素的形成受阻或破坏而发生不同程度的褪绿或出现其他色素。有时，果实、种子和花瓣也会出现各种变色。变色的主要类型如下：

褪绿或黄化 整张叶片或者叶片部分均匀地变色。褪绿是由于叶绿素的减少而使叶片表现为浅绿色；当叶绿素的量减少到一定程度则出现黄化。观察植物缺铁或缺氮症，小麦黄矮病等病害标本。

花叶与斑驳 叶片不均匀地变色。花叶是由形状不规则的深绿、浅绿、黄绿或黄色的变色斑块相嵌形成的杂色，不同变色部分的轮廓清晰。如果变色部分的轮廓不很清楚，称作斑驳。观察烟草普通花叶病、菜豆花叶病等病害标本。

(2) 坏死

坏死是植物局部细胞和组织的死亡，常随病原和发病部位的不同而表现不同的坏死类型。主要类型如下：

斑点 局部细胞组织坏死而形成的病斑。病斑因形状、大小和颜色而异区分为条斑、圆斑、角斑、褐斑、黑斑等。观察玉米小斑病、稻瘟病、枇杷角斑病、水稻细条病、烟草环斑病等标本。

枯死 局部或大面积组织的焦枯和死亡。观察马铃薯晚疫病、水稻白叶枯病等标本。

穿孔、落叶和落果 在病斑外围的组织形成离层，使病斑从健康组织中脱落后形成穿孔；有些植物的花、叶、果等受害后，在叶柄或果柄附近产生离层而引起过早的落叶、落果等。观察桃叶穿孔病标本。

疮痂 果实、嫩茎、块茎等病组织木栓化，表面粗糙，病部较浅。观察柑橘疮痂病、甘薯疮痂病等标本。

溃疡 病部深入到皮层，组织坏死或腐烂，病部面积较大，稍凹陷，周围的寄主细胞有时增生或木栓化，多见于木本植物枝干上的溃疡症状。观察柑橘溃疡

病、苹果腐烂病、番茄溃疡病等标本。

猝倒和立枯 大多发生在植物的苗期，幼苗的茎基或根冠坏死，地上部萎蔫以致死亡。观察瓜苗猝倒病、蔬菜苗期立枯病等标本。

(3) 腐烂

腐烂指植物组织较大面积的分解和破坏。根、茎、叶、花、果都可发生腐烂，幼嫩或多肉的组织则更容易发生。腐烂与坏死有时不易区别。一般来说，腐烂是整个组织和细胞受到破坏和消解，而坏死则多少还保持原有组织的轮廓。腐烂根据病组织失水快慢可以分为干腐、湿腐、软腐。观察甘薯茎线虫病、苹果腐烂病、桃菌核病、大白菜软腐病、柑橘贮藏期青霉病等标本。

(4) 萎蔫

萎蔫指全株茎叶呈失水状萎垂甚至枯死。引起植物萎蔫的原因有生理性和侵染性两种。典型的萎蔫症状是指植物根茎的维管束组织受到破坏而发生的凋萎现象，而根茎的皮层组织还是完好的。凋萎如果只在高温强光照条件下发生，早晚仍能恢复的称为暂时性萎蔫，出现凋萎后不能恢复的称为永久性萎蔫。观察番茄青枯病、瓜类镰刀菌枯萎病、棉花枯萎病、棉花黄萎病等标本。注意观察植物根部是否变色，用刀片将植物茎部或根部纵切，观察其维管束组织是否变色。

(5) 畸形

由于病组织或细胞的生长受阻或过度增长而造成的形态异常，包括叶、花、枝、果等各种反常生长的形状。植物病害的畸形症状类型很多，常见的有以下几种：

徒长 指植物节间明显过度生长，病株比健株明显高，如水稻恶苗病。

矮缩和丛生 矮缩是指植物节间缩短或停止生长，病株比健株矮小得多，如玉米矮化病。观察水稻矮缩病、小麦黄矮病、香蕉束顶病、玉米矮化病标本。丛生是枝条或侧根异常的增多，导致丛枝或丛根。观察枣疯病、小麦丛矮病、苹果发根病、龙眼丛枝病标本。

