

灯蛾虫霉的观察和鉴定

武觀文 常绍慧 王德祥

(北京林学院, 北京)

我们于1978年在云南昆明地区,发现灯蛾等鳞翅目昆虫幼虫因感染虫霉而发生流行病。经分离、鉴定,病原菌为灯蛾虫霉 (*Entomophthora aulicae*), 并对该菌侵染的粉白灯蛾 (*Alphaca phasma*) 作了病理切片。

虫霉属 (*Entomophthora*) 的真菌, 常在害虫种群中突然导致流行病, 并可在短时间内抑制害虫的猖獗。因此, 很早就引起了人们的重视。我国在这方面做的工作甚少, 仅见有蝇虫霉 (*E. muscae*)^[1]、蝗虫霉 (*E. grylli*)^[1]、蚜虫霉 (*E. aphidis*)^[2] 及圆孢虫霉 (*E. sphaerosperma*)^[3] 的报道。常见感染灯蛾虫霉的有鳞翅目夜蛾总科中的灯蛾科、夜蛾科和毒蛾科的虫种^[4,5]。现将昆明温泉地区见到的几种灯蛾、夜蛾流行感染灯蛾虫霉的观察和病原菌分离、鉴定情况报道如下:

材 料 和 方 法

(一) 标本

自野外采集的罹病粉白灯蛾幼虫。观察分生孢子内脂肪球系采用苏丹 III 染色液, 在 37℃ 染色一小时^[6]。

(二) 组织病变观察

采用石蜡切片法进行。先将罹病的粉白灯蛾幼虫, 按下列情况分为 4 组: 1. 明显感病即将死亡的幼虫; 2. 病死 36 小时, 虫体长出灰白色菌丝的幼虫; 3. 病死在室温放置一个月的幼虫; 4. 健康幼虫 (对照)。然后用 Bouin 氏酒精固定液固定两天, 再在 70% 酒精中作不定期贮藏。取虫体第二腹节埋蜡切片, 切片厚度为 8—10 微米, 用 Heidenhain 氏铁矾苏木精染色^[7], 进行观察。

(三) 分离培养

将病虫尸体置于无菌培养皿中, 待释放分生孢子后, 用接种环刮取少许分生孢子, 接种蛋黄斜面培养基^[8]。我们曾采用过小麦蛋白胨培养基^[9], 其组份 (%) 如下: 小麦浸出液 3, 蛋白胨 2, 酵母膏 1, 甘油 1, 洋菜 2, pH6.8—7.0。小麦浸出液制法: 取小麦 (本试验用同量麦麸代替) 30 克, 加水 500 毫升, 煮沸一小时。

结 果

(一) 感染情况

灯蛾虫霉菌流行感染粉白灯蛾主要在 9 月上旬至 10 月底。我们于 9 月 19 日在野外调查了几株低矮的楸树, 共有粉白灯蛾幼虫 113 条, 因感染灯蛾虫霉而死亡的有 63 条 (占 55.8%), 到 9 月 29 日调查时, 只有两条存活, 其它均死亡。

将捕捉的粉白灯蛾幼虫分两缸饲养于室内, 每缸 80 条。一缸悬挂罹病虫体, 释放病菌孢子进行感染; 另一缸作为对照。观察 15 天, 试验组因感染而死亡的幼虫共有 49 条 (占 61%), 对照组无死亡。

(二) 症状

感染灯蛾虫霉的粉白灯蛾幼虫, 多附着在楸树的叶柄。小枝或叶的背面, 刚死

本文于 1979 年 3 月 5 日收到。

部分工作由夏乃斌、林均武同志协助完成, 特此致谢。

亡的虫体变软,后逐渐肿胀变硬,虫体无臭味。死亡后 24 小时的虫体长出分生孢子梗,并逐渐覆盖全部虫体,使虫体成为浅褐色,随即开始向虫体四周释放分生孢子。此后,虫体干缩变小,头部和尾部稍稍抬起而离开附着物,但腹足则牢固地紧抓住附着物(图版 I-1)。

