

# 生物防治

(三)

科学技术文献出版社重庆分社

### 生 物 防 治 (三)

---

中国科学技术情报研究所 重庆分所 编 辑  
科学技术文献出版社重庆分社 出 版  
重庆市市中区胜利路91号

四川省新华书店重庆发行所 发 行  
重 庆 印 制 一 厂 印 刷

---

开本 787×1092毫米1/16 印张: 6½ 字数: 17万  
1979年12月第一版 1979年12月第一次印刷  
科技新书目: 143—90 印数: 6450

---

书号: 16176.46

定价: 0.70元

## 目 录

|                                                                                                               |                        |
|---------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------|
| 关于害虫微生物防除研究的发展方向 .....                                                                                        | 辛兴球( 1 )               |
| 用虫生真菌防治害虫 .....                                                                                               | P. Ferron( 6 )         |
| 农螨的生物防治 .....                                                                                                 | 匡海源( 19 )              |
| 选育耐高温的植绥螨 .....                                                                                               | Н. В. Ворошилов( 26 )  |
| 松蚜虫的生物防治 .....                                                                                                | Я. П. Цинковский( 27 ) |
| 夏威夷捕食螨 ( <i>Phytoseiulus macropilis</i> ) 的生物学 .....                                                          | V. Prasad( 28 )        |
| 桃园内捕食螨的生物学和习性观察 .....                                                                                         | I.-G. Paola( 31 )      |
| 莱氏野村菌引起大豆害虫的自然流行病和诱发流行病<br>.....                                                                              | C. M. Ignoffo 等( 34 )  |
| 用区带梯度离心纯化苏云金杆菌的蛋白质晶体<br>.....                                                                                 | B. J. Ang 等( 40 )      |
| 一种对蚊虫有高毒性的苏云金杆菌新变种: 苏云金杆菌<br>以色列变种 ( <i>B. thuringiensis</i> var <i>israelensis</i> ) 血清型14<br>.....          | B. de Huguettes( 42 )  |
| 叶部施用微粒子病 <i>Nosema pyrausta</i> 抑制玉米螟种群<br>.....                                                              | L. C. Lewis 等( 44 )    |
| 应用不育法防治21个果园的苹果蠹蛾 .....                                                                                       | M. D. Proverbs 等( 47 ) |
| 植物根中抗土传真菌的植物抗毒素、酚类及其它抗菌素<br>.....                                                                             | J. D. Paxton( 53 )     |
| 菜蛾( <i>Plutella xylostella</i> ) 两种寄生蜂的定居 .....                                                               | M. Yaseen( 59 )        |
| 白僵菌国外研究应用简况 .....                                                                                             | 戴君惕( 61 )              |
| 使用利他激素提高寄生性益虫的作用 .....                                                                                        | R. L. Jones( 70 )      |
| 阳光、紫外线和高温对草地夜蛾微粒子 [ <i>Vairimorpha</i> (= <i>Nosema</i> )<br><i>necatrix</i> ] (微孢子虫目: 微粒子科) 孢子存活的影响<br>..... | K. K. Harry( 75 )      |
| 苏联生物防治的成就与前景 .....                                                                                            | Г. А. Бегляров等( 80 )  |
| 昆虫杆状病毒的特性和增殖 .....                                                                                            | T. W. Tinsley( 85 )    |
| 赤眼蜂属 ( <i>Trichogramma</i> ) 种的生物分类 .....                                                                     | S. Nagarkatti( 92 )    |
| 利用有机物质进行旱田作物土壤病害的生态防除 .....                                                                                   | 松田明( 101 )             |

# 关于害虫微生物防除研究的发展方向\*

辛 兴 球

(中国科学院北京动物研究所)

## 一、害虫微生物防除研究的发展概况

虽然由于养蚕业的发展和药用虫生真菌的利用,人们很早就注意到昆虫的微生物疾病。但是,直到1878年才开始有人想到利用昆虫病原微生物来进行害虫防除。当时俄国的 Мечников 将大量生产的绿僵菌 (*Metarrhizium anisopliae*) 制剂散布到甜菜地里进行防治奥国金龟蚬的试验,并获得较高的死亡率。此后,利用微生物防治害虫的研究便引起了注意。先是在俄国和东欧,接着在西欧、北美和日本等国家也相继开展了研究。特别是近20多年来,由于 DDT、六六六等化学农药的大量使用,毒性残留引起的环境污染以及害虫产生抗药性等等,更促进了这一研究的发展。现在,昆虫病原微生物的开发已成为各国的一项重要研究课题。

我国害虫微生物防除研究解放后才逐渐开展。由于党的领导和有关部门的重视,1969年以后,全国群众性“以菌治虫”的研究象雨后春笋蓬勃发展,先是苏云金杆菌、白僵菌、病毒;接着,乳状菌等也迅速开展了起来。

但是,就这些微生物的研究来说,一般都是把对某种害虫的防除作为短期目标来进行的,其使用上的概念同化学农药没有差别。虽然,这些微生物对人畜是安全的,不会造成环境污染,害虫也不会发生抗性等。

但它也存在不少缺点,最主要的是效果慢,杀虫范围窄。杀虫效果较快的苏云金杆菌,生产成本高,产品质量不稳定等。这些缺点不能不对微生物防除的发展产生影响。

前面已说到,近20多年来,害虫微生物防除由于 DDT 等化学农药大量使用并衍生出许多问题之后才日益受到重视并得到迅速发展的。但是,化学农药本身的研究并没有停止,而且,也在大力研究新的高效低毒的农药。因此,我们必须看到这个情况,避免由此而产生被动局面。这一点在害虫微生物防除研究的历史上是有过深刻教训的。比如,在日本,从40年代开始就先后利用一种棒束孢菌 (*Isaria kogane*) 和一种卵孢霉 (*Oospora* sp.) 防治森林害虫。当时还专门成立了两个微生物培养研究所,生产了大量菌剂销售使用。但是,由于第二次世界大战之后出现了 DDT、六六六等高速效化学农药,这些真菌防治效果太慢,竞争不过化学农药,结果这两个研究所便相继倒闭。微生物防除法在日本便一下子处于无人关心的状态<sup>1)</sup>。在我国,这个问题同样存在。从使用者来说首先希望的是速效,由于北京市化学农药供应充足,对菜青虫效果很好的苏云金杆菌也不容易推广。北京市原来生产这种细菌的几家工厂因成本过高相继下马。现在唯一生产的一个工厂,产品没有销路,只好到河南烟草产区推销,甚至最近听说有下马

\* 承蒲益龙教授审阅文稿,特此致谢。

的危险。而在化学农药缺乏的地区,微生物防除和大生物防除则受到特别的重视。这些地区特别急切要求提供高效微生物菌种。但是,如果一旦化学农药供应好转以后,其情况将又如何呢?这是作为这一领域的研究者所必须看到并应给予足够重视的问题。

那么,究竟害虫微生物防除的前途将如何呢?

