

茶树害虫病原微生物的调查研究初报

贵州农学院植保系微生物学教研组

湄潭茶叶科学研究所植保组

“以菌治虫”是综合防治害虫的主要措施之一。进行害虫病原微生物的资源调查,研究病原微生物的特性、发病条件和生产使用等工作,是开展“以菌治虫”工作的基础。为此,我们对贵州省茶树害虫的病原微生物进行了调查研究。本文介绍其初步结果。

样品采集和病原微生物分离

1976年,我们在湄潭茶科所、茶场和附近公社茶园,先后采集了罹病昆虫标本近100个。这些昆虫标本分属于鳞翅目、鞘翅目、半翅目、膜翅目、双翅目、同翅目和直翅目,有18个科,37个种,从这些昆虫尸体上分离到的病原微生物有真菌、细菌和病毒。

一、病原微生物的分离

从半月内未施农药的茶园里采集自然罹病死亡的昆虫,分别装入洁净的试管中,根据害虫症状进行不同处理。

(一) 脓病和软化病

取体内充满脓汁、体表无菌丝和粉状物的、软化的完整虫体标本,置于灭菌载片或平皿中,用无菌尖嘴镊从背部血管处撕破(大型昆虫可用灭菌剪刀剪断附肢,弃去第一滴血淋巴),取血淋巴涂片、镜检。同时移于沙氏培养基(葡萄糖20克,蛋白胨20克,水1,000毫升,琼脂18克)斜面上,32℃培养48小时后,取培养物涂片,镜检。若培养物和血淋巴涂片上的病原菌形态基本相同,即用无菌水洗下,喷于被试昆虫饲料上进行致病试验。

(二) 硬化病和虫霉病

取体表有菌丝缠绕并生有粉状物或子实体的僵硬虫体标本镜检。分离前对标本进行表面灭菌,只有菌丝缠绕的,可直接用火焰表面灭菌,然后取背部组织块在马铃薯葡萄糖琼脂培养基(以下简称PDA)或沙氏培养基上进行分离培养。有粉状物的,可用灭菌接种环先刮去表层,而后挑取内部粉状物划线或点种分离。能形成孢梗束的,可将虫体放在湿润环境中使其长出新的孢梗束,或将较粗的孢梗束表面灭菌后再进行组

织分离培养,菌落长出后再镜检。繁殖器形态若同于标本者移出,若无繁殖器出现,将组织块长出的近似于标本菌丝形态者移出。

二、病原确证和杀虫谱试验

对分离到的真菌、细菌菌株和病毒标本,分别进行致病试验。因受昆虫饲养条件的限制,没有采用以分离到微生物的原寄主昆虫进行确证,而是统一使用采自田间的3—6龄的菜青虫作为被试昆虫。此外,对一部分菌株还用茶刺蛾、褐刺蛾、茶小卷叶蛾、茶毛虫和稻纵卷叶螟、稻苞虫等害虫进行了杀虫谱试验。病毒标本采用对原寄主昆虫进行致病试验。

试验的细菌菌株于沙氏培养基斜面32℃培养,无芽孢菌类培养2天后,芽孢菌培养至形成孢子后,用无菌水洗下喷于被试昆虫饲料上,待干后于大平皿内喂饲昆虫。当昆虫出现同原标本相似的症状,并从血淋巴中再度分离出与原标本相同之细菌时,确证其为病原。

真菌菌株于PDA和沙氏培养基上26℃培养,形成孢子后,将被试昆虫和培养物直接接触,而后放在大平皿内饲喂,确证病原的标准如前所述。

病原微生物的鉴定

在采集的标本中,观察和分离确证的病原微生物有真菌20余株,细菌1株,病毒5株。真菌主要分属于头孢霉(*Cephalosporium*)、穗霉(*Spicaria*)、白僵菌(*Beauveria*)、虫草菌(*Cordyceps*)、球穗菌(*Sphaerostilbe*)和虫草菌(*Entomophthora*)等6个属,其中穗霉属所占的比例最大,头孢霉和虫草菌次之。细菌病原属于沙雷氏菌(*Serratia* sp.)。病毒基本属于多角体类。