瘤肿 病部的细胞或组织因病原物的刺激而增生或增大，呈现出瘤肿。观察桃根癌病、番茄根结线虫病、白菜根肿病、玉米瘤黑粉病标本。

卷叶 叶片卷曲或皱缩，有时病叶变厚、变硬，严重时呈卷筒状。观察马铃薯卷叶病、蚕豆黄化卷叶病标本。

蕨叶 叶片变成丝状、线状或蕨叶状。观察番茄蕨叶病、辣椒蕨叶病、双子叶植物的2, 4-D药害标本。

畸果或小果 畸果指果实变形，小果指果实比一般的瘦小。观察杀菌剂或除草剂引起的果实药害标本。

疱斑 在叶面或果实上有凸起或凹下部分，表面不平，形成疱斑，往往凸的部分颜色变深。观察烟草黄瓜花叶病毒病标本。

花变叶 染病后，植物的花器变成叶片结构，使植物不能正常开花结实。如玉米霜霉病。

此外，一些病毒病会产生特异性的畸形症状，如耳突或脉肿、扁枝、肿枝、茎沟、拐节等。

2. 病征类型

植物病害的病征是在植物发病部位产生的病原物体，主要有以下 8 类：

(1) 霉状物

霉状物是许多菌物病害的常见病征。不同病原物类群可形成特征性不同的霉层，如青霉、绿霉、灰霉、黑霉、霜霉等。观察瓜类腐霉病、十字花科蔬菜霜霉病、甘薯软腐病、柑橘青霉病、稻瘟病、黄瓜灰霉病标本。

(2) 锈状物

植物的发病部位，特别是茎、叶表面产生黄色或褐色的铁锈状突起物，并散发出铁锈色粉末，这是由锈菌侵染引起的病征；有些植物的发病部位产生白色疱疹状物，如白锈菌引起的十字花科白锈病、旋花科白锈病。观察小麦锈病、菜豆锈病、十字花科白锈病标本。

(3) 粉状物

有些植物叶片、枝条或果实被病菌侵染后，表面产生一层粉末状物，如许多植物的白粉病。有些植物被病菌侵染后，病组织全部或局部产生黑色粉末状物。有时黑色粉末状物包裹在表皮组织内，如禾谷类植物的叶部、茎秆或穗部黑粉病。观察瓜类白粉病、小麦散黑粉病、水稻粒黑粉病、小麦秆黑粉病、水稻叶黑粉病标本。

(4) 小黑粒和小黑点

植物发病部位表面生成黑色的或褐色的小颗粒，大多是病原菌物的子实体。观察小麦白粉病、茶叶轮斑病、黄麻秆枯病标本。

(5) 煤污状物

植物发病部位表面覆盖一层煤状物，也是病原菌物形成的，如茶煤病、柑橘煤污病、桑污叶病等。

(6) 菌核

植物发病部位形成各种圆形、不规则形或鼠粪状物体。观察水稻纹枯病、稻曲病、瓜类菌核病、油菜菜菌核病、辣椒白绢病等的菌核，注意菌核的形状、颜色等特征。

(7) 菌脓

菌脓是在潮湿条件下，一些细菌病害在发生部位表面以及伤口、水孔、皮孔分泌出乳白色或黄色黏液状物质。一些菌脓干燥后呈鱼子状。观察水稻细菌性条

实验二 根肿菌、卵菌与接合菌门 菌物形态特征观察

根肿菌门、卵菌门和接合菌门是菌物中的三个主要类群，有些根肿菌门、卵菌门和接合菌门菌物可引起植物病害。

一、目的要求

通过本实验了解根肿菌门、卵菌门和接合菌门菌物的主要形态特征，掌握与植物病害有关的重要属的基本形态特征、分类依据及其所致病害的症状特点。观察菌物的异宗配合现象。同时，学习使用检索表来鉴定病菌，为菌物的分类鉴定打下初步基础。

二、材料与仪器

1. 材料

芸薹根肿菌、马铃薯粉痂菌、串囊水霉菌、稻绵霉菌、瓜果腐霉菌、致病疫霉菌、辣椒疫霉菌、粟白发病菌、葡萄生轴霜霉菌、黄瓜霜霉病菌、莴苣霜霉菌、十字花科植物霜霉病菌、白锈菌、果实腐烂病菌、甘薯软腐病菌、瓜类花腐病菌等。上述病菌所致病害的相关标本。

2. 仪器

显微镜，擦镜纸，装有浮载剂的滴瓶，挑针、刀片、小垫板，载玻片，盖玻片，小纱布；挂图，幻灯片。

三、实验内容和方法

(一) 根肿菌门特征观察

根肿菌门 (Plasmodiophormycota) 菌物全部为专性寄生菌，寄生于高等植物的根和茎内、藻类和其他水生菌物上，引起寄主细胞的非正常增大（过度生长）和寄主细胞的非正常增殖，被害部位形成肿瘤。根肿菌具有明显的水生习性，营养体为原生质团，繁殖时整个营养体转变为繁殖体（厚壁休眠孢子、薄壁游动孢子囊），整体产果式，内生式，具变形虫式运动和获食行为。所有根肿菌都产生具前生双鞭毛的游动孢子（休眠孢子萌发时释放出的），均为尾鞭，不等长。