## 二、害虫微生物防除的发展方向

事物总是在不断发展的。针对这样的现实,从各国的研究情况看有两个值得注意的发展方向。一个是从生态学的角度,向生态系统中引入天敌微生物,设法让其比较长时间定殖下来并控制害虫的危害。另一个是从化学的角度,从微生物代谢产物中筛选高效低毒的杀虫性物质,即杀虫抗生素。

1. 从生态学的角度出发,这就要求从过去的防除概念中摆脱出来,充分发挥生物农药的活的特点。大家都知道,像病毒、真菌等效果很慢的病原微生物,等到害虫发生危害之后再施用,其效果一般是不理想的,即使虫害最终会发病死亡,但作物也被危害的差不多了。所以,虽然在微生物中,最先对虫害进行防除试验的是真菌,但后来发展很快的却是苏云金杆菌。然而,最近却有相反的趋势,即苏云金杆菌的研究进展相对地有所减慢,而作为在复杂的生态系统中以长期控制虫害为目的的新微生物防除法的研究反而再次活跃起来。如病毒方面,利用核多角体病毒防治棉铃虫,用细胞质多角体病毒防治松毛虫和一种毒蛾(*Lymantria fumiola*)等。真菌方面,利用莱氏蛾霉(*Nomuraea rileyi*)防治大豆害虫,利用雕蚀菌(*Coelomomyces*)防治蚊子等。病毒、真菌和细菌中的乳状病菌虽然效果慢,但施用以后可以相当长时间内在生态系统中生存下来并在数年内控制某些害虫的数量。最成功的一个例子就是日本丽金龟芽孢杆菌

(*Bacillus popilliae*)。Dutky等将这种细菌制剂应用在美国马里兰州的牧地上9年内控制住日本丽金龟(*Popillia japonica*)的发生。病毒的一个有名的例子是在北美,一次引进病毒之后,多年控制了欧洲云杉叶蜂(*Gilpinia hercyniae*)的危害。美国现在正在注意研究的一种真菌——雕蚀菌(*Coelomomyces*),也可以有这样的效果。既然有这样的例子,因此,可以大力从生态学上开展研究,探索这些病原微生物在生态系统中定殖下来的条件,以便设法满足这些条件。

莱氏蛾霉是美国最近加紧开发的一种病原真菌。这种真菌在美国南部经常使大豆害虫发生流行病,但由于流行病一般发生较晚或由于不能预测流行病的发生,因而往往不能达到防治的目的。或者本来会发生流行病而不必要地使用了化学农药。所以,一方面早期调查病原在生态系统中存在情况,以掌握自然流行病发生的可能性。另一方面则是人工诱发流行病的发生。现在,后一方面的研究已得到比较满意的结果<sup>21</sup>。

虫霉(*Entomophthora*)是一种有名的昆虫流行病病原。这种真菌在自然界中经常使蚜虫、稻飞虱和蓟马等发生流行病而且自然控制虫口密度。但因其分生孢子寿命很短,休眠孢子发芽很困难,那么流行病究竟怎样突然发生的,现在正积极地进行着探索<sup>21</sup>。

总之,在这里研究这些病原微生物不仅是要控制当时发生的虫害,而且也希望它能够持久地起到抑制虫口密度的作用。即作为生物农药的特色,希望其本身增殖或至少有两次感染的效果并扩大感染的范围。青木<sup>31</sup>在回顾了微生物防除研究的历史教训以后指出:“新的生物防除法应该从只是由外部引入天敌昆虫或微生物来消灭害虫这一古典概念中摆脱出来。即象Stern等所说的:虽然不引入天敌,但采取措施积极帮助它的生态系统中的天敌生存下来,使其得到保护并进一步

促进它们发挥作用,使特定昆虫的虫口密度在那个地方的危害不超过容许界限的水平。这大概可以说是今后生物防除法的概念”。因此,从这样一个概念出发,害虫微生物疾病的生态学研究将会日益加强。

2. 从微生物代谢产物中寻找速效低毒同时又容易被分解的杀虫性物质(即杀虫抗生素),这是另一个日益引起重视的方向。因为微生物具有可以大规模工业生产的优点,所以对这项研究不仅从事微生物防除的人重视,而且,搞化学的人也很重视。经过近年的研究已经分离到一些对螨类和昆虫活性高的物质。据田村三郎教授1975年12月来华报告时的统计,日本生产的6种杀螨剂中就有两种是微生物的代谢产物。一种是杀螨霉素(Tetranactin),另一种是Polynactin(商标为mitocidin B)。前者对榆全爪螨(*Panonychus ulmi*)和棉红叶螨类敏感。由于它们对温血动物毒性低,对植物不产生药害,所以可以作为杀螨剂使用。另外一种抗生素monensin最近已获得专利。这种抗生素对人畜毒性也低,对植物也无药害。对其比较敏感的是叶螨、绿豆象和黑尾叶蝉等<sup>41</sup>。据高桥信孝介绍,日本东京的4个研究所正在协作共同开展杀虫性微生物代谢产物的研究<sup>51</sup>。

英国的Box等报告他们从一种链霉菌(*Streptomyces prasimus*)得到两种对羊蝇和铜色绿蝇具有高度活性的物质——普拉星隆(prasinon)A和B。进行了发酵、活性物的分离、性质和活性测定以及对温血动物的活性测定等。经过这些研究后,认为这是一种新的微生物杀虫剂,而且在英国获得了专利<sup>31</sup>。

上面几种都是由链霉菌产生的杀虫杀螨抗生素。在真菌方面,已知道一些真菌产生杀虫毒素,如绿僵菌、白僵菌、黄曲霉、棕曲霉等。但除白僵菌产生的白僵菌素外,其他毒素均只有注射效果。加拿大的Davis等最近以大黄粉虫(*Tenebrio molitor*)幼虫作

为对象进行筛选,发现一些真菌菌株产生杀虫毒素。这些真菌大部分是镰刀菌属(*Fusarium*)。他们用黑麦培养这些真菌,然后用经培养的黑麦喂黄粉虫。Davis等已发表了两篇研究报告<sup>7,81</sup>。显然他们还在积极开展这项研究。由一种虫霉(*Entomophthora virulenta*)、一种镰刀菌(*Fusarium solani*)和介轮枝孢(*Verticillium lecanii*)等产生的杀虫性物质最近也相继报告<sup>9,10,111</sup>。

苏云金杆菌一般都将其称为细菌农药或微生物农药。但除了少数对象昆虫是由芽孢引起杀虫作用外,绝大部分敏感昆虫都是由于这种细菌产生的各种毒素,特别是晶体毒素起作用的结果。从这点看苏云金杆菌的研究应归到杀虫抗生素中。对这种细菌现在主要从下面两个方面进行研究。一个是晶体毒素的活性本体(所谓活性肽)和作用点的研究,另一个是遗传学和遗传选育的研究。

关于苏云金杆菌晶体毒素的活性本体虽然研究很活跃,但直到现在还没有取得重大突破,因此也影响到遗传选育和发酵生产的研究。很多人进行了晶体毒素的分离,经各种方法处理可得到不同分子量的具有毒性的成分。分子量最小的为1,000,大的为20多万。是否还可以再细分还不知道。有人认为,如果能弄清楚这些肽的氨基酸排列,那么在实验室合成可能就不成问题了<sup>121</sup>。

苏云金杆菌的遗传育种包括自然筛选和人工选育。随着这种细菌的日益广泛应用,仅从自然界中筛选菌种已不能满足生产实际的要求。因此,一些昆虫微生物学家提出应该从自然筛选中摆脱出来,深入开展苏云金杆菌的遗传学的研究和积极采用各种遗传育种手段选育理想的菌株<sup>131</sup>。关于这方面的研究动向和进展已有数篇综述<sup>13,14,151</sup>。但是,由于晶体毒素的活性本体以及在活体内的合成还没有彻底弄清,所以还不能象抗菌素或其他微生物代谢产物的生产那样,比较明确地通过各种手段获得按照我们所希望的那样合成所需物质的菌株。另外,毒力测

定还必须依赖于生物测定,非常费事。关于苏云金杆菌的遗传选育,现在还处在一种积累经验 and 探索规律的阶段。有人认为微生物遗传学和微生物育种的研究不仅必要,而且它的研究进展将支配今后微生物杀虫剂的发展<sup>121</sup>。

大家都知道,所有微生物发酵生产用的菌株一般都是经过选育后的菌株。原始菌株一般产量都很低。如青霉素产生菌原始菌株的产量只有20单位/毫升,但经过不断选育后产量大大提高,到1972年最高达到28,000单位/毫升,提高了1,400倍。因而大大降低了成本。苏云金杆菌的菌种选育可以说刚刚开始,相信不久将能选育出毒力更高杀虫范围更广的菌株。