林间草地上的两种灯蛾幼虫感染灯蛾虫霉后,攀登到植物的顶端,死后头部抬起(图版 I-2);夜蛾科的一种幼虫感染该菌后,爬向植物顶端,头部向下而死(图版 I-3)。

将感染患病的粉白灯蛾幼虫置于培养皿中,盖好盖保湿。1—2 天内可释放出大量分生孢子,形成较大的孢子晕圈,感病的老龄粉白灯蛾幼虫的孢子晕圈可达 7×55 厘米左右(图版 I-4)。

(三) 病原菌的形态

早期感染的幼虫,体内首先生长大量虫菌体。这些虫菌体呈球形,椭圆形或肾形,待幼虫死后,虫菌体逐渐萌发呈不规则形(图版 I-5)。虫菌体大小为 $44.9(\pm 26.6) \times 27.3(\pm 10.4)$ 微米(测定数 50)。虫菌体内具有多核(图版 I-6),核直径平均约为 3.5 微米(测定数 40)。

分生孢子梗不分枝,微呈波浪形弯曲,产孢细胞呈瓶状或棒状(图版 I-7 及 II-8)。产孢细胞长为 $95.6(\pm 16.0)$ 微米,宽为 $20.4(\pm 4.6)$ 微米(测定数 50)。

释放出堆集在一起的分生孢子呈灰白色,分生孢子的形状为梨形到广梨形,基部有一明显钝的乳头状突起。在孢子中有一大型脂肪球,易被苏丹 III 染色(图版 I-8)。分生孢子为多核,核直径大小平均为 3.5 微米(测定数 40)。分生孢子大小为 $34.4(\pm 7.4) \times 27.4(\pm 8.7)$ 微米(测定数 50)。

分生孢子萌发位置不固定,在载玻片上做萌发试验时,常见原生质流入菌丝的

顶端,在靠近分生孢子的一侧,不断形成横隔,把原生质分隔在端部,而靠近孢子的部分则成为空壳(图版 I-9)。

有时分生孢子萌发后形成次生孢子,其着生位置不固定,大小与分生孢子相同或稍小。次生孢子梗长短不一,在 $11.4—102$ 微米(图版 I-13)。

常见分生孢子的囊皮脱落,刚刚释放的分生孢子就见有脱落的囊皮,而释放较久的孢子制作压水片时可见很多脱落的囊皮。

未见有固定形状的休眠孢子。在放置较久的病虫尸体中存在着大量具有平滑厚壁的老熟菌体(图版 I-10),大小为 $37.3(\pm 25.2) \times 21.2(\pm 7.6)$ 微米(测定数 50)。其壁的厚度在 $0.9—4.6$ 微米,经染色见其中有多核(图版 I-11),核直径大小平均为 3.6 微米(测定数 40)。这些菌体除具有厚壁之外,其形状与虫菌体无大区别。经连续观察,这些菌体像是由虫菌体的壁加厚而成。因此,在某种意义上也可称之为不规则形状的休眠孢子。

在感病虫体上未见有囊状体和假根存在。

(四) 组织病变

正常粉白灯蛾幼虫的横切面上可以见到体壁是由表皮层、上皮细胞和薄的底膜组成。在表皮层上有较多的刺。中肠肠壁的内层是围食膜,外层是肠壁细胞层和肌肉层。肠壁与体壁之间的空隙为体腔。体腔中有肌肉束,脂肪体,背血管,腹神经索,马氏管或气管(图版 II-14、15)。

在明显感病即将死亡的粉白灯蛾幼虫切片上,可以见到体腔内有大量球形或椭圆形的虫菌体。这些虫菌体多围绕脂肪体而分布(图版 I-12 及 II-16)。脂肪体细胞明显变形和被分解,而虫体表皮层的内表皮也遭破坏(图版 II-16)。肌肉束断面显

著缩小。马氏管断面变得透明,但未见有虫菌体。中肠的肠上皮细胞已有相当程度的溶解和破坏,在肠上皮与围食膜之间出现了较大的空隙,在围食膜里包围着食物(图版 II-17)。

在感病死亡 36 小时的幼虫切片上,可见到大量分生孢子梗突破虫体表皮,有时呈簇状分布,有时均匀分布在表皮上。在分生孢子梗上生长分生孢子(图版 II-18)。此时肠壁变得很薄,已观察不到细胞构造。围食膜已不存在,但体腔中还残存有少量的肌肉组织和气管的螺旋丝(图版 II-19)。