1. 根肿菌属 (*Plasmodiophora*)

根肿菌是常见的植物病原菌，它是细胞内的专性寄生物，危害植物引起根肿。观察病害标本的症状，可见受害植株的根肿大而特别粗。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子状颗粒，是病菌的休眠孢子，休眠孢子近球形，有细胞壁。生活史的大部分时期以单倍体状态出现。观察芸薹根肿病菌 (*P. brassicae*) 的切片，注意在寄主细胞内观察成堆的休眠孢子，受病原菌危害的寄主细胞的大小及内含物与正常细胞（无病原菌的细胞）的区别。

2. 粉痂属 (*Spongospora*)

观察马铃薯粉痂病标本，镜检观察马铃薯粉痂病菌 (*S. subterranea*) 的切片，注意马铃薯块茎皮层上形成的疮痂状小瘤及寄主细胞内由休眠孢子聚集成多孔的海绵状圆球。

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，球形至多角形，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。

两属的主要区别 根肿菌属的休眠孢子囊彼此分离，不能结成休眠孢子囊堆，似鱼子状充塞寄主细胞。粉痂属的休眠孢子囊成熟联结成休眠孢子囊堆，呈多孔隙的海绵状球体。

(二) 卵菌门特征观察

卵菌门 (Omycota) 菌物是海水、淡水和陆地上常见的一类生物。无性繁殖由孢子囊或游动孢子囊产生梨形或肾形的游动孢子。游动孢子具等长双鞭毛，茸鞭在前，尾鞭在后。有性繁殖通过异型的雄器和藏卵器交配，在藏卵器中形成一个或多个卵孢子。

卵菌门仅有一个卵菌纲。卵菌纲中与植物病害关系密切的是水霉目和霜霉目。水霉目菌物大部分是水生的腐生菌。霜霉目菌物多半是陆生的寄生菌，较高等的霜霉目菌物常为陆生的专性寄生物。

1. 水霉目 (Saprolegniales)

水霉目菌物的主要特征是藏卵器中形成一个以上的卵孢子；游动孢子具两游现象，游动孢子囊不脱落，与菌丝无显著差异，该目与植物病害关系较大的有以下两属：

(1) 水霉属 (*Saprolegnia*)

水霉属菌丝发达，有分枝、无分隔。孢子囊棍棒形，产生在菌丝顶端。游动孢子两游现象明显，即在孢子囊中形成的梨形双鞭毛游动孢子自孢子囊逸出，经过一段休止后又形成肾脏形双鞭毛的游动孢子。孢子囊形成层出现象，即新孢子囊从老孢子囊内的基部长出。藏卵器球形、卵形，内含一至多个卵孢子，雄器侧生。镜检培养皿中用芝麻籽或大米粒诱发培养的水霉菌，注意观察菌丝和游动孢子囊的形态，菌丝和游动孢子囊区别是否明显？次生游动孢子囊是否从初生游动孢子囊的空壳内生出？藏卵器内卵孢子数是一个，还是多个？能否看到藏卵器和雄器交配？能否看到游动孢子释放的现象？

串囊水霉菌 (*S. monilifera*) 为害水稻秧苗根部，可引起烂秧。

(2) 绵霉属 (*Achlya*)

镜检培养皿中用芝麻籽或大米粒诱发培养的绵霉菌，注意和水霉属菌物的区别，能否看到单个或成串产生的厚壁孢子的情况以及游动孢子释放后聚集在孢子囊附近的情形？

绵霉属的形状特征基本同水霉属。主要区别：①第一型游动孢子游动期短，即成熟的游动孢子从孢子囊中游出后立即成团聚集于孢子囊孔口上呈休止状，以后变为肾脏形双鞭毛的游动孢子。②孢子囊圆筒形或棍棒形，孢子囊的形成为侧生现象，即新孢子囊从老孢子囊基部外侧长出，并可重复多次，孢子囊呈聚伞形排列。③藏卵器中卵球数较少，为一至数个。雄器生于藏卵器基部。