### 三、对我国害虫微生物防除研究的几点看法

关于害虫微生物防除研究发展的这两个方向,我国都有所注意。在前一个方向中,病毒研究的活跃就是一个反映。但是,比较多的人还是希望将其作为一种短期目标来实施的。因此,怎样从生态学上进行研究很值得注意。当然,要达到上面说的不引入病原就可以控制害虫危害不超过容许界限的水平,这是困难的。即使引入了病原也还很少可以连续数年获得防除效果。从现在来看掌握害虫的生态特性和昆虫疾病的发生规律,改变过去在害虫发生时施用的方法,即将其作为一种预防剂使用还是可以的。比如,在日本关东以北的松林,为了越冬,松毛虫便从树上往下爬入树干下部树皮的隙缝中或树根周围的枯草里。利用松毛虫的这一习性。片桐一正进行了下面的试验。到秋末时,将稻草包卷在树干上,越冬的幼虫便爬入其内,然后将白僵菌培养物喷到这些稻草上,使幼虫感染白僵菌。用这种方法感染率高达80%以上<sup>161</sup>。我国吉林省推广用白僵菌封垛防治玉米螟<sup>171</sup>也属于这样一种方法。

关于后一个方向,在我国现在有两项工作应该抓一下。一个就是杀螨霉素。这种抗生素的产生菌是金色链霉菌(*Streptomyces aureus*)<sup>181</sup>,这种链霉菌我国收藏有10株左右,可以拿来测一下看它们是否产生这种抗生素。因为生产放线酮也是用金色链霉菌,如果这个菌株同时也产生杀螨霉素,那么成本还可以大大降低。因为杀螨霉素存在菌丝体内,而放线酮是在培养滤液中,这样,培养以后的菌丝体可用来提取杀螨霉素,滤液可以提取放线酮,一举两得。所以,先抓一下这个要比从头筛选更能很快投入应用。

另一个就是苏云金杆菌。这种细菌在1901年发现以后到现在已有将近80年了。经过反复考验肯定了对一些害虫的应用价值。而且,对少数害虫比化学农药还要好而且经济。但为什么在一些地区推广不开呢?一个原因是价钱贵,另一个是产品质量不保证。特别是后者。因为农民只要用了一次质量不保证的产品其威信就会受到影响,再叫他们花钱买第二次是不干的。举一个例子,苏云金杆菌对稻苞虫是特别有效的,每亩田只要花一角多钱就可以达到防治效果。但是,1977年9月作者出差到湖南省溆浦县,那里正发生稻苞虫危害,虽然省有关部门分拨有一些菌剂给该县,但城关的一个大队就是不肯购买。经了解才知道前一年他们买过一次菌粉,不知是那个工厂产的,质量不好,效果很差,因而农民不愿意使用。美国开始出售苏云金杆菌制剂时也出现过这种情况,由于效果发生问题曾造成对它的评价降低。日本现在对产品质量要求比较严格,出厂前每批都要经过严格的生物测定。农民购买后如果质量不合格,没有达到杀虫标准,可以要求工厂赔偿损失。但是,在我国产品出厂前一般没有经过毒力测定。而且,每个工厂的产品没有自己的商标。广东省产的一律称杀螟杆菌,从武汉染料厂(现在的武汉微生物农药厂)学习回去的工厂产品一

律称青虫菌,甚至有些工厂不管什么菌种包装上统统印“细菌农药”。这样,只要一个工厂产品质量出问题就会影响到其他工厂。因此,最好像其他工业产品那样各有自己的注册商标。虽然同是香烟、手表、收音机等,但牌子各种各样,而顾客总是争着购买质量好的名牌产品。

1970年前,苏云金杆菌在日本曾被禁止进口使用。1971年农林省植物防疫课取消了禁令后,为了迅速开发苏云金杆菌制剂,1972年在日本植物防疫协会下设置了一个苏云金杆菌制剂研究委员会,由基本问题、

蚕、蜂、效果试验、人畜毒性等5个部会组成。各个部会每年向这个委员会汇报一年的研究进展。这个机构无疑对苏云金杆菌在日本的发展起到很好的促进作用。因此,我们建议在我国的有关部门也建立一个苏云金杆菌的机构或生物防除机构。狠狠抓一下苏云金杆菌的生产特别是现代化生产、推广应用、活性本体及遗传选育等研究。在化学农药供不应求的情况下,充分发挥其在害虫防除中的作用。甚至即使在将来也能立足和继续发挥其作用。

### 参 考 文 献

- 1] 站沢啓夫:防虫科学,38卷-I,114-124,1973.
- 2] 辛兴球:关于利用莱氏蛾霉防治大豆害虫的研究,《生物防治》(二),第23-29页,科学技术文献出版社重庆分社,1978.
- 3] 青木襄儿:发酵协会誌,32(11-12):36-46,1974.
- 4] 大石秀夫等:日本特许公报,昭49-11048.
- 5] 高桥信孝:植物防疫,28(5):206-210,1974.
- 6] Box, S. J. et al.: Appl. Microbiol. 26:699, 1973.
- 7] Davis, G. R. F. et al.: J. Inverteb. Pathol. 26(3)299-304, 1975.
- 8] Davis, G. R. F. et al.: J. Inverteb. Pathol. 30(3)325-329, 1977.
- 9] Claydon, N.: J. Inverteb. Pathol. 32(3), 319-324, 1978.
- 10] Claydon, N.: J. Inverteb. Pathol. 30(2)216-223, 1977.
- 11] Murakoshi, S. et al.: Appl. Entomol. Zool., 13(2):97-102, 1978.
- 12] 站沢啓夫:日本农药学会誌, 1, 特别号, 359-363, 1976.
- 13] 站沢啓夫等:化学と生物, 14(4):214-221, 1976.
- 14] 辛兴球:苏云金杆菌的菌种选育,《生物防治》(一),第28-31页,科学技术文献出版社重庆分社,1977.
- 15] Aizawa, K.:病原体品系的改良和致病力的保持,《昆虫和螨类的微生物防治》,伯吉斯等主编,广东农林学院林学系等译,428-440页,科学出版社,1977.
- 16] 片桐一正:植物防疫,30(12):501-505, 1976.
- 17] 吉林省白僵菌封垛防治玉米螟协作组:昆虫学报,20(3):269-275.
- 18] 辛兴球《应用微生物》1975年第3期,24-29页.

# 用虫生真菌防治害虫

P. Ferron

虽然在昆虫病理学方面已经取得了新的进展,但是对虫生真菌引起的真菌病的研究仍占有适当的位置。以前,主要的精力是用于研究细菌和病毒,因为人们认为它们作为微生物防治作物害虫的生物防治剂的潜力是比较大的。所以产生这种看法,大概是由于对细菌学和病毒学的研究比真菌学更为强调,从而增长了人们在普通微生物学特别是医学方面的知识的缘故。

然而,近15年来,由于人们对调节昆虫种群的自然现象的作用有了更好的了解,其中真菌引起的昆虫流行病在某些情况下起了决定性作用,于是对虫生真菌的研究引起了新的兴趣并取得了效益。此外,为了把综合防治的概念在应用中加以推广,也必须发展新的生物防治技术。

本文的目的是客观地评述在昆虫真菌病理学研究和生物防治中使用虫生真菌这两个方面所取得的结果。

## 虫生真菌的分类地位

对虫生真菌的分类重新产生兴趣的最明显的迹象之一,是近几年来对主要虫生真菌的一些属和种所做的许多修正。事实上,在昆虫学家通常出版的许多旧刊物中同物异名是如此混乱,以致利用其中的试验数据往往非常困难,有时甚至不可能利用。现在的资料是越来越精确<sup>(150)</sup>。当然,虫生真菌并没占有确定的分类地位,而是分布在从藻状菌纲、子囊菌纲、担子菌纲到半知菌纲的所有类群之中。虫生真菌在分类地位上的这一特

