

G.O. 小波因纳 著
〔美〕 G.M. 托 马 斯
段道怀 胡明峻 译

昆虫病原物 鉴定诊断手册

农 业 出 版 社

昆虫病原物鉴定诊断手册

〔美〕 G.O. 小波因纳 著
G.M. 托马斯

段道怀 胡明峻 译

农 业 出 版 社

**Diagnostic Manual for the Identification
of Insect Pathogens**
George O. Poinar, Jr.
and Gerard M. Thomas
(University of California at Berkeley)
PLENUM PRESS NEW YORK 1978

昆虫病原物鉴定诊断手册

〔美〕 G. O. 小波因纳 著
G. M. 托马斯

段道怀 胡明峻 译

农业出版社出版 (北京朝内大街130号)

新华书店北京发行所发行 农业出版社印刷厂印刷

787×1092毫米 32 开本 5.25 印张 110 千字
1984年1月第1版 1984年1月北京第1次印刷
印数 1—7,800册

统一书号 16144·2652 定价 0.94 元

本书为纪念爱德华·A. 斯坦豪斯博士1944年在伯克利的加利福尼亚大学建立第一个昆虫病害诊断实验室而著

译 者 的 话

《昆虫病原物鉴定诊断手册》是由美国加利福尼亚大学 G.O. 小波因纳 (George O. Poinar, Jr.) 和 G. M. 托马斯 (Gerard M. Thomas) 合编的。它是采用检索法迅速识别昆虫传染病病原的一本手册。适用于昆虫疾病的一般诊断,可鉴定真菌、细菌、病毒、原虫和立克次氏体等昆虫病原的常见属或类群。本书还介绍了各类病原的一般基础知识。其中包括分类地位;生活史;感病昆虫的特征;影响自然感病的因素;检查、分离和培养的方法;感病性测定;保存方法;以及文献资料等。另外,专门有一章从技术方面具体说明如何制备和利用各种培养基和染色方法。内容丰富,通俗易懂,方法具体。书中并附有多幅插图,可供读者查对。如需对昆虫病原物做进一步深入鉴定时,可查阅书中附注的有关文献。

当前,以菌治虫的生物防治是近年蓬勃发展的一项新兴学科,国内这方面专著不多。为此,我们根据美国 Plenum 出版社 1978 年纽约版本译成中文,供我国生物科学工作者、高等院校和有关科研单位,以及基层植保工作者参考。由于时间仓促,加之水平所限,译文中的差错在所难免,我们诚恳希望读者阅后批评指正。

译 者

一九八一年五月

目 录

第一章	昆虫病原种类的鉴别.....	1
第二章	真菌.....	4
第三章	细菌.....	38
第四章	病毒.....	53
第五章	原生动物.....	69
第六章	立克次氏体	104
第七章	技术方法	120
文献资料		148

第一章 昆虫病原种类的鉴别

昆虫的疾病可以看作是虫体或虫体的某一组织或器官，在功能上或组织上或者是这两个方面受到干扰。昆虫疾病可以是传染性的，即由病原菌引起的；也可以是非传染性的——由非生物因素引起的（如温度、饥饿、药物、外伤）。本书只论述传染性的疾病。我们应当注意，看上去已经生病的昆虫，但没有任何可见的陌生颗粒时，可能是非传染性疾病。而且除去非包含体病毒外，应该把本书列举的那些病原菌以外的因素，看作是病因。

下列检索表提供一般指导以分辨病原菌种类，但并不是绝对可靠的。因为有时区分某些原虫和真菌的“孢子”，或者是立克次氏体的细胞和颗粒体病毒的荚膜是困难的。所幸，在很多情况下，病原是可以看到的，并且利用下列检索表可能有帮助。