感染死亡一个月的幼虫切片可见,分生孢子梗干缩,分生孢子脱落,体内虫菌体的壁加厚,成为老熟菌体,昆虫体壁仅剩下一层薄的表皮层(图版 II-20)。在体腔中,除见有气管的螺旋丝之外,很少见到残存的各种组织物质,似乎已全部被分解。在原肠壁中的食物还明显可见(图版 II-21)。

(五) 分离培养

虫霉菌属的很多种菌,分离培养都较困难。在天然培养基上培养,菌丝生长稀疏且皱缩^[8]。我们根据报道^[5],用蛋黄培养基分离培养灯蛾虫霉,转接 3 代生长弱,菌落小,不扩展,中央突起。菌体生长后,释放的分生孢子弹射到斜面试管壁上,萌发很快。室温(20℃左右)下培养 10 天,即形成了较大的菌体, $93.0 (\pm 70.2) \times 73.3 (\pm 43.8)$ 微米(测定数 40)。这些菌体呈球形、椭圆形或带形,很多形成了 1.8—10.7 微米的厚壁(测定数 40)。

讨 论

1. 分生孢子的形状和大小在虫霉菌的鉴定上是重要的依据。Macleod 等^[5]提出,将产生分生孢子的虫霉菌属真菌分为 3 个

组。灯蛾虫霉包括在分生孢子呈梨形到近球形的组内,分生孢子端部为圆形,基部有一个钝的乳头状突起,大小在 $29.5—47.5 \times 23.0—39.5$ 微米。青木对灯蛾虫霉也有相似的描述^[4]。

我们的观察结果与 Macleod、木青的描述大都相同,不同的是我们未观察到球形的休眠孢子。这一点与 Sheldon 发现在灯蛾类幼虫上无休眠孢子是一致的^[5]。

根据上述情况,我们将昆明温泉地区以粉白灯蛾为主要感染寄主的虫霉菌鉴定为灯蛾虫霉 *Entomophthora aulicae* (Reich) Sorok。

2. 在幼虫感染初期,菌体围绕脂肪组织大量生长,似乎对脂肪组织有着特殊的嗜性。Schweizer 提出^[9],蝇霉的生长受到加入培养基中苍蝇脂肪抽出物的刺激。因此,虫霉的培养可能与虫体脂肪有关。

3. 虫霉菌属真菌在培养基上难以培养,但是用活虫进行繁殖,并把它引入到昆虫的种群中,从而起持久防治作用的实例已有几起^[7]。灯蛾虫霉曾被人工利用,在较大的地区防治棕尾毒蛾^[5]。

参 考 文 献

- [1] 邓叔群:《中国的真菌》,科学出版社,北京,第 78 页,1963。
- [2] 苏德明、忻介六:植物保护学报,2(2):221—223,1963。
- [3] 戚穆、罗亨文:微生物学报,16(3):256—257,1976。
- [4] 青木清:昆虫病理学,技报堂,261,1957。
- [5] Macleod, D. M. and E. Müller-Kögler: *Mycologia*, 65:830—840, 1973。
- [6] 田中克巳(长伯译):《显微镜标本制作法》,科学出版社,北京,第 271 页,1961。
- [7] Burges, H. D. and N. W. Hussey: *Microbiol control of insects and mites*, Academic Press, 1971. 广东农林学院林学系等译:《昆虫和螨类的微生物防治》,科学出版社,第 39 页,446 页,1977。
- [8] Srinivasan, M. C. et al.: *Mycologia*, 56: 683—690, 1964。
- [9] Schweizer, G.: *Planta*, 35:132—176, 1947。

THE OBSERVATION AND IDENTIFICATION OF *ENTOMOPHTHORA AULICAE* (REICH) SOROKIN

Wu Jin-wen Chang Shae-hui Wang De-xiang

(*Beijing Forestry Institute, Beijing*)

The epidemic disease on larvae *Arctiidae* and other insects of *Lepidoptera* infected by entomogenous fungi was found in Hot Spring region, Anning county (Kunming district), Yunnan in 1978. The pathogen has been identified

as *Entomophthora aulicae* (Reich) Sorok. The identification of this causal agent was based on isolation, inoculation and pathological anatomy (paraffin section) of the infected *Alphaea phasma*.