一、头孢霉

我们分别从茶刺蛾蛹体、幼虫,一种步行虫和角蜡蚧、茶牡蛎蚧上分别分离到4个菌株,编号为201、204、301、2001。

201系从罹病的茶刺蛾分离得到。每年10月左右,茶刺蛾于茶蓬边缘常发生大量死亡,死虫僵硬,体表为稀疏纤细的白色菌丝所覆盖。无粉状物形成。该菌在

PDA 上培养 8 天后, 菌落直径 25 毫米, 色白, 絮状、笠形。菌落表面有 1—2 圈不太明显的同心轮纹。在沙氏培养基上形成绳状菌丝。孢子梗互生、轮生。分生孢子一般为 $1.3-2.0 \times 3.3-5.3$ 微米。室内用该菌处理菜青虫, 2 天内感染 100%, 5 天后死亡, 体表长满白色茸毛状菌丝。此菌对八角丁和稻纵卷叶螟也有一定致病性, 对茶毛虫无作用。

204、301、2001 三个菌株的培养性状基本相同, 培养 8 天后菌落直径 20—24 毫米, 菌丝一般宽度为 1.1—1.5 毫米, 呈白色絮状。菌落近似笠状, 但中央不规则下陷。分生孢子梗单生、互生、轮生。孢子的大小分别为 $0.8-1.8 \times 2.6-5.2$ 、 $1.1-1.4 \times 3.5-5.3$ 和 1.4×2.6 微米。它们的致病力与 201 相同。

二、穗霉

在调查中发现, 穗霉是寄生在茶树害虫范围较广、种类较多的一属病原真菌, 根据培养性状、个体形态和侵染昆虫后的症状, 把它们归为下列几个类群。

第一类群: 包括 203、701、702、1801 和 1901 五个菌株, 分别从茶刺蛾蛹体、一种膜翅目成虫、一种蝇、茶牡蛎和茶云纹尺蠖上分离得到。这一类群的共同点是: 在 PDA 和沙氏培养基上形成肉红色的棒状、乳突状、掌状和珊瑚状的孢梗束, 所感染的昆虫死亡后虫体表也会长出肉红色的各形孢梗束。5 个菌株在 PDA 上培养 8 天后, 气生菌丝白色、基质菌丝淡黄色, 1801 菌为较深的卵黄色。

在孢子形态方面, 701 菌孢子瓶状体的基部作球状膨大, 管状体较细长。1801 和 1901 菌的分生孢子呈瘦长的棱形 (表 1)。

表 1 穗霉第一类群各菌株形态特征比较表

菌株号	菌丝宽度 (微米)	孢子形状	孢子大小 (微米)	瓶状体大小 (微米)	其他
203	0.9—2.0	倒拟卵形	1.2×2.3	1.8×6.0	
701	1.8	橄榄形	$1.4-1.8 \times 2.8-3.5$	1.8×8.8	
		倒拟卵形			
702	1.2—2.0	长圆形	$1.4-1.8 \times 3.2-3.9$	$1.8-2.1 \times 5.3-8.8$	孢子梗多
		卵形			对生分枝
1801	1.0—3.5	倒拟卵形	$1.4-1.8 \times 3.2-3.9$	$1.8-2.1 \times 5.3-8.8$	
1901	0.95—2.5	棱形	1.4×3.2	$2.1-2.6 \times 6.2-7.9$	孢子梗多
		倒拟卵形			对生分枝

室内致病试验: 这些菌株在 36 小时内感病率都达 100%, 被试昆虫体表现出黑色侵染斑, 行动迟缓,

食欲减退, 不拉稀。701、702 和 1801 三株菌致病的昆虫, 虫体失去弹性, 萎缩变形, 4—5 天后虫体体表长出白色绒毛状菌丝而死亡。7 天后, 701、1801、1901 致死的昆虫体表长出白色至肉红色的粉状孢子和孢梗束。

701 菌对茶毛虫、稻纵卷叶螟、八角丁和一种刺蛾有不同程度的致病力, 702 菌对丽绿刺蛾有致病力。

第二类群: 本类群只有一个菌株, 即从罹病的茶毛虫蛹茧上分离到的 801 菌株。它的培养性状和个体形态特征, 与其它类群有明显差别。

801 菌在 PDA 上培养 8 天后, 基质菌丝中部为桔黄色, 菌落表面呈 1—2 圈明显的同心圆, 并具放射状沟纹。菌落剖面乳状隆起, 15 天后形成淡黄色至水红色粉状孢子。对一种木霉有明显的拮抗作用。在沙氏培养基上培养 20 天后, 可形成较紧密的棒状孢梗束。孢梗束的头部呈白色, 基部呈米黄色。