昆虫病原种类检索表*

1. 虫体上覆盖有菌丝体（通常是白色、黄色或绿色）或长出带有孢子的子实体；死虫常干化、变硬或成为乳酪状粘稠物；虫体组织内有菌丝——真菌

1. 虫体上不覆盖菌丝体，也不长于子实体；虫体组织内没有菌丝；

* 在光学显微镜下病原菌有可见的阶段。如果在明显生病的虫体内没有传染性颗粒，则可以认为这种病是非传染性的，或者是由非包含体病毒引起的。

血腔内有颗粒体——2

2. 颗粒体球形，用苏丹Ⅲ染色成微红色（图1）（见技术方法章）

——脂肪球体

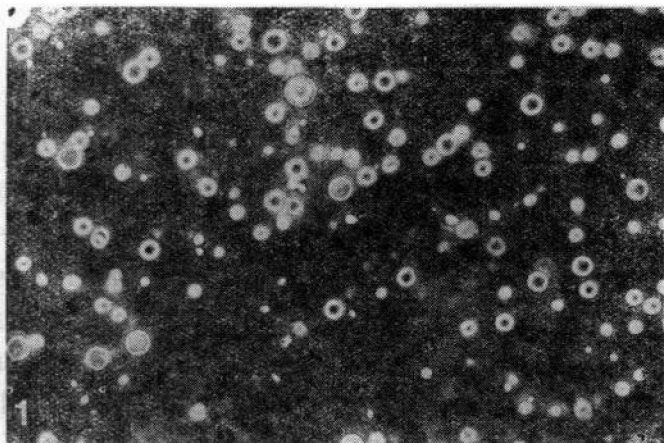


图1 健康昆虫血腔中的脂肪球体（×640）

2. 颗粒体形状不一，用苏丹Ⅲ染色不显微红色——3

3. 在偏振光下颗粒体呈双折射性——尿酸盐或其它种类的结晶体（图2）

3. 颗粒体在偏振光下不呈双折射性——4

4. 颗粒体一般能游动，棒状（有时球状、不游动）；在血腔中生长（偶尔在肠道内生长）；可能有芽孢——细菌

4. 颗粒体一般不游动，很少是棒状（立克次氏体除外）；在寄主细胞或组织内生长（一些有纤毛的原虫类能游动，在其寄主血腔内繁殖）；颗粒体有传染性（孢子、孢子虫等）或含有传染性颗粒的结构（卵母细胞等），大小和形状不一——5

5. 传染性颗粒体棒状；在光学显微镜下勉强可见——立克次氏体

5. 传染性颗粒体（孢子、孢子虫等）或含有传染性颗粒的结构（孢

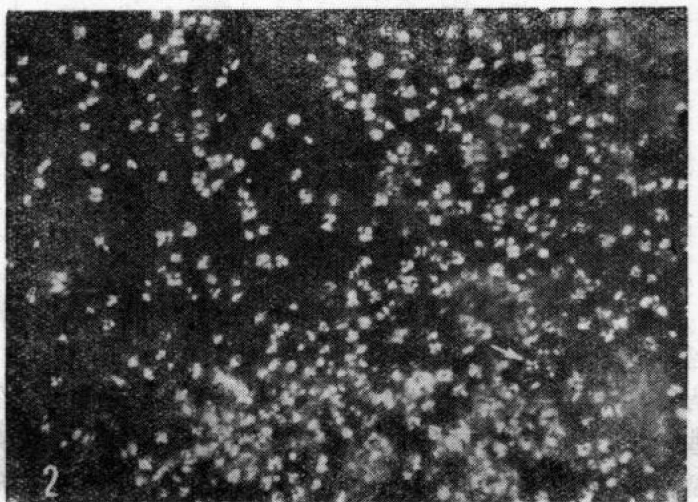


图 2 偏振光下的尿酸盐结晶体注意十字形 (箭头处)($\times 640$)