点,使它们具有一种特殊的潜在作用,因为它们具有不同于任何一类真菌的繁殖的多样性和在不同生态条件下的发育能力。

半知菌纲(丛梗孢目和球壳孢目)和藻状菌纲(芽枝霉目,壶菌目,特别是虫霉目)是两个最重要的类群。最著名的白僵菌属 *Beauveria* (丛梗孢目),近来已有评述<sup>(40)</sup>,目前有两个种:白僵菌 (*B. bassiana*) 和纤细白僵菌 [*B. brongniartii* (*B. tennella*)]. 绿僵菌属 *Metarhizium* (而不是 *Metarrhizium*) 也有两个种: *M. flavoviride* 和 *M. anisopliae*, 后者按分生孢子大小区分为两个变种 *var. anisopliae* 和 *var. major*<sup>(270)</sup>。Brown 和 Smith<sup>(26)</sup> 以及 Samson<sup>(238)</sup> 相继对拟青霉属 (*Paecilomyces*) 作了评述,并描述了三种虫生拟青霉菌: *P. farinouse*, *P. fumoso roseus* (玫瑰色拟青霉)<sup>(9)</sup> 和 *P. amoeno roseus*。 *Akanthomyces* 属<sup>(238)</sup>, 其产生的束丝与拟青霉属的相似,但根据瓶梗沿着束丝之独特的配置可以区分此两种菌属。拟青霉属的这些结构是轮生的。根据 Samson 和 Evans<sup>(238)</sup> 的意见,可以认为 *Akanthomyces gracilis* 是此两个属间的过渡型,在加纳, *A. gracilis* 可使鳞翅目幼虫和沫蝉科致病。这些作者对 *Gibellula* 和 *Pseudogibellula*<sup>(237)</sup> 作了新的描述,它们都是蛛形科、膜翅目蚊科、同翅目沫蝉科和 Hymenostilbe 的病原菌<sup>(239)</sup>。它们在生物防治中的潜在用途尚未被证实。

*Spicaria rileyi*, 以前是从拟青霉属分出来的<sup>(27)</sup>。现在人们认为应列入 *Nomu*

raea中,命名为*N. rileyi*<sup>(127)</sup>。据报导<sup>(226)</sup>,*N. atypicola*是日本蜘蛛的一种常见的病原菌。

最后,要重视丛梗孢科的两个属:头孢霉属和侧孢霉属,因为此两个属的一些种有时是致病的。根据Balazy<sup>(15)</sup>的意见只有蚧头孢(*Cephalosporium recanii*)、*C. lefroyi*以及*Torudiella alba*和*Cordyceps militaris*的分生孢子型像是真正的虫生真菌。*C. muscarium*、*C. thripidum*及*Acrostalagmus coccidicola*都是*C. lecanii*的同物异名。这些种主要是从鳞翅目幼虫中离出来的。而且,*C. dipterigenum*和*C. aphidicola*是*C. lefroyi*的同物异名。不过,Gams<sup>(33)</sup>把*C. aphidicola*归在*Verticillium lecanii*组内。Fassati-ova<sup>(66)</sup>编的侧孢霉属(*Sporotrichum*)分类检索表包括三个种:*S. martinekii*,*S. cezpii*和*S. araneorum*。

在束梗孢科(*Stilbaceae*)中*Hirsutella*属在形态上与束丝形成有侧生瓶梗的*Akanthomyces*属相似。这些属的特征是有一个末端小梗,小梗有一单个分生孢子,其周围有粘液。*Hirsutella*属是各类群昆虫的病原菌,该属由包括*H. gigantea*<sup>(203)</sup>和*H. thompsonii*<sup>(172,208)</sup>在内的许多的种所组成。

Protsenko<sup>(215)</sup>编制了一个座壳孢属(*Coccidae*和*Aleyrodidae*的病原菌)的分类检索表。这些种包括属于*Hypocrella*属的分生孢子期的一些种。不过,在多数的种中子囊壳的形成是罕见的。

由于对这个问题进行了许多研究,虫霉目(耳霉属、虫霉属和团孢霉属)的分类也变得更加准确。耳霉属<sup>(122)</sup>(除一些腐生的种外)不仅对昆虫致病、而且也是对螨、多足纲、线虫类和哺乳动物致病的真菌。提出了区分虫霉属与耳霉属的几个准则:寄生与腐生的概念;接合孢子形成的方式;初生孢子梗的结构,生长参数,细胞壁的组成,以

及脂肪酸组分。在分析了这些不同准则的准确性之后,King<sup>(122)</sup>提出保留其中的三个准则:初生分生孢子生长在有4个以上的核和一宽圆形顶的不分枝的分生孢子梗上;在通常用于腐生物的培养基上易于培养;在两个配子囊中较大的一个里面形成接合孢子。因此,应将*Entomophthora coronate*或按照King的主张作为*Conidiobolus coronatus*列入耳霉属,或者按照Tyrrell和MacLeod<sup>(274)</sup>的意见作为*Conidiobolus* subgen, *Delacroixia coronata*列入*Delacroixia*亚属。

团孢霉属的特点是其发育只局限在昆虫腹部的末端,根据下述特征能很容易地将此属与虫霉科另一些虫生的属区分开来:(a).分生孢子在菌丝团内的腔中产生,而其他属的分生孢子是从分生孢子梗中射出的;(b).有网状休眠孢子产生。虫霉科其他的属生有壁光滑的休眠孢子,如果表面有饰物则不是网状的。团孢霉属的一些种似乎只生长在蝉上,其典型的种是*M. cicadina*,以前被描述为*Magiciada septemdecim*<sup>(252,255)</sup>。

就虫霉属类型的一些种而言,Evlakhova<sup>(68)</sup>坚持根据初生分生孢子的一般形状把它们分为12个类群或类型的分类原则。也有人提出了其他的分类原则。Gustafsson<sup>(98)</sup>根据一般的形态特征提出了8个类群。在近20年内有8个新属已得到公认,它们是:*Zygaenobia*, *Zoophthora*, *Triplosporium*, *Entomophaga*, *Culicicola*, *Strongwellsea*, *Tarichium*和*Myophiton*<sup>(17-20,228,294)</sup>。MacLeod、Müller-Kögler和Wilding<sup>(156-157)</sup>自1970年就已着手修正虫霉目并审查了上述这些属的正确性<sup>(155)</sup>,提出仅对已知的具有休眠孢子的25个种暂以虫霉属(*Tarichium*)命名。另一篇报导<sup>(159)</sup>是关于具有梨形至近球形分生孢子的一些种,描述了48个分类单元。第三篇报导<sup>(167)</sup>论述了具有广椭圆形分生孢子、顶端为乳头状、基部扁平(*muscae*型)的10个种。

Remaudiere等人<sup>(219)</sup>提出了虫霉目的 *Sphaerosperme* 类群的分类和生物学标准。

在藻状菌纲中,除虫霉目外,一些虫生菌的种类属于小芽枝霉目(雕蚀菌科,雕蚀菌属)和壶菌目(壶菌科, *Coelomycidium* 和 *Myophagus*)。雕蚀菌科的一些种<sup>(51)</sup>是以其对蚊子和摇蚊的专一性和以孢子囊的形式在昆虫体腔内繁殖为特征的,为了寻求一种防治这些人类疾病传染媒介的新方法,昆虫学家和公共卫生专家对上述这些个种研究了近20年<sup>(225)</sup>。最近已试验了一些新属如 *Coelomycidium*<sup>(200)</sup> 和根生链壶菌属<sup>(278)</sup> 的潜力。

