

# 赤眼蜂类立克次氏体及其所引起的疾病\*

蒲蛰龙 庞 义  
(昆虫学研究所)

## 摘 要

本文描述由类立克次氏体(Rickettsia-like Organism, 简称RLO)引起的赤眼蜂病的病征、症状、病原体的形态和超微结构、对赤眼蜂的感染和防治、鸡胚培养和小白鼠接种试验等,并就上述问题及类立克次氏体对赤眼蜂的影响进行了讨论。

赤眼蜂作为一种益虫在害虫生物防治中发挥了重要作用,近年来各国应用面积不断扩大,防治对象也不断增加。然而,在赤眼蜂的人工繁殖及利用过程中,常出现寄生率低、羽化率不高、生活力弱以及成虫寿命短促、放蜂治虫效果不稳定等问题。人们对此曾作过大量研究<sup>(1-3,7-10,20)</sup>,但极少联系到病原微生物的作用。近年来,有的蜂站出现原因不明的大量病蜂死蜂现象,对利用赤眼蜂防治害虫造成严重威胁。1978年以来,我们从拟澳洲赤眼蜂(*Trichogramma confusum*)中相继观察到类立克次氏体等三种病原体的存在<sup>(9,11)</sup>,本文主要是对类立克次氏体的研究报告。

## 一、材 料 和 方 法

### 1. 赤眼蜂

以广州市生物防治站等单位人工繁殖的拟澳洲赤眼蜂(*T. confusum*)及松毛虫赤眼蜂(*T. dendrolimi*)进行研究,并参考有关方法进行繁殖和管理<sup>(7,9,10)</sup>。繁蜂用的寄主卵有柞蚕(*Antheraea pernyi*)剖腹卵和新产的蓖麻蚕(*Philosamia cynthia ricini*)卵,前者用冰冻蛾腹保存法<sup>(10)</sup>,后者即产即用或于4—10℃冷藏不超过10天。

另外,为便于观察和实验,还对赤眼蜂进行寄主卵外的凹玻片悬滴培养或薄层培养。方法是:选择新接蜂的优质柞蚕卵若干,用70%酒精和2%次氯酸钠溶液进行表面消毒,无菌水冲洗干净后,剖开寄主卵,用毛细吸管或滴管吸取卵浆连同赤眼蜂卵一起移至凹玻片(或点滴板)内,控制每个小室约有赤眼蜂30—60头,寄主卵浆约10 $\mu$ l,盖上

\*承本校电子显微镜室的技术人员协助制备研究材料及拍照电镜照片,广州市郊区石龙寄生蜂站等单位供给研究用的赤眼蜂。

盖玻片,四周用凡士林或石蜡密封,置25—27℃条件下培养,所有用具均预先灭菌,整个过程均按无菌操作进行。

检查赤眼蜂的产卵雌蜂比率和孵化率。

## 2. 类立克次氏体的提纯

赤眼蜂中的类立克次氏体(简称RLO)用差速离心法加以提纯<sup>[27]</sup>,加无菌生理盐水使成悬浮液,置4℃冷藏备用。供生物测定用的RLO,离体时间不超过5天。

## 3. 光学显微镜观察

罹病赤眼蜂的外部症状,在解剖镜下观察。病蜂的组织涂片或经提纯的RLO涂片,分别用下列染色液和染色法染色:革兰氏染色、Giemsa染色<sup>[37]</sup>和Macchiavello法染色<sup>[27]</sup>。另外,取赤眼蜂幼虫、蛹和成虫样本,用Bouin氏液固定12小时或Carnoy氏液固定45分钟,按常规方法脱水、石蜡包埋和切片,片厚4—6 $\mu$ m,然后用下列方法染色:Feulgen染色、1:40稀释的Giemsa染色(经12—24小时)和Hamm(1966)改良法染色。

## 4. 电子显微镜观察

经上述方法提纯的RLO,加无菌双蒸水使成悬液,点样于铜片或塑料片上,干燥后用黄金喷镀,置扫描电镜下观察照相。取病蜂幼虫、蛹或成虫投入4℃左右的2%戊二醛中作前固定,经1—2小时或更长时间,再转至1%锇酸作后固定1小时,酒精脱水后,用苯二甲酸二丙烯酯(PDAP)包埋,作超薄切片,切片经醋酸铀和柠檬酸铅双重染色,在电镜下观察、照相。