芽枝枝孢霉对柑桔红蜘蛛的寄生性

梁 子 超

(华南农学院林学系, 广州)

曾 壮 图

(广东省农业科学院果树研究所, 广州)

我们在广东省博罗县国营杨村柑桔场,发现寄生于柑桔红蜘蛛的芽枝枝孢霉 (*Cladosporium cladosporioides* Fres de Vries), 自然感染率在博罗县为 10.0—81.0%, 在广州市郊为 6.5—26.9%。

致病力测定的结果表明: 将茶麸水 (1:200) 孢子悬液 (含孢子数约为 3.0×10^7 孢子/毫升) 喷于红蜘蛛身上, 24 小时开始死亡, 3 天后开始大量长出枝孢霉, 死亡率 3 天为 62.3%, 5 天为 88.1%, 7 天为 97.2%。红蜘蛛感病后, 枝孢霉的分生孢子梗从红蜘蛛的足部、腹部、臀部或口器长出。本试验结果表明: 芽枝枝孢霉有明显的侵染性和致病力, 是柑桔红蜘蛛的一种寄生菌。

红蜘蛛是柑桔的主要害虫。过去有关柑桔红蜘蛛寄生菌的报道^[1-5], 只有虫霉菌 (*Entomophthora* sp.) 和多毛孢菌 (*Hirsutiella* sp.) 和病毒。1975 年, 1976 年我们先后在博罗县和广州市郊发现柑桔红蜘蛛大量自然死亡, 死亡率分别为 10.0—81.0% 和 6.5—26.9%, 绝大部分死虫身上长有一种芽枝枝孢霉。为了确定这种芽枝枝孢霉的寄生性, 我们观察了它的分类学的特征和孢子萌发习性, 并进行了致病力的测定。

柑桔红蜘蛛芽枝枝孢霉的 鉴定和特征

柑桔红蜘蛛芽枝枝孢霉 (*Cladosporium cladosporioides* Fres de Vries)^[1] 属于半知菌类, 从梗孢目, 暗色孢科, 枝孢霉属。

芽枝枝孢霉的分生孢子梗从寄主体表 (足部、腹部、臀部或口器) 长出 (图 1)。青黄色, 有横隔, 长 68—433 微米, 宽 3—6 微米; 分生孢子连接成链状分枝, 形成簇丛, 链较长; 分生孢子近圆柱形、卵形、柠檬形