子囊菌纲包括有各种的虫生属,对这些属人们知道得较少。*Ascosphaerales* 包括两个属: *Bettsia* 和 *Ascosphaera*<sup>(251)</sup>。虽然 *Bettsia alvei* 好象只是蜂巢内花粉的一种腐生物,但 *Ascosphaera apis*、*A. majar* 和 *A. proliperda* 可使蜜蜂发生石灰蜂子病(chalk-brood disease)<sup>(8)</sup>。Ev-lakhova<sup>(58)</sup> 提出了能使蚧总科致病的多腔菌目的分类检索表。虫草属在分类上已为大家所共知<sup>(181)</sup>,但对其病理学和生态学还没有什么研究<sup>(144,149,170)</sup>。

除了本文论述的众所周知的虫生真菌的分类外,新近还有一篇重要的报导,描述了一个能使摇蚊和蚊子致病的新属 *Cwlicinomyces*, 其分类地位在别处已作了讨论<sup>(202)</sup>。

## 感染昆虫的方式

真菌与细菌、病毒不同,它不仅能通过肠道感染昆虫,而且还能经气门特别是体壁表面感染昆虫。从理论上讲,这种特性有可能直接导致昆虫的感染,而不依赖它们的摄食活动。

为弄清真菌的侵染方式而进行的一些尝试,常常引起了一些矛盾的看法。因为对某一特定的昆虫来说,真菌未必能利用一切可

能的侵染途径,例如,以纤细白僵菌人工污染西方五月鳃角金龟(*Melolontha melolontha*)幼虫的肠道,不一定能使寄主发生感染<sup>(90)</sup>,而体壁或口器的污染则可引起白僵菌病的发生<sup>(47)</sup>。虽然体壁好像是主要的侵染途径,但也不能忽视经口器<sup>(240)</sup>或肠道<sup>(10,25,218,202)</sup>污染的重要性。

如果孢子能促使菌丝体穿入昆虫体壁的话<sup>(43)</sup>,那么根据Zacharuk和Tinline的意见<sup>(817)</sup>,也许应该考虑Robinson关于物理和酶的机理的理论<sup>(220)</sup>,而不管附着胞的结构是否发生。在菌丝体穿入体壁之后,在感染的部位往往出现变黑的反应,这或许是由于真菌引起酚氧化酶活性的改变所致<sup>(8,117)</sup>。

昆虫的体壁主要是由蛋白质和与类脂物和苯酚化合物相结合的几丁质组成的,记住这一点是很重要的。很薄的外层,即上表皮含有具抗真菌活性的类脂物(脂肪和石蜡),其含量比昆虫体壁中的高<sup>(149)</sup>。此外,还证明了像白僵菌、纤细白僵菌、绿僵菌、蛹虫草、黄曲霉、*Entomophthora muscae* 之类的虫生真菌都具有脂解酶<sup>(82,151,198,233,234)</sup>。

因此,虫生真菌酶装置的独特性是由于具有能使蛋白质-几丁质复合物起化学反应的系统。估计昆虫体壁的全部蛋白质中仅有10%不是键合的。因此有必要使蛋白质的水解发生在几丁质酶开始作用之前<sup>(232)</sup>。大家都知道,除脂酶外,这些真菌实际上还产生蛋白酶和几丁质酶,而且酯解作用和蛋白水解作用发生在几丁质破裂之前<sup>(144,234)</sup>。还报导了虫霉目的10个种也产生蛋白酶<sup>(112)</sup>。

对金针虫感染绿僵菌的组织病理学进行了电子显微镜研究<sup>(809-810)</sup>,表明此真菌的发育至少要经过六个可区别的阶段:①外部的侵染孢子,它生有芽管;②由靠近表皮表面的芽管形成的附着胞,它产生侵入棒(penetrant peg)穿入上表皮;③上表皮下的(菌丝)穿入板,它产生菌丝,该菌丝形成穿入菌丝体;④壁不规则或壁平滑的穿入菌丝体,它产生穿入原表皮到体腔的菌丝;⑤

由穿入菌丝体产生的分隔的菌丝体,它通过血淋巴,然后萌发,产生新的菌丝,如此将真菌扩展到体腔内;⑥寄主死后产生的厚垣孢子,它能使真菌在寄主尸体内存生存状态。以后这些厚垣孢子萌发,形成突出的菌丝,这种菌丝在寄主体表产生新的外侵染孢子<sup>(125,126,214)</sup>。

由于节肢动物蜕皮,因此只有在真菌已到达昆虫真皮时才能认为感染是成功的,强调这一点是很重要的。如果研究中的昆虫经常蜕皮,那么这个现象就更为重要。事实上,这个感染过程可能随真菌的穿透和昆虫蜕皮期是否吻合而改变。白僵菌刚好能在马铃薯甲虫蜕皮之前穿入其第三令幼虫。在这种情况下,菌丝和芽生孢子侵入蜕皮液,侵染新形成的体壁,它们以对蜕皮间歇中的幼虫初次感染的常法引起皮下组织的局部分解。有时真菌的作用在昆虫蜕皮时被增强了;当蜕皮时由于菌丝体造成两个表皮粘连,新的表皮明显受到损伤。这些创伤不仅为蜕皮液菌丝体打开了通口,而且也能为引起致死性败血病的细菌打开了通路<sup>(85,918)</sup>。但是在蜕皮时若菌丝体只是很浅地穿入老的体壁中,则寄主昆虫就能借蜕皮抛掉感染的接种物而逃脱感染。

## 真菌病的发展

真菌在透过表皮屏障之后<sup>(120)</sup>会遇到寄主细胞的防御反应<sup>(243,283,287)</sup>。通常分散在血淋巴中的浆细胞集聚在真菌的周围,使之黑化。此血细胞的假组织变成肉芽瘤(lamel-lae或granuloma)。用无脊椎动物组织培养技术可看到菌丝体从远处吸引血细胞<sup>(285)</sup>。

几天之后,这些血细胞形成物可能变大,且肉眼可见,或者感染被阻滞,昆虫继续其正常发育,或者菌丝体也可能征服此血细胞屏障,侵入机体的其它部分。肉芽瘤形成的程度与真菌的毒力有关。毒力小的一些种如黑曲霉感染似乎易被征服,但像冻土毛

霉这样的伤口病原菌,由于菌丝的迅速生长和毒素的分泌,肉芽瘤的形成不能很有效地阻止侵染。最后,用像白僵菌属之类的真正病原菌时,肉芽瘤形成的改变可能因病菌毒素的产生而受到影响。在这种情况下,菌丝体可以迅速地恢复正常的生长,并以芽生孢子侵入血腔<sup>(5,115,282)</sup>。因此人们认为毒素的作用是很重要的<sup>(42)</sup>。

大多数感染了绿僵菌的叩头虫<sup>(189)</sup>幼虫,于死亡前仅在真皮上真菌穿入的部位显示出组织分解的病征。菌丝体是以下述方式产生的:(1)通过原初的真皮菌丝的缢离作用;(2)通过菌丝原有细胞萌发;(3)通过构成自由漂浮的丝状体(该丝状体由游离细胞产生)的细胞的分离作用;(4)通过游离丝状体细胞上的顶生棒(peg)或侧生棒的缢离作用。观察到吞噬细胞聚集在菌丝体和菌丝的周围,但未观察到有噬菌现象。在人工感染家蚕的玫烟色拟青霉菌丝体形成的早期<sup>(116)</sup>以及在感染了绿僵菌的组织培养物中<sup>(234)</sup>清楚地观察到有噬菌现象。通常,在寄主死亡时血腔内菌丝体的生长和产生不会十分扩散,大多数菌丝体往往在穿入点上聚集成菌落。在主寄死亡前后菌丝体才增殖并遍布整个体腔。仅在寄主死亡之前才看到滞呆和生理不协调的症状。感染了白僵菌的小麦盾椿的神经系统溶解组织的变色,受虫子死亡前真菌在血淋巴中产生的毒性物质的影响。在用白僵菌感染蓖子婢时也观察到相似的结果<sup>(235)</sup>。