## 5. 鸡胚培养试验

经纯化并检查无杂菌污染的RLO(如有污染则先加青霉素500—1000单位/毫升、链霉素250—500单位/毫升,摇匀,置4℃冰箱内经4小时处理),用无菌生理盐水稀释成每毫升分别含 $1 \times 10^3$ 、 $1 \times 10^4$ 和 $1 \times 10^6$ 的悬浮液,并用合适的注射针接种于7日龄的鸡胚卵黄囊(yolk sac)和10日龄的绒毛尿囊膜上,每胚0.2毫升,每处理10个鸡胚,同时设对照,置35℃培养箱中孵育,经4—7天解剖,分离出卵黄囊和绒毛尿囊膜,光学显微镜或电镜制样检查。同时,抽取卵黄再接于另一批鸡胚,盲目连续转代五次,检查结果。

## 6. 对小白鼠的接种试验

挑选健康活泼的3月龄雄性小白鼠,分六组,每组5只,接种用的赤眼蜂RLO同上法纯化处理;其中三组动物经腹腔注射接种,余三组经睾丸鞘膜注射接种,实验重复一次。

## 7. 对赤眼蜂的感染和防治试验

经纯化处理并检查无杂菌污染的RLO,用无菌生理盐水稀释,并在表现健康的拟澳洲赤眼蜂凹玻片寄主卵浆培养物中加入不同的剂量,每组两个重复,同时设对照,置27℃培养,在低倍显微镜下检查和记录赤眼蜂从幼虫发育至成虫的成活率、成虫寿命、

生命周期等,并涂片检查赤眼蜂受感染的程度。同时,在接种有相同剂量RLO的一组凹玻片寄主卵浆中加入不同抗菌素,使剂量分别为1000国际单位/毫升;另一组分别加入不同剂量的青霉素加链霉素,使每毫升卵浆分别含0、100、200、400、800和1600单位,置27℃下培养。此外,采用高浓度抗菌素预先浸泡寄主卵,经不同时间取出晾干再行接蜂,各试验重复两次。

## 二、结 果

### 1. 病征、症状及RLO对赤眼蜂的影响

受RLO感染的赤眼蜂种群,发育很不整齐,从卵期到成虫羽化,时间可以相差两倍(从9天到29天)以上,羽化率低,成虫生活力弱、寿命短,变畸者特多,产卵能力也低,有许多雌蜂不产卵或所产的卵不孵化(表1)。在解剖显微镜下,感染严重的幼虫或蛹,可见皮下呈乳白色的团块增多,发育受阻,甚至大量死于寄主卵内,尤以死于蛹期者为多,死虫变成褐色,无异臭。感染轻者并无呈现特别病征,幼虫照常发育、化蛹、羽化和交尾产卵。取有明显病征者涂片,借助于各种染色,在光学显微镜油镜下可见许多很微小的椭圆或短杆状颗粒,这些颗粒分散存在或成堆存在于一个包囊中(图1),革兰氏染色阴性;Giemsa染色为红色;用Macchiavello法染色,小颗粒也为红色,背景蓝色。感染RLO的赤眼蜂幼虫组织石蜡切片,经Giemsa染色后,在光学显微镜下可见体壁上皮细胞以及一些脂肪体细胞中存在数量不等的紫红色小颗粒堆团,严重时这些组织遭受破坏而崩解(图2、3);用Hamm(1966)改良法染色,也得到同样结果;切片经Feulgen技术染色,这些颗粒呈阳性反应。环氧树脂或苯二甲酸二丙烯酸酯包埋的样本,对厚 $1\mu\text{m}$ 的切片用1%苯甲胺蓝在45℃下染色1小时,也可看到上述症状。

这种RLO在赤眼蜂中分布较广,到目前为止,已先后从广东、广西、浙江和湖北的一些室内繁殖的种群中发现受感染的个体,其中包括拟澳洲赤眼蜂和松毛虫赤眼蜂两个种,但真正造成严重危害的地区并不多见。

表1 感染RLO的赤眼蜂与健康种群产卵雌蜂率和卵的孵化率比较

母代蜂 编 号	来 源	感 染 RLO	产 卵 雌 蜂 率		卵 孵 化 率 (%)	
			产卵/不产卵	百分率(%)	孵化/不孵化	百分率(%)
A 4 *	广州市郊	+++	32/48	40.0	44/196	18.3
G 2 **	北京通县	-	56/24	70.0	98/45	68.5