孢子形态: 分生孢子为典型橄榄形, 大小比例一致 (1.4×2.1 微米), 孢间连丝明显, 瓶状体为 $1.4-1.8 \times 5.3-17.6$ 微米。

室内致病试验: 36 小时内感染 100%, 有黑色侵染斑, 虫体失去弹性, 干缩, 带黄色。3—4 天死亡率为 100%。缠绕虫体表面的白色菌丝产生米黄色粉状分生孢子。

第三类群: 包括 401、601、2201 三个菌株, 分别是云尺蛾幼虫、小白尺蛾和米黑虫幼虫上分离得到。它们的主要特征是不形成孢梗束。在 PDA 上培养, 菌落背面中心部分为褐色, 外圈灰白色, 界限分明。对一种木霉有拮抗作用。分生孢子大小比较接近, 为典型的橄榄形, 瓶状体瘦长, 基部无明显膨大 (表 2)。

表 2 穗霉第三类群各菌株特征表

菌株号	菌丝宽度 (微米)	孢子形状	孢子大小 (微米)	瓶状体大小 (微米)
401	1.0—1.8	橄榄形	1.4×2.1	$1.4-1.8 \times 7.1-10.6$
601	0.85—2.0	橄榄形	1.8×3.5	$1.4-1.8 \times 8.8-15.8$
2201	1.2—2.0	橄榄形	1.4×1.9	$1.4-1.8 \times 7.0-8.8$

被试昆虫死亡时的突出症状是不僵硬, 体表面出现的菌丝短而少。7 天后出现白色粉状孢子, 无孢梗束。其中 601 对茶毛虫有较强的致病力。

第四类群: 包括 202、1020 两个菌株, 分别从茶刺蛾蛹茧和褐刺蛾幼虫上分离得到, 在 PDA 上培养 8 天后, 菌落白色, 202 菌为笠形, 15 天后形成白色到淡红色粉状孢子, 无孢梗束; 1020 菌菌落凸起, 只产生少量白色孢子。

孢子形态: 202 菌的瓶状体瘦长, 基部膨大不明显, 一般为 $1.4-1.8 \times 5.3-10.5$ 微米, 孢子橄榄形, 大小为 1.4×1.9 微米。1020 菌的瓶状体下部膨大显

著,一般为 $1.8-2.1 \times 5.3-7.0$ 微米,孢子橄榄形至球形,大小为 $1.4-1.6 \times 1.7-1.9$ 微米。

202 菌在田间自然致病力较高。显著症状是虫尸软化,有菌丝缠绕,但粉状孢子很少。1020 菌致死的菜青虫僵硬,为白色长絮状菌丝所缠绕,不形成粉状孢子。

三、白僵菌

在采集的标本中,从一种鞘翅目成虫上分离到2401 菌,从茶小卷叶蛾幼虫上分离到2601 菌。培养8天后,菌落为纯白色长绒毛状,菌落剖面为中央凸起,有白色孢子粉。个体形态:分生孢子的绝大部分呈卵形或长圆形,一般大小为 $1.8-2.0 \times 2.5-2.8$ 微米。菜青虫感染后的典型症状是:虫体上有小的黑色侵染斑,明显拉稀,早期尸体变形不僵硬,有白色菌丝缠绕,7天后变硬,出现少量白色粉状孢子。按白僵菌现有的分类标准,此两株菌均属于卵孢白僵菌(*Beauveria tenella*)。

四、虫草菌

褐刺蛾、茶刺蛾和一种小刺蛾的老龄幼虫和蛹茧,于每年10月左右常大量得病死亡,死虫体表面无菌丝缠绕,但虫体僵硬,内部充满黄白色菌丝。湿度大时,在虫尸体或蛹上长出桔红色或腥红色分枝的棒形子实体,一般高度可达20—40毫米。初步鉴定为蛹草(*Cordyceps militaris*)。此菌在PDA上培养8天后,菌落呈铬黄色,菌丝致密,地毡状,在菌落中心能形成1毫米左右尖削的孢梗束。菜青虫致病死亡后,虫体僵硬,亦呈鲜明的铬黄色。