为此,虫生毒素在疾病的致死过程中所起的作用是特别重要的<sup>(109,222)</sup>。从白僵菌属<sup>(138,281)</sup>、虫草属、虫霉属、绿僵菌属和拟青霉属的营养物中分离出了数种毒性化合物并进行了鉴定。从绿僵菌的培养物中分离出了cyclic depsipeptides,如腐败菌素(destruxins)A、B、C和D以及去甲基败菌素B(desmethyldestruxins B)<sup>(221,224,258)</sup>,测定了它们的化学结构,随后进行了合成<sup>(259-261)</sup>。在白僵菌和玫烟色拟青霉中

发现了另一种 cyclodepsipeptides——Beauvericin (白僵菌素)<sup>(102)</sup>。在纤细白僵菌 (*B. brongniartii*) 中鉴定了同一族的另一种不同的化合物<sup>(24, 54, 80)</sup>。还报导了虫霉目真菌所生产的毒性物质<sup>(208, 305)</sup>。从蛹虫草 (*Cordyceps militaris*) 培养物中分离出了蛹虫草菌素, 报导了许多虫生曲霉属中的未鉴定的毒性物质。用昆虫细胞体外培养技术研究了白僵菌素的细胞学作用<sup>(286)</sup>。除了对细胞的形状、反应和移动的影响之外, 最显著的影响是核的改变<sup>(283-285)</sup>。指出了不同白僵菌菌株的毒素的产生和其对大蜡螟的毒力之间的关系<sup>(247)</sup>。对受虫生真菌感染的昆虫组织, 特别是感染了绿僵菌的蛻皮幼虫的组织进行的组织学研究<sup>(812)</sup>, 表明真菌所产的毒素可促使寄主组织逐渐衰变, 而寄主细胞无明显的肿大和皱缩。毒素的主要影响似乎是作用在各胞质细胞器膜结构的完整性上, 这一点及组织细胞因失液而严重脱水 (或许也是由于毒素促使的), 似乎是引起寄主死亡的主要原因。发现以真菌试验感染昆虫时其神经环的电作用易被干扰<sup>(60)</sup>, 以及氧消耗增加<sup>(214)</sup>, 并能扰乱蛻皮或发生变态<sup>(58, 175)</sup>。

昆虫的死亡表明真菌发育寄生期的结束, 但疾病的致死结果仅仅是感染的一个方面。直到最近, 昆虫学家和病理学家对非致死性感染的寄主昆虫仅给予了非常有限的注意。事实上, 人们知道某种真菌病的致死性发展与感染孢子的数量是密切相关的。正如在大田使用真菌病原物时以及在自然界中发生流行病时常常出现的情况一样, 检验以明显低于最适量的剂量接种感染时昆虫可能发生什么情况, 是很重要的。

一些作者主要是苏联<sup>(11, 48, 95, 208, 248, 250)</sup>对有关繁殖力障碍的现象和残存成虫的滞留作了新的研究, 按照这些方法他们还证实了以前的一些观察。近来, 西欧也作了相似的研究<sup>(185-187)</sup>。有人还报导了在感染后幸存的昆虫对寒冷的抵抗力降低, 从而造成冬季死

亡率高<sup>(153)</sup>。尽管这些观察具有实际和理论上的意义, 但似乎还没有着手生理学或病理学的基础研究工作来解释继发作用的机制。

## 真菌的腐生发育

当寄主昆虫死亡时, 真菌开始腐生生长并扩散到昆虫的所有组织。真菌与肠道细菌群落之间发生竞争。在多数情况下, 显然由于真菌产生的抗菌素的作用, 使虫尸变成木乃伊阻止细菌腐解。已知, 冬虫夏草菌素具有抗菌活性; 在白僵菌属中卵孢素 (引起虫尸色变的一种红色色素) 也具有杀细菌剂的活性。除卵孢素外, 还鉴定出两种黄色色素: bassianin 和 tenelline<sup>(10)</sup>; 其结构和生物合成已被许多工作者作为研究对象<sup>(174)</sup>。

在真菌完全侵害虫尸后, 其在干枯昆虫上的进一步发育则取决于环境的相对湿度。只有在大气湿度达到饱和状态时, 菌丝体才透出昆虫体壁长出分生孢子梗<sup>(209)</sup>, 否则虫尸仍是硬且脆的木乃伊。观察表明, 有些虫生真菌以厚垣孢子的形态存活<sup>(205, 314)</sup>。其他的保存形式有: 雕蚀菌科为孢子囊, 虫霉科为休眠孢子<sup>(100)</sup>, 虫草属为菌核。

除了像虫霉目之类的真菌以发射方式主动散离孢子外, 其他的孢子是借助空气、雨滴、甚至昆虫和螨携带的<sup>(235)</sup>。有些刊物报导<sup>(68)</sup>, 自然界中的半知菌纲可能在植物碎片上和土壤中腐生发育。近来已提出了一种从土壤中分离这些半知菌的方法<sup>(113)</sup>。但是一般说来, 对虫生真菌生态学的各个方面尚需研究<sup>(29, 37, 38, 119, 291)</sup>。

就雕蚀菌属而言, 新近的研究表明, 其致病周期不仅出现在蚊子幼虫中, 而且也出现在桡足类中<sup>(67, 301, 295)</sup>。这可能是由于在以前的试验中从带菌的池中取用土壤或水的试样时无意引进了一些桡足类, 从而为发生感染提供了适当的条件。虽然多次试图用游动孢子 (即在各种不同的条件下从孢子束释放出来的游动子) 感染蚊幼虫, 但都没有发生

感染。相反地,在接触游动子之后在桡足类的体腔内则测出有感染发生。健康的桡足类不能被受寄生的桡足类所传染,但当蚊幼虫呆在有感染的桡足类的水中时,它们就会发生真菌病害。这些试验证明了在雕蚀菌属的传播周期中桡足类的专性特性。因此,在未来的生物防治规划中雕蚀菌属的使用需要重新估价<sup>(34,40,41,50,52,53,139,159,160,200,202,225,276,277,279)</sup>。有的资料描述了虫霉目的生态学。

## 有利于真菌病发展的条件

昆虫发育的各个时期:卵、幼虫、蛹以及成虫一般都易感真菌病。然而在卵的感病性方面发现有相矛盾的资料<sup>(141,142)</sup>,卵只是在后期的一个短暂时期感病并表现出病害。例如,用白僵菌和黄曲霉感染小麦盾蝽的卵,结果只显示出低的死亡率(分别为21%和33%,对照为8%),而从第一令幼虫来看,在感染白僵菌时100%的幼虫害病;感染黄曲霉时54%的幼虫害病<sup>(61)</sup>。这种延缓死亡的现象,在污染虫生真菌的情况下是十分常见的,Fargues<sup>(61)</sup>在感染了白僵菌的马铃薯甲虫上详细地研究了这种现象。

另一方面,不是所有的昆虫都对同一真菌敏感。众所周知,各科真菌的特点是有一定的专一性。例如,雕蚀菌属真菌寄生在水生蚊幼虫上;虫霉目菌主要寄生在蚜虫<sup>(297)</sup>、双翅目及某些鳞翅目昆虫上;丛梗孢科真菌主要感染鞘翅目和鳞翅目昆虫。然而,由于纤细白僵菌对蚊幼虫致病<sup>(203)</sup>和虫霉目对蓟马<sup>(81)</sup>、蚊幼虫<sup>(86,121)</sup>、等翅目和螨致病<sup>(92)</sup>,所以在这个问题上应避免严格的分类观点。而且在同一个种的真菌中不同的菌株可以具有十分不同的作用谱<sup>(74)</sup>。用不同的绿僵菌菌株感染金龟子科幼虫的研究表明,它们对原寄主有非常严格的适应性<sup>(77)</sup>。这种专一性的研究表明在昆虫体壁水平上和体腔内起作用的机制的重要性。例如,在原寄主(棕榈独角仙和金匠花金龟)和异种寄主上试验