子囊等),为棒状或球状;在光学显微镜下一般容易看到——6

6.小的至微小的颗粒体(最大直径一般小于10.0微米)是由多角体和荚膜组成的,一般溶于稀氢氧化钠溶液中——包含体病毒

6.颗粒体形状不一(直径一般在2.0—20.0微米之间),不溶于稀氢氧化钠——7

7.传染性颗粒体(孢子、孢子虫等)或含有传染性颗粒的结构(孢子囊等),一般在寄主组织内形成;有些带纤毛的颗粒在寄主血淋巴内繁殖——原虫

7.传染性颗粒体(孢子)或含有传染性颗粒的结构(孢子囊),一般在寄主血淋巴内形成;无纤毛——真菌

第二章 真 菌

一 引 言

真菌是我们诊断实验室每年收到最多的昆虫病原菌，这可能是由于真菌易于识别，且分布广泛。寄生昆虫的真菌，为害多种多样陆地和水生昆虫，以及其它无脊椎动物。在某些情况下，甚至为害脊椎动物。虽然早就知道一些昆虫疾病是由真菌引起的，但大多数虫生菌的基础研究仍是不充分的。

二 分类地位

关于真菌分类地位还有争论，它们是否真的是另一个生物界。然而考虑某些基本特征时，意见大体相同。如异养生长（缺乏光合作用）的真菌侵袭几丁质化的细胞，它们是典型的不动的，虽然有时有游动阶段（游动孢子）。大多数寄生昆虫的真菌含有菌丝（从一个孢子发育成真菌菌丝），这些菌丝在一起组成菌丝体。真菌主要以孢子进行繁殖，孢子可以由有性或无性过程产生。有性繁殖包括两个性细胞或配子的核互相结合。无性繁殖通常是在孢子囊内产生孢子（孢囊孢子）或是在菌丝上产生孢子（分生孢子）。常见的大多数真菌属于鞭毛菌亚门、子囊菌亚门和半知菌亚门（不完全真菌类）。担子菌亚门中与昆虫形成寄生关系的真菌不常见到。



北林图 A00114477

三 生活周期

绝大多数寄生昆虫的真菌靠萌发的孢子作初次侵染（通常是分生孢子），它穿透昆虫的表皮。入侵的菌丝进入寄主组织（常常是脂肪体首先被侵染）。然后菌丝分枝穿过血腔，有的菌如绿僵菌（*Metarrhizium anisopliae*）、白僵菌（*Beauveria bassiana*）、冠状虫霉（*Entomophthora coronata*）和尖孢虫霉（*E. apiculata*），其菌丝体或菌丝片断裂，侵染的初期在寄主的血腔中循环，这样就使这些真菌遍布寄主的血腔。当然还有一些可疑之处，比如虫霉的大菌丝体是否真的能在虫体内循环（Prasertphon 和 Tanada, 1968）。在刚刚死亡或已经死亡的昆虫体内充满菌丝以后，可见到菌丝从昆虫外皮长出，并在寄主表皮上产生孢子（一般是分生孢子）。这些孢子借助于风或雨进行传播，甚至借助病虫取食或交配而传播。有时真菌在寄主的特定的器官中定殖。例如：蝉团孢霉（*Massospora cicadina*）和 *Strongwellsea castrans* 只在寄主成虫的腹部出现。

一些真菌只能寄生特定的寄主或寄主的某个阶段，而另一些真菌则表现有广泛的寄主范围（例如白僵菌和绿僵菌）。

真菌的传染特别是流行病，主要是依赖于大的寄主种群和理想的气象条件。通常孢子的形成和孢子萌发需要适宜的温度和湿度。Bell (1974) 讨论过影响昆虫对真菌感病性的环境因素。

四 感病昆虫的特征

感染真菌后的昆虫最显著的特征是虫体内或体表出现菌丝。在感染的初期，昆虫表现出一般病症，如停食、衰弱和

321455

• 5 •

迷向。寄主通常改变颜色，在真菌侵入处的表皮上出现暗色斑。以后，被寄生的昆虫渐渐死去，死后不久的虫体内充满产孢菌丝，或体表覆盖有菌丝。

一些感染的基本特征，可以作为诊断真菌的线索。在昆虫体表覆盖白色孢子粉者，可能是白僵菌感染；绿色孢子覆盖的昆虫，可能是绿僵菌感染；浅黄绿色孢子是黄曲霉；带有浅黄色孢子的是粉状拟青霉 (*Paecilomyces farinosus*)。然而上述真菌中有的菌株，可能不产生这种颜色特征，在琼脂培养基上通常也不产生色素。