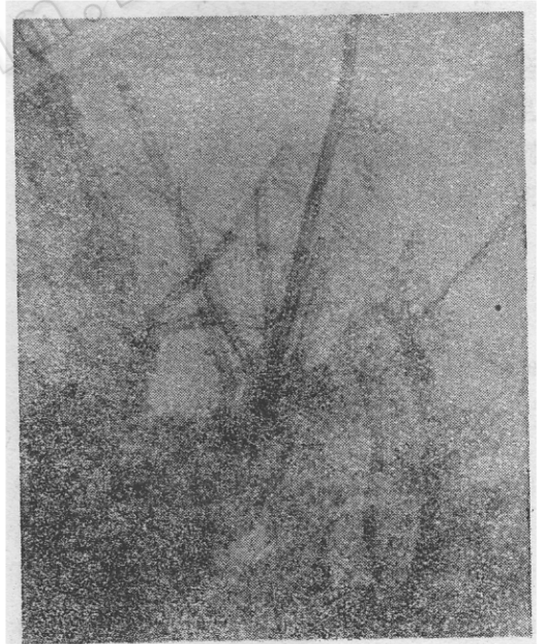


图 1 芽枝枝孢霉在柑桔红蜘蛛体上的
分生孢子梗和分生孢子

本文于 1978 年 11 月 22 日收到。

本文经林孔湘教授审阅, 黄艳萍同志参加部分工作, 一并感谢。

1) 种名承中国科学院微生物研究所陈庆寿同志鉴定。

或椭圆形,常有出芽孔痕,颜色与分生孢子梗同或稍浅色。有0—3个横隔,多数为单胞,表面光滑,较小,3—22×3—6微米(图2)。

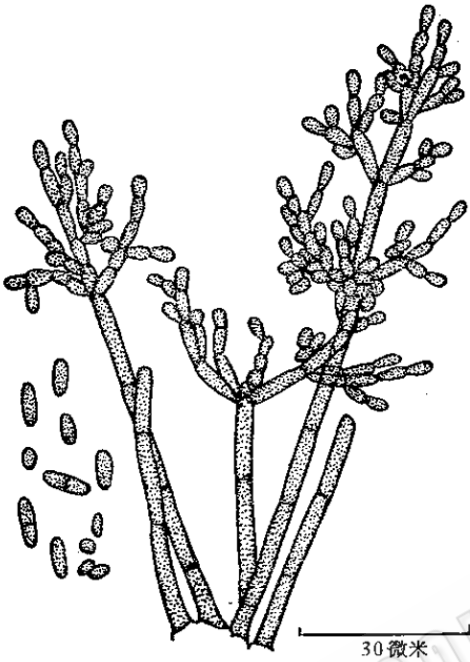


图2 芽枝枝孢霉的分生孢子梗和分生孢子

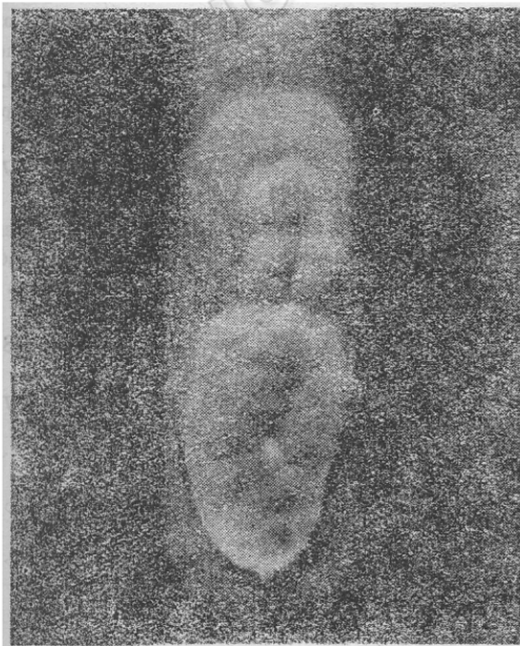


图3 芽枝枝孢霉在察氏培养基上的菌落

在培养基上菌丝体平伏,菌落略有局限,厚绒毛状,幼时灰绿色,老后灰褐色,背面带墨绿色(图3)。枝孢霉用1%蔗糖水在载玻片上培养后,在低倍显微镜下观察,可见最初形成的孢子以出芽方式繁殖,最后形成大的树状簇丛。孢子连接的结构在液体制片时容易破坏而分散。

纯种的分离培养和孢子萌发试验

从田间采回长有芽枝霉的虫尸,用消毒解剖针将虫尸直接移置于培养基平板上,放于21—30℃下培养5天长出芽枝霉后,从菌落边缘进行一次移植,即获得纯菌。移植培养时,培养基斜面常为细菌所污染。为了抑制细菌的生长,在制培养基时加长效土霉素或长效四环素(每300毫升培养基加抗生素2克,每克含土霉素或四环素500,000单位)。较适合芽枝霉生长的培养基是加0.5%蛋白胨的察氏培养基。

从田间取回罹病虫尸,将虫尸上的分生孢子移置载玻片上的茶麸水、洗衣粉水和松脂合剂的液滴中,以及自来水的水滴中,用里面有吸水纸保湿的培养皿进行保湿,让孢子在室温下进行萌发,每2小时观察孢子萌发数一次,24小时计算各项处理

表1 几种展着剂对芽枝枝孢霉孢子萌发的影响

展着剂	浓 度	总孢子数(个)	萌发率(%)
茶 麸 水	1:100	198	76.7
	1:200	182	82.4
	1:500	204	89.2
洗衣粉水	1:1000	196	1.0
	1:5000	204	3.9
	1:10000	246	94.3
松脂合剂	1:200	248	4.3
	1:500	244	0.8
	1:1000	295	4.4
清 水		217	61.1

的孢子萌发结果,结果见表1。枝孢霉的分生孢子在载玻片上的自来水水滴中经6小时开始萌发;1:200—500倍茶麸水和1:1,000倍洗衣粉水显著提高孢子的萌发率;1:1,000—5,000倍洗衣粉水和1:200—1,000倍松脂合剂显著降低孢子的萌发率。