稻绵霉 (*A. oryzae*)、鞭绵霉 (*A. flagellatae*)、层出绵霉 (*A. prolifera*) 为害水稻秧苗，可引起水稻烂秧。

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。

2. 霜霉目 (Peronosporales)

霜霉目菌物与水霉目菌物的主要区别是藏卵器中只形成一个卵孢子，游动孢子没有两游现象，孢子囊一般是产生在特殊分化的孢囊梗上，孢子囊较易从孢囊梗上脱落。

根据孢囊梗的形态特点和孢子囊的发生方式，霜霉目分为腐霉菌科 (Pythiaceae)、白锈菌科 (Albuginaceae) 和霜霉菌科 (Peronosporaceae)。许多霜霉目菌物是重要的植物病原菌，该目与植物病害关系密切的有以下几个属：

(1) 腐霉属 (*Pythium*)

腐霉属孢囊梗与菌丝无明显区别。孢子囊丝状、球形或姜瓣状，成熟后一般不脱落。菌丝状的孢子囊与菌丝无区别，但孢子囊与菌丝之间有隔膜分开。孢子囊萌发时生出小管，在小管的顶端形成一个水泡状孢囊，孢子囊中未分化的原生

质体通过此管进入泡囊，并在泡囊内进行游动孢子的分化。游动孢子肾脏形，双鞭毛。藏卵器近球形、柠檬形或椭圆形，卵周质薄，单卵球，形成一个卵孢子；雄器侧生或附于藏卵器的底部。

瓜果腐霉菌 (*P. aphanidermatum*) 可以引起多种经济作物幼苗的猝倒病和果实的绵腐病。

观察蔬菜幼苗猝倒病标本，注意受害部位和症状的特点。切取一小块生长旺盛的瓜果腐霉菌 (*P. aphanidermatum*) 并移至清水中，在 18~20℃ 下培养 24~36 h，然后用解剖针从水中挑取少量菌丝制片镜检。观察菌丝有没有隔膜？游动孢子囊形状？与菌丝的差别是否明显？着生孢子囊的孢囊梗和菌丝的形态有无差别？能否看到孢子囊萌发的情景？

(2) 疫霉属 (*Phytophthora*)

疫霉属孢囊梗从气孔伸出，单生或 2~4 根束生，呈假轴状分枝，无限生长。即孢囊梗形成孢子囊后可以继续生长，在顶端又形成孢子囊，并将先前形成的孢子囊推向一侧，如此继续生长，一枝孢子囊梗可产生多个孢子囊，使孢子囊梗上部呈节状。因此，孢子囊实际是从侧生位置上脱落下来的。孢子囊柠檬形，具乳突，成熟后脱落或不脱落。孢子囊萌发产生游动孢子或芽管。游动孢子肾形，双鞭毛，藏卵器穿雄生（也称雄器下位。雄器较藏卵器小，位于藏卵器下面，即藏卵器穿过雄器而受精），球形壁厚，卵周质不明显，单卵球。

观察马铃薯晚疫病、辣椒疫病或芋疫病标本，注意症状特点，仔细观察叶片上病斑的位置，大小、状态、颜色，边缘是否清楚，是否产生灰白色的霉层（特别是叶背面）？镜检病菌切片，观察孢囊梗、游动孢子囊和游动孢子，注意孢囊梗分枝的特点及游动孢子囊的形状。孢囊梗和菌丝的形态有何不同？

比较马铃薯晚疫病菌 (*P. infestans*) 和腐霉菌的藏卵器与雄器的着生方式有何区别？

霜霉科是霜霉目中分化程度最高的一科，全部种都是维管束植物专性寄生菌，引起霜霉病，在经济上很重要。此科种类的孢囊梗是有限生长的，形态相当稳定。孢囊梗成熟后便停止生长，然后在分枝顶端的小梗上产生大量的孢子囊。孢囊梗与菌丝有明显区别，并呈特征性分枝。孢子囊为圆形、卵形或柠檬形，并全部脱落，经风传播。

(3) 霜霉属 (*Peronospora*)

霜霉属孢囊梗呈双叉式锐角分枝 2~10 次，末端尖锐。孢子囊卵圆形，无色或有色，萌发产生芽管。藏卵器内卵周质明显，卵孢子圆球形，单个，表面光滑或有饰纹。

观察十字花科霜霉病标本，注意受害部位及症状特点。镜检观察寄生霜霉菌 (*P. parasitica*) 孢囊梗的形态，注意孢囊梗分枝特点及分枝末端的特征、有性生殖阶段藏卵器内部的结构特点。