\*拟澳洲赤眼蜂; \*\*松毛虫赤眼蜂

### 2. 形态和超微结构

赤眼蜂的超薄切片观察,显示这种RLO的多形态特征以及它与细菌和病毒不同的发育过程。以下按照发育的三个阶段描述它的形态和超微结构。

初始体(initial bodies),椭圆或棒状,大小变化颇大,平均为 $0.62 \times 1.3\mu\text{m}$ ;由双层膜所包裹,外膜厚10—15nm,内膜厚7—9nm。这两层膜就是后来的细胞壁和细胞

质膜。细胞质电子密度较低，但可见内含类核糖体颗粒，而没有看到明显的拟核。初始体常变长，中间缩小甚至断开，这是初始体通过二分裂方式进行繁殖的证明(图5)。

中间型(intermediate forms):这是初始体发育至成熟的中间过渡形式，与初始体或下述的基本体混杂在一起，大小渐向基本体接近，平均约为 $0.36 \times 0.69 \mu\text{m}$ ，常呈漏斗状，内含原生质的电子密度仍较基本体稀疏(图5)。

基本体(elementary bodies):这是这种微生物发育至成熟的形式，亦称标准体，也是我们从寄主组织中提纯出来的唯一形式。它们在寄主细胞中无规则排列，并常常被包在一个直径约为 $4 \mu\text{m}$ 的包囊中(图5、6)。在扫描电镜下，基本体大多呈杆状、稍弯，大小平均为 $0.20 \times 0.48 \mu\text{m}$ (图4)。基本体横切面放大，可见它的外周是凹凸不平的细胞壁，厚 $13-18\text{nm}$ ；隔着一重 $6-9\text{nm}$ 的外周原生质空间之后，紧接着的是细胞质膜，厚 $8-10\text{nm}$ (图7)。有时因为切片制备过程不佳，造成细胞壁和细胞膜模糊不清或只能看到部分。细胞里遍布的类核糖体颗粒，直径约为 $15\text{nm}$ 。

### 3. 鸡胚培养结果

用提纯的RLO以及感染RLO的赤眼蜂幼虫组织液，经接种于鸡胚卵黄囊和绒毛尿囊膜培养，连续转接5次，经光学显微镜和电镜检查均未证实这种微生物能在鸡胚中生长。值得注意的是，经接种的鸡胚常常停止发育并约有三分之一在接种后第4—6天死亡，经检查并无发现细菌感染，鸡胚亦不变臭，对照组则发育正常。

### 4. 对小白鼠接种结果

小白鼠经腹腔和睾丸鞘膜注射接种赤眼蜂RLO的试验结果列于表2。结果显示，各处理均呈阴性反应，只有经腹腔注射的第2组中有一只小白鼠在注射后第12天死亡，但经解剖和涂片检查未发现RLO的存在，而耳朵和前腿缺损，可能死于互相残杀。经睾丸鞘膜注射接种的第一组有一只小白鼠于接种后第二天发现阴囊红肿，第五天后消失，判断为炎症，检查睾丸鞘膜亦未发现RLO的存在。

表2 注射接种赤眼蜂RLO对小白鼠的效应

接种部位	组别	动物只数	注射剂量 (RLO颗粒/只鼠)	结 果	备 注
腹 腔	1	10	$1 \times 10^9$	无异常	死于互相残杀
	2	10	$1 \times 10^7$	{ 一只死于第12天, 其余无异常	
	对照	10	0	无异常	
睾丸鞘膜	1	10	$1 \times 10^8$	{ 一只于第二天阴囊 红肿, 其余无异常	{ 第五天红肿消失, 判断为炎症
	2	10	$1 \times 10^6$	无异常	
	对照	10	0	无异常	