对红蜘蛛致病力的测定

用无菌水或茶麸水将培养基上的孢子配成孢子悬液,每支试管加无菌水或茶麸水10毫升,含孢数约为 3.0×10^7 孢子/毫升。以医用喉头喷雾器(CFQ-S双管喷雾器)将孢子悬液均匀地喷于带虫子的叶片上,至全叶湿透为止。干后将带虫子的叶片放入内有吸水纸保湿的大培养皿内,在21—31℃下进行饲养。对照则用清水喷湿,

表2 柑桔红蜘蛛用芽枝枝孢霉接种的结果

接种用的孢子悬液	处理	接种后天数	总虫数(条)	死亡率(%)	长霉死亡率(%)
清水孢子悬液	1 接种	1	90	36.0	1.2
	对照		91	6.5	0
	2 接种	2	82	41.9	3.1
	对照		74	7.3	2.2
	3 接种	5	81	50.0	25.6
	对照		64	10.7	3.4
	4 接种	11	50	90.0	52.2
	对照		41	18.8	9.4
茶麸水(1:200)孢子悬液	1 接种	2	127	49.5	5.5
	对照		27	7.4	0
	2 接种	3	144	62.3	28.0
	对照		27	7.4	0
	3 接种	5	101	88.1	44.5
	对照		26	15.4	0
	4 接种	7	101	97.2	84.7
	对照		24	42.1	5.3

饲养条件与处理的相同。每天或隔天检查活虫、死虫和长出芽枝枝孢霉的死虫的数目一次。结果见表2。

虫体喷射清水孢子悬液,接种24小时后开始陆续死亡,5天后虫子开始大量长出芽枝枝孢霉,死亡率7天为50%,11天为90%,虫体喷射茶麸水孢子悬液,接种24小时后开始死亡,3天后虫子开始大量长出枝孢霉,死亡率3天为62.3%,5天为88.1%、7天为97.2%。

讨论和结论

枝孢霉属(*Cladosporium*)的真菌,许多是腐生菌,不少是植物病原菌,少数寄生于动物上。Fawcett^[1]对于发现在昆虫上的枝孢霉是否是一种寄生菌还不敢肯定。我们从柑桔红蜘蛛虫尸分离到的枝孢霉,经致病力测定,证明对柑桔红蜘蛛有明显的侵染性和致病力,是柑桔红蜘蛛的一种寄生菌。

参考文献

- [1] Fawcett, H. S.: Biological Control of Citrus Insects by Parasitic Fungi and Bacteria, Citrus Industry (ed. Bachelor L. O. and H. J. Webber), Vol. 2, 1948, pp. 627—664.
- [2] Garner, G. R. and T. Don Canerday: *J. Econ. Ent.*, 61(4):956—959, 1968.
- [3] Lipa, J. J.: Microbial Control of Mites and Ticks, Microbial Control of Insect and Mites (ed. Burges H. D. and N. M. Hussey), 1971, pp. 357—384.
- [4] Muam, M. H.: *J. Econ Ent.*, 48:432—438, 1955.
- [5] Smith, K. M. and A. W. Cressman: *J. Insect pathol.*, 4:229—236, 1962.

PARASITIZATION OF *CLADOSPORIUM CLADOSPORIOIDES* (FRES) DE VRIES ON CITRUS RED MITES

Liang Zi-chao

(Department of Forestry, South China Agricultural College)

Zeng Zhuang-tu

(Institute of Pomology, Academy of Agricultural Science of Guangdong Province)

Cladosporium cladosporioides (Fres.) de Vries, was found to parasitize citrus red mite, *Panonychus citri* (McGregor), in Kwangtung Province, China. The mortality of parasitized citrus red mites in the field varied with localities and collection dates ranging from 6.5—26.9% in an unsprayed orchard in Guangzhou to 10.0—81.0% in sprayed ones in the Polo County, Kwangtung.

Pathogenicity tests were carried out with spore suspension in 0.5% tea bran solution at a concentration of 3.0×10^7

spores/ml. The mites began to die in 24 hours, the mortality rates being 62.3%, 88.1% and 97.2% in 3, 5 and 7 days respectively, while those of checks were 7.4%, 15.4% and 42.1% respectively. The dead mites with typical symptoms appeared in 3 days. The conidiophore bearing conidia in branching chains of the fungus were found to grow out from the bodies of the dead mites. There is strong evidence that this fungus parasitizes the citrus red mite.