的两种绿僵菌菌株都遭到了相似的血细胞反应,但最后仅专化的致病型才穿过肉芽瘤壁<sup>(64)</sup>。这些结果说明了在实验室中感染昆虫的试验技术的重要性。不提倡用血腔注入法感染昆虫(特殊情况例外),对用这种方法取得的寄主谱必须慎重考虑<sup>(129)</sup>。

同样的考虑也适用于对通过血腔内接种或者直接或间接污染体壁所取得的侵染接种物的评价。Fargues、Robert和Vey<sup>(64)</sup>报导,如果真菌菌株对所研究的寄主具有专化性,则直接注入体腔约10个孢子的剂量足够引起很高的死亡率。例如,给棕榈独角仙幼虫注入绿僵菌同一菌株的10个孢子后经14天,真菌引起的死亡率为70%。相反,给同样的昆虫接种异种菌株(从金匠花金龟中分离出的绿僵菌)时需接种约 $10^5$ 个孢子才能在同样的时间内引起同样的死亡率。

在毒力强的菌株和易感寄主昆虫存在的情况下,感染的发生与孢子剂量、寄主的生理状态以及非生物条件有密切的关系。对某些工作者来说,直到最近,环境的物理现象,特别是湿度仍被认为是主要的因素,以致虫生真菌的实际利用的前景似乎是取决于特殊的生态条件,如果不是例外的话。

## 温度与湿度的影响

事实上,水,不论是液态还是汽态的,很早就被认为是大多数真菌孢子萌发的主要因素,且众所周知,高的大气湿度有助于流行性真菌病的发展。目前,根据各种不同的资料可以判别在感染过程中和各种流行病现象中大气湿度的作用。已知真菌在虫尸上的发育以及孢子形成与接近饱和点的湿度有关系。在这些条件下,接种物的自体繁殖可造成健康昆虫的严重污染,促使流行性真菌病的发生。另一方面,Ferron<sup>(73)</sup>证明了昆虫获得感染与环境的湿度无关。这导致了如下的推测:尽管大气实际上是不含水分的,但昆虫体壁外层的物理现象可促进孢子的萌发。这样的试验在任一指定的昆虫上都不易

进行; Primak<sup>(209)</sup>观察到: 保存在相对湿度40%下的苹果蠹蛾的毛虫显示出以血细胞改变为特点的生理失调, 从而改变了寄主的敏感性, 因此妨碍了对昆虫体壁外层现象的研究。由于这个原因, Ferron<sup>(73)</sup>用能耐极端湿度条件的贮藏品害虫大豆象作试验, 所取得的结果似乎支持了上述发现。

显然孢子的存活力取决于相对湿度<sup>(89, 119, 180)</sup>; 白僵菌和 *Paecilomyces fari-nosus* 的分生孢子在相对湿度为0或34%时比75%时存活得久些; 而绿僵菌的分生孢子在高湿度和低湿度的情况下均存活得最长, 当湿度接近45%时则存活得最短。虫霉属的分生孢子暴露于相对湿度75%以下时则不能存活<sup>(189, 301)</sup>。

菌丝体发育的速度以及感染发展的速度均取决于温度<sup>(114)</sup>。通常, 最适温度为20°—30℃(如, 纤细白僵菌为23℃, *Entomophthora obscura* 和 *E. exitialis* 为24℃, 白僵菌和 *Nomuraea rilyi* 为25℃, 绿僵菌为27—28℃, *Entomophthora virulenta* 为30℃……), 极限温度为5°和35℃。温度低于最佳温度时可阻碍真菌病的发生, 但未必影响总死亡率<sup>(89, 317)</sup>。而且真菌的酶活性(关于其在穿透表皮中的重要性已作了报导)不总是以同温度呈函数的关系严格地同菌丝体的发育相关。还要指出, 某些真菌菌系的习性与所预期的种的习性不同, 因此提供了对那些尚未研究过的菌系的利用前景。

真菌发育的最适温度, 未必是疾病发生的最适温度。但温度对寄主昆虫的影响必须考虑, 因为在由高温引起的蜕皮之间很短的周期可以缩短龄期的持续时间, 致使真菌穿入体壁受到阻碍。

#### 昆虫寄主的生理状态或健康的影响

自V.P. Pospelov的研究工作之后, 在1930—1940年, 苏联一些工作者在昆虫种群的病理学和流行病学的研究中经常特别注意其健康和生理状态。应强调指出这个概念在

其他国家所进行的工作中尚未被考虑进去。Fedorintchik<sup>(68)</sup>报导, 对自然界中自发的感染位点(它会引起局部和普遍的流行病)人们看到的越来越少了, 这是因为化学杀虫剂的普遍使用首先杀死了被微生物削弱了的个体, 从而有利于生长更旺和更健壮的抗性昆虫品系的选择之故。

Lappa在其关于预测 *Nigma phaeorhoea* 大发生的论文中指出, 为估计昆虫群体的生物潜能必须考虑它们的健康状况。这个研究证实了 Telenga 等人提出的虫生制剂与低剂量化学杀虫剂混合使用的理论<sup>(264, 265)</sup>。这样就有赖于对血淋巴特别是血细胞的详细了解, 以便在出现典型的外表症状之前诊断出不同的疾病, 而这种症状往往出现太迟以致在流行病学上没有重要意义。这样就有可能说明不仅由细菌、病毒、真菌以及原生动物, 而且还由许多疾病或不利条件所引起的生理改变。已证明, 在昆虫受到白僵菌污染之后感染过程的发展依昆虫群体的生理状态而异: 在已病的或生理上脆弱的昆虫中死亡率迅速增长, 在污染时健壮的个体中发生僵病的增多; 相反, 在原来就脆弱的个体中则发生由细菌或细菌与真菌一起引起的败血病。

使用低剂量化学杀虫剂能够人为地削弱健康的昆虫群体, 因为化学杀虫剂除可改变血细胞之外, 还能促使消化道中的微生物区系穿入肠上皮, 引起血淋巴pH碱化<sup>(211)</sup>。当以白僵菌与低剂量DDT的混合物处理马铃薯甲虫幼虫时, 抵抗力小的个体因低剂量杀虫剂引起的中毒而死亡, 抵抗力强的昆虫由于肠道致病型细菌在血腔中的增殖而死于败血病, 存活的昆虫则受到僵病的侵害。少数昆虫表现出细菌败血病和真菌病两种症状。Fargues<sup>(61)</sup>由此得出结论: 如果白僵菌和DDT两种制剂混用, 昆虫的死亡率比每种制剂单用时高, 则在此两种制剂之间就有很弱的协合作用。

Ferron<sup>(78, 71)</sup>指出了纤细白僵菌与低剂

量有机氯或有机磷酸酯混用使西方五月鳃角金龟幼虫受到僵病侵袭的协合作用的例子。在这样的条件下,该幼虫的发病率增高,感染过程加速及昆虫对真菌病敏感,使用不引起死亡的孢子浓度而不加杀虫剂时也会出现此真菌病。

细菌〔(如从 *Melolontha*, 分离出的乳状病芽孢杆菌(*Bacillus popilliae*))或病毒(如 *Entomopoxvirus melolonthae*)与纤细白僵菌并用,也得到了类似的结果<sup>(75,76)</sup>。有趣的是:在这两种具体的情况下,协合作用只是在以白僵菌污染时昆虫已发生病毒病或细菌病时才出现,以及在这些条件下此两种类型的微生物在昆虫上同时发育,直到昆虫出现僵病所特有的病状而死亡为止。在同一昆虫上同时以几种真菌感染的试验和观察的报导,同样也是有趣的<sup>(4,12)</sup>。