除颜色外，寄主死亡的状态也可作为一个特征，例如，苍蝇或蝗虫被虫霉菌感染，寄主牢固地附着在基质上，或散落在地上。虫体质地均匀程度也是一个鉴定特征，例如是否有孔洞，是否乳酪状、硬化等。

五 检查方法

由于要了解长在昆虫体表的真菌是病原菌或者仅仅是腐生菌有时比较困难，通常最好办法是尽力识别所有的真菌。寄主体内或体表一些菌丝或孢子，可以移到显微镜载玻片的水滴中，还可用棉兰染色。如果有好几种真菌或者尚未形成孢子，应首先进行培养（见下一节）。在孢子形成以后，含有菌丝和孢子的一小块洋菜移到显微镜载玻片上，在亮视野下检查或相差显微镜观察。在亮视野，试样可用棉兰、苯胺兰或 Guegen 氏液制片（见技术方法章）。如果取的是一块带有真菌试样的洋菜，可以在放上盖玻片以前微微加热，使洋菜在玻片上分散开。

应注意的特征是孢子的大小和形状，以及菌丝的联结，菌丝是否分隔和出现菌丝锁状联合。当检查昆虫组织时，应

注意真菌孢子有时能够与花粉粒和原生动物孢子混淆。

六 分离和培养

在试图分离真菌病原体以前，保持样品完全干燥，以避免滋长细菌和受到腐生真菌的进一步污染，建议按下述步骤从病虫上分离真菌。要记住成功与否主要取决于是否采用比较新鲜的样品和始终保持无菌状态。

1. 用 5 % NaHCl 溶液或其他适当的杀菌剂浸泡昆虫虫体数分钟，进行表面消毒，然后用无菌水冲洗三次。

2. 在无菌盘内解剖开试样，将一小块病组织接入无菌培养皿内。可以用酵母膏沙氏葡萄糖洋菜(见技术方法章)能适合许多种虫体寄生真菌迅速生长，同时培养基酸性抑制细菌生长(pH5.6)。并已设计出其它的培养基，含有不同的抑制剂，以防治细菌和腐生真菌生长(Veen 和 Ferron, 1966)，也可以直接从新鲜样品的菌丝和孢子中直接分离菌丝体和孢子。然而，这种分离物应该和昆虫病组织中分离获得的菌种进行比较，因为从样品表面遇到腐生真菌的机会比虫体组织内遇到的机会大得多。

3. 培养物可放在一个湿润的恒温25℃的培养箱内保温，逐日检查，在开始生长和孢子形成以后(约一至二个星期)即可制作玻片进行镜检(见前一部分)。

七 鉴定

鉴定真菌最困难的一个方面是制备能清楚地显示出真菌的诊断特征的载玻片，应注意的特征是孢子的大小和形状，孢子与菌丝的联结，以及菌丝是否分隔，菌丝锁状联合的有无，菌丝是变成子座还是成为束丝；孢子是否游动，有无分

隔，串珠状还是有粘滴包围？

最后，许多真菌专门寄生某些寄主或某类寄主，应当尽力辨认出病虫的种类。

八 致病性试验

对不知名的真菌进行致病性测定时，最好是应用原来发病的同一种昆虫。如果没有合适的虫种，那么可以用实验室的试验昆虫，如大蜡螟(*Galleria mellonella*)幼虫（见技术方法章养虫法一节）。因为大多数真菌病原体经过寄主的表皮侵入，常常可以用无菌的工具将孢子直接放在昆虫的体表，或者是使昆虫在产有孢子的真菌培养物上独自爬行。处理后的昆虫，应放于湿润温暖的环境中，这样能促使孢子萌发。