五、球穗菌

茶园中的牡蛎蚧,常寄生一种真菌,罹病的蚧壳周围长出一小团腥红色的物质,镜检此物质,可以看到许多近似柠檬形的子囊壳和多细胞的镰刀状分生孢子,此菌为子囊菌中的一种球穗菌(*Sphaerosilbe* sp.),其分生孢子阶段是一种镰刀菌(*Fusarium* sp.)。

此外,在灯蛾、茶鹿子蛾和一些蝗虫虫体上还观察到虫霉菌(*Entomophthora*),以及由此菌引起的虫体自然死亡。

六、病毒

除茶毛虫核型多角体病毒外,我们还发现油桐尺蠖、云尺蛾、小白尺蛾和茶茸毒蛾多角体病毒,以及茶小卷叶蛾颗粒体病毒(见表3)。患多角体病毒病的昆虫折断附肢后,血淋巴混浊,虫体易碎,流出白色、米黄色至褐色乳状液。得病的油桐尺蠖捣烂后加水稀释,于茶园进行感染试验效果良好。

得病的茶小卷叶蛾的腹部和附肢节出现乳白色,

表3 不同寄主昆虫的病毒内含物的形状及大小

寄主昆虫	内含物形状	内含物大小(微米)
茶茸毒蛾	3—4边形	1.8—3.5
油桐尺蠖	4—5边形	0.9—2.6
云尺蛾	4—5边形	0.9—2.6
小白尺蛾	4—5边形	1.0—2.1
茶小卷叶蛾	近椭圆形	0.3—0.9

随后腹部显著肿胀。全身逐渐变成乳白色而死亡。镜检可见到椭圆形小颗粒状物。

七、细菌

在分离到的数株细菌中,只有来自八角丁幼虫尸体上的一株菌为病原菌。经室内试验,此菌对菜青虫、茶小卷叶蛾、小刺蛾有不同程度的致病力。该菌不形成芽孢,孢子为球杆状,在沙氏培养基上菌落呈腥红色,被感染昆虫死亡后亦呈红色,该菌经初步鉴定为沙雷氏菌(*Serratia* sp.)。

结 语

在采集到的近100个标本中,除茶毛虫核型多角体病毒在稀植茶园中发现外,其余全采自“密植免耕”茶园和茶蓬已郁闭的老茶园,这个事实说明,密植茶园为有益微生物的生长繁殖创造了良好的条件。目前,常用的病原真菌是白僵菌和绿僵菌,我们此次调查还发现,穗霉类引起茶树害虫疾病的比例相当大,仅在1976年12月采集的62个标本中,穗霉病例就占50%(头孢霉为10%,虫草菌为6%,未鉴定者为34%)。这说明此类病原在一定的自然条件下的适应性较强,致病力亦较强,杀虫谱亦广。

调查中还看到,头孢霉多侵染茶刺蛾幼虫、角蜡蚧和牡蛎蚧;虫草菌只侵染刺蛾类老熟的幼虫和蛹茧,这些现象给“以菌治虫”工作提供了一种启示,即在具体防治某种害虫时,不但需要选择特定的微生物,还必须考虑寄主昆虫的发育阶段,才能充分发挥它们的杀虫作用。

参 考 资 料

- [1] Steinhaus, E. A.: Principles of Insect Pathology, McGraw-Hill Co. Inc., 1949. 折介六等译:昆虫病理学原理,科学出版社,1957。
- [2] 湖北省微生物研究所虫生菌组:微生物学报,16:75—81,1976。
- [3] 见里朝正:植物防疫,28(5):1—2,1974。
- [4] Dulmage, H. T.: J. Invertebr. Pathol., 22(2):273—277, 1973。
- [5] 中国科学院微生物研究所:常见与常用真菌,科学出版社,1973。
- [6] 中国的真菌,科学出版社,1963。

- [7] Barnett, H. L. et al.: Illustrated Genera of Imperfect Fungi, Third edition, Minnesota., 1972.
- [8] Pramer, D.: *Bacteriol. Rev.*, 29 (3): 382—387,

1965.

- [9] Ignoffo, C. M. et al.: *J. Invertebr. pathol.*, 28: 259—262, 1976.