最后,应当指出,在人工营养培养基上发展昆虫饲养技术会阻碍根据昆虫生理状态分析研究其对侵染的敏感性。Kawakami和Aoki<sup>(118)</sup>及Pristavko和Dovzhenok<sup>(212)</sup>报导:饲养在含不同浓度维生素C的培养基上的家蚕幼虫或苹果蠹蛾幼虫,显示出对白僵菌的易感性有所不同。就寿命、性活动和繁殖力来说最适维生素C的浓度为0.6—0.8%,这时幼虫最抗感染,而当维生素C浓度为0.1或1%时,幼虫对白僵菌的易感性则显著增加。他们<sup>(212)</sup>认为这些观察与血细胞总数明显减少和血象成分的改变相关。

### 孢子数量的影响

许多作者已经证实感染孢子数与真菌病致死率之间呈正相关,但低剂量的影响(不会导致疾病致死性发展)尚未得到证明<sup>(22,25,49,62,69,78,84,101,108,117,187,207,210,218,280)</sup>。LD<sub>50</sub>的估计依真菌菌株、受试昆虫的种类和污染方式的不同而异。污染方式有:局部使用虫生真菌接种物;将孢子悬浮液直接喷到昆虫上或处理昆虫栖居的植物或情性基质;自由摄食或强制摄食;污染饲养基质。特别是

对地下昆虫;或者将昆虫浸在滴定的孢子悬浮中。一般来说,所用的污染技术可使昆虫和病原之间直接接触污染时,LD<sub>50</sub>较低,这种方法通常用于地上昆虫;相反,用间接污染法时,特别是对地下昆虫,则LD<sub>50</sub>较高。

在自然条件下,这些结果明显地影响虫生菌制剂的使用方法。因此,苏联作者建议为防治马铃薯甲虫每公顷可使用2—4公斤Boverin(白僵菌素),即相当于每公顷1.2—2.4×10<sup>13</sup>个孢子。美国现已着手生物防治粉蚊夜蛾(*Trichoplusia ni*)的试验<sup>(108)</sup>,所用接种物的数量与上相同,为10<sup>13</sup>个 *Nomurea rileyi*分生孢子/英亩,或2.5×10<sup>13</sup>个分生孢子/公顷。对地下昆虫,如西方五月鳃角金龟,接种物的用量为对地上昆虫用量的10倍,即每公顷约3×10<sup>14</sup>个纤细白僵菌分生孢子时获得了令人满意的结果<sup>(165)</sup>。对在地下生活很短的小虫子来说,必须使用更多的白僵菌<sup>(185)</sup>或绿僵菌<sup>(186)</sup>接种物,即约10<sup>7</sup>—10<sup>8</sup>个分生孢子/厘米<sup>3</sup>土壤,或者约10<sup>10</sup>—10<sup>17</sup>个孢子/公顷,必须处理10厘米深的表层土壤。

## 虫生真菌菌株的特性与筛选

菌株的毒力和专一性,大量生产耐贮存生物制剂的能力及其对脊椎动物的无害性,都是发展微生物防治农业病虫害技术应当考虑的主要问题。

### 菌株的特性

虫生真菌的分类仍是以形态学标准为基础的。然而对毒力和专一性的进一步了解表明在分类上需要更精确的特征。有的资料是通过分生孢子发生的专门研究<sup>(103)</sup>、对孢子超微结构的电子显微镜研究<sup>(184,186,244)</sup>以及有时是通过生理学研究而得出的,但是正确地描述菌株的特性需要新的技术。为此,Fargues等<sup>(63)</sup>使用了电泳法和免疫电泳法。

并结合酶活性特异性反应来比较白僵菌和纤细白僵菌两种菌株。以后他们采用同样的方法<sup>(63)</sup>又比较了绿僵菌两个变种的4个菌株

(以前已证实了它们对三种不同昆虫的作用的专一性)。这四个菌株的分类关系在异源抗血清的交叉反应中是明显的。其中一个菌株具有大量的特异部分,据此可与其他三个菌株清楚地区别开来,而另外的两个菌株实际上产生同样的电泳图。根据酶活性的特点,证实了自马铃薯甲虫和棕榈独角仙分离出的这两个菌株的密切关系。因此认为此两菌株可能是属于同一血清型的。在苏联也用血清学技术来描述白僵菌的特性<sup>(2)</sup>。对虫霉科的生化研究有了更多的发展,对白僵菌也进行了生化研究<sup>(271)</sup>。

就纤细白僵菌而言,用免疫电泳法<sup>(197)</sup>取得的沉淀弧与此真菌不同菌株对普通金龟子(*M. melolontha*)幼虫<sup>(242)</sup>的毒力有关。此外,在毒力与酯酶活性之间有密切的关系<sup>(198)</sup>,而无毒力的菌株具有高的蛋白酶活性。Samsinákova等<sup>(233)</sup>用白僵菌获得了相似的结果。这些作者报导了脂解活性高,相应地蛋白水解作用就低,反之亦然。但这些作者并未证明毒力和酯酶活性之间的关系。

### 菌株的筛选

在过去的10年里,苏联经过研究终于筛选出了经人工饰变而具毒力的菌株。这是通过化学诱变<sup>(3,59,124,162,191,279)</sup>、杂交或产生异核体<sup>(268,269,308)</sup>的方法取得的。用白僵菌进行的这些研究没有取得特性明显优于原菌株的菌株,当然,我们并不否认这种方法的价值。确定了大规模生产用菌株筛选的准则。

### 安全性

虫生真菌对脊椎动物的安全性问题,尽管已作了几种不同的研究,但尚未完全解决<sup>(20,104-106,110,181,188,253)</sup>。在这方面还需要作更多的努力,也许这种努力还要以美国环

境保护局提出的微生物防治建议作为指导<sup>(55,56)</sup>。这些考虑超出了在操作大量干孢子时已遇到过的变态现象。这些考虑包括口服污染两种脊椎动物的研究,用脊椎动物特别是人的组织培养物的试验,癌的危险性、血清学和遗传学的研究,以及对有用的野生和驯养家畜群的感染试验。

## 真菌制剂的发展

为了获得真菌孢子的大量生产,已开始了几种类型的研究<sup>(18,67,128)</sup>。用不同的虫生真菌:白僵菌<sup>(229)</sup>、纤细白僵菌<sup>(23,38)</sup>、绿僵菌<sup>(1)</sup>、*Sorospora uvela*<sup>(178)</sup>及*Verticillium lecanii*<sup>(231)</sup>取得了在深层培养中芽生孢子的形成。然而,由于保存这类孢子有困难,这种技术已废弃不用。而在美国仍使用类似的方法生产真菌病原*Hirsutella thompsonii*。在田间应用时,如果连芽生孢子形式的孢子形成期都不能获得的话,则可取冷藏的过滤物质,以菌丝体的段片形式使用<sup>(171)</sup>。

有些作者(主要是基辅乌克兰植保研究所的)为了生产白僵菌、绿僵菌和*V. lecanii*的真正的分生孢子,研制了包括深层培养和表层培养的混合技术<sup>(87-89,92,93,184,231)</sup>。将含有芽生孢子的液体培养基从深层培养物中取出加到平面、糠或禾本科种子上,促进菌丝层的迅速发育,从而产生分生孢子梗。尽管技术困难,但在苏联用这种方法已能生产足量的分生孢子使白僵菌分生孢子试验制剂标准化,这种试验制剂叫做白僵菌素(Beauverin或Boverin),其效价为1克高岭土隋性基质含 $2 \times 10^8$ 个分生孢子。

同时在西巴利用不同的技术进行了试验性供给绿僵菌分生孢子的生产<sup>(7,68,177,178)</sup>。真菌在煮熟了的稻谷基质上于26—29℃和相对湿度80—85%下培养15—20天,然后将此培养物于25℃、相对湿度35%下脱水72小时,研成粉末。取名叫Metaquio。此制剂贮存