经由肠道侵染的真菌孢子，可用无菌水冲洗培养物表面的方法采集，然后与寄主饲料混合喂养昆虫。也可以用带有玻璃针头的皮下注射器，将孢子注入到昆虫的口腔。

九 贮 藏

很多种真菌能用冷冻干燥法、液氮或在硅胶上贮放多年（见 Bell 和 Hamalle, 1974 关于后处理的讨论）。很多敏感的类型能够用洋菜斜面、石蜡封口冷藏保存，或将斜面用矿物油覆盖，室温保存，可能较为灵便，当然必须定期的转管。

十 文 献

关于真菌一般分类的研究，参阅 Ainsworth 等人 (1973) 和 Barnett 和 Hunter (1972) 的论文。关于虫体寄生真菌的两本新书已经由 Evlakhova (1974) 和 Koval (1974) 写出。关于寄主和病原体的相互关系，Steinhaus 的《昆虫病理学

进展论文集》(1963)和 Madelin(1966) 的评论文章可供参考。Roberts 和 Yendol(1971)讨论了真菌在昆虫防治中的用途和 Bell(1974)发表了一篇关于昆虫真菌病的概况文章。Ainsworth 和 Bisby 的真菌词典(Ainsworth, 1961)对真菌学的术语做了明确的解释, 并对属的区分和高等真菌分类下了定义。

十一 常见属的分类检索表

1. 菌丝无分隔(无隔多核的), 发育中有变化, 可出现游动的细胞(鞭毛菌亚门 Mastigomycotina)——2

1. 菌丝分隔, 常发育良好, 无游动细胞——7

2. 菌丝常常发育良好, 有性繁殖能产生环抱的结合孢子, 无性繁殖能产生孢囊孢子或分生孢子, 它们产生在寄主的体内, 或在寄主的外表皮(卵菌纲 Oomycetes)——3

2. 菌丝通常稀疏, 以游动孢子繁殖, 厚壁或薄壁的休眠孢子或孢囊孢子常常在寄主体内产生——4

3. 分生孢子极易脱落, 在寄主体表产生——虫霉属 (*Entomophthora* Fres.) (图3、4、5)。关于这个属的论述见 MacLeod (1963) 和 Waterhouse(1973)。Strongwellsea Batko 和 Weiser 属, 以及 *Tarichium* Cohn 属是否存在令人怀疑, 可以看作是虫霉属的变种(见 Waterhouse, 1973)。

3. 分生孢子不易脱落, 在寄主体内产生(在腹腔内)——团孢霉属 (*Massospora* Peck.) (图6)。对这一属的讨论见 MacLeod (1963) 和 Speare(1921)的文章。

4. 菌丝无壁, 转变为休眠孢子或孢子囊(常常在雕蚀菌属 *Cosmomyces* 可见到刻纹, 并有颜色), 肾脏形, 或环抱的游动孢子为后生单鞭毛(壶菌纲 Chytridiomycetes)——5

4. 菌丝有壁, 环抱的游动孢子, 双鞭毛, 在放射管的顶端孢囊内形成(卵菌纲)——6

5. 感染水生昆虫, 特别是蚊子的幼虫, 由于成熟的休眠孢子使寄主转为黄色、桔黄色或褐色——雕蚀菌属 (*Coelomomyces* Keilin) (图7)。关于这一属的资料见 Couch 和 Umphlett (1963) 的著作。Whistler 等人 (1974) 曾经指出: 桡足类动物是感染蚊子的雕蚀菌属病原体的转换寄主。与该属有关的属 *Coelomycidium* Debaiseux (图8), 同样在此检索表内。这个病原体已经从墨蚊 (蚋科) 上发现, 寄主常常变成粉红色。

5. 侵染陆地昆虫, 大量球状休眠孢子或孢囊孢子使寄主组织变为橙黄色, 当干燥时变为粉状——蝇壶菌属 (*Myiophagus* Thaxt)。关于这一属的叙述见 Karling (1948) 的文章。

6. 菌丝破裂成断片, 分别成为各种孢子囊或配子囊的起源——链壶菌 (*Lagenidium* Schenk) (图9)。关于这一属的叙述见 Umphlett 和 Huang (1972) 的文章。

6. 菌丝大都是营养体, 仅仅有一部分变成孢子囊或配子囊——腐霉属 (*Pythium* Pringsh) (图10)。Clark 等人 (1966) 已经指出这些属真菌可能是潜在病原与水霉属 (*Saprolegnia* Pringsh) 相似。其它卵菌纲真菌已经由 Rioux 和 Achard (1956) 作过研究。

7. 有性繁殖产生横格的担子。它带有 4 个担孢子寄生介壳虫, 子座扁平, 紧贴着树皮 (隔担菌目 *Septobasidiales*)——8

7. 缺少有性繁殖, 或是产生一个子囊, 含有 8 个子囊孢子。无性繁殖是在分生孢子梗上产生分生孢子——9

8. 从一个下担子 (原担子) 长出上担子, 全部寄生整个介壳虫种群——隔担耳菌属 (*Septobasidium* Pat.) (图11)。关于这一属参阅 Couch (1938) 文章。

8. 从一个伸长的夏孢子上长出上担子, 寄生单个的介壳虫——锈菌属 (*Uredinella* Couch) 见 Couch (1937) 关于这一属的叙述。

9. 产生有性世代, 一个子囊内有 8 个子囊孢子 (子囊菌亚门 *Ascomycotina*)——10

9. 缺乏有性世代, 有菌丝和分生孢子。菌丝体一般在寄主表面或在寄主体内 (半知菌亚门 *Deuteromycotina*)——14

10. 菌丝体稀疏或缺少, 菌体单细胞, 以芽生、裂殖或是这两种方法进行无性繁殖。子囊孢子在一个裸露的子囊内产生——半子囊菌纲 (*Hemiascomycetes*) 的酵母菌。在这纲中有的属均是昆虫的病原菌, 同时, 另一些与健康昆虫有关。假丝酵母属 (*Candida* Berkot) (图12) 能够成为昆虫的病原物 (见 Martignoni 等人, 1969), 而醭酵母属 (*Mycoderma*)、酵母属 (*Saccharomyces*) 和芽枝酵母属 (*Blastodendron*) 已经从昆虫体中分离到一些菌株。然而它们的致病性尚未明确。见 Steinhilber (1949), Miller 和 van Uden (1970) 关于这些菌的报道。

10. 通常有菌丝, 子囊孢子在子囊果内产生 (产果体中), 当出现无性繁殖时, 产生分生孢子; 很少芽生或不芽生——11

11. 菌丝体稀疏, 稍丛生或似毛发状, 生长在昆虫表皮的面, 菌体常常有若干细胞, 经常只产生4个子囊孢子 (很少有8个); 子囊孢子一次分隔——虫囊菌纲 (*Laboulbeniomyces*) (图13)。这些真菌一般不是病原菌, 而且比别的真菌更为罕见。然而, 据报道 *Hesperomyces virescens* 是瓢虫的病原菌 (Kamburov 等人, 1967)。

11. 菌丝体扩展, 在昆虫体内和体外都能看到, 子囊有8个子囊孢子 (很少有2—4个) (或有许多个子囊孢子出现在孢子团内)。子囊孢子无分隔, 或是有2个或多个分隔——12

12. 子囊孢子产生在孢子团的暗色孢囊中, 它在皱缩变干的蜜蜂幼虫体上出现针尖的小黑点。子囊孢子无分隔——囊球菌属 (*Ascosphaera* Olive 和 Spiltoir) (图14、15)。在这一属中有的种能引起蜜蜂和切叶蜂的白垩幼虫病。见 Skou (1972) 对此属和有关种的一些评论。

12. 子囊孢子不产生在孢子团的孢囊内, 子囊孢子具有2个或多个分隔——13

13. 感染介壳虫, 菌丝体形成一个假发状黑色菌垫, 覆盖着一个或多个介壳虫, 子囊中有厚厚的暗色分隔的子囊孢子, 包埋在真菌的子座中——多腔菌属 (*Mgriangium* Mont. 和 Berk.) (图16)。见 Miller (1940) 对这一属的讨论。

13. 寄生不同种类的陆地昆虫 (很少寄生介壳虫), 寄主充满分隔