### 5. 对赤眼蜂的感染及抗菌素处理效果

提纯的RLO加入寄主卵浆对赤眼蜂的感染效果列于表3，加入不同剂量的青霉素

和链霉素混合剂对 RLO 的抑制效果列于表 4, 几种抗菌素加入寄主卵浆对赤眼蜂 RLO 的防治效果列于表 5。用高浓度 (25,000 国际单位/毫升) 的几种抗菌素浸泡柞蚕卵后, RLO 对赤眼蜂的感染程度列于表 6。表 3 显示, 每毫升寄主卵浆中含  $2 \times 10^4$  个以上的 RLO 颗粒, 即可对赤眼蜂造成感染, 每毫升含  $2 \times 10^8$  个以上的 RLO 颗粒, 则可造成严重感染, 并致使赤眼蜂的成活率 (从幼虫至成虫) 降低一倍以上, 成虫寿命也相对缩短。表 4 和 5 显示, 几种抗菌素 (青霉素、链霉素、氯霉素和四环素) 加入寄主卵浆对 RLO 都有一定的抑制作用, 在相同剂量下, 以青霉素和链霉素的效果为好, 青霉素和链霉素混合使用的效果, 以剂量接近 1,000 单位/毫升卵浆为佳。表 6 显示, 上述四种抗菌素高浓度浸泡寄主卵, 对防治 RLO 感染的效果都不理想。

表 3 RLO 加入寄主卵浆对赤眼蜂的感染效果

剂 量 (RLO 颗粒/毫升)	$2 \times 10^7$	$2 \times 10^6$	$2 \times 10^5$	$2 \times 10^4$	$2 \times 10^3$	0
感 染 程 度	+++	+++	++	+	±	—
赤眼蜂成活率 (%)	26.7	30.0	33.3	46.7	56.7	76.7
成 虫 寿 命 (天)	0.5	0.5	0.5	0.5—1	0.5—1	1

表 4 几种抗菌素加入寄主卵浆对防治赤眼蜂 RLO 效果

抗 菌 素	青霉素	链霉素	氯霉素	四环素	双抗*	对 照
剂 量 (单位/毫升)	1000	1000	1000	1000	1000	0
RLO 感染程度	±	±	++	++	—	+++
赤眼蜂成活率 (%)	56.7	53.3	43.3	50.0	66.7	33.3
成 虫 寿 命 (天)	1	1	0.5	1	1	0.5

\* 青霉素加链霉素等量混合

表 5 不同剂量的双抗加入寄主卵浆对 RLO 的抑制作用

剂 量 (单位/毫升)	0	100	200	400	800	1600
RLO 感染程度	+++	+++	+++	+++	±	—
赤眼蜂成活率 (%)	30.0	33.3	36.7	33.3	60.0	43.3
成 虫 寿 命 (天)	0.5	0.5	0.5	0.5	0.5—1	0.5—1

表6 抗菌素\*浸泡寄主卵不同时间与RLO对赤眼蜂感染程度比较

浸卵时间	青霉素	链霉素	氯霉素	四环素	双抗**	对照
4小时	+++	+++	+++	+++	+++	+++
1天	+++	+++	+++	+++	+++	+++
2天	++	+++	+++	+++	++	+++
3天	++	++	+++	+++	+	+++
5天	++	++	++	+++	+	+++

\* 剂量均为25,000国际单位/毫升, \*\*青霉素加链霉素等量混合。

### 三、讨 论

#### 1. 类立克次氏体对赤眼蜂的感染和危害

立克次氏体是介于细菌和病毒之间的一类微生物,在昆虫中,已知微立克次氏体属(*Rickettsiella*)能使寄主患致命性的疾病<sup>(36)</sup>,它的代表种是日本金龟子微立克次氏体(*Rickettsiella Popilliae*)<sup>(18)</sup>。后来从其它鞘翅目、双翅目和鳞翅目等十多种昆虫中分离得到的立克次氏体,也被认为同属一种<sup>(36)</sup>。此外,有一些未明确分类位置的立克次氏体,即类立克次氏体,也使昆虫寄主患致命性疾疾病<sup>(35,38,16)</sup>。而黑毛寡节小蜂(*Dahlbominus fuscipennis*)的一种RLO则是与寄主共生的<sup>(15)</sup>。Krieg还讨论过立克次氏体在昆虫微生物防治中应用的可能性<sup>(28)</sup>。

赤眼蜂的RLO可使受感染的赤眼蜂致死或种群变弱,但只起着慢性的和潜在的致病作用。赤眼蜂这种RLO的传染途径和流行病学,我们至今还不清楚。据前人研究,微立克次氏体可经口服和腹腔注射途径使寄主受感染<sup>(18,27)</sup>,但垂直传染是存在的,即通过雌性成虫所产的卵而将立克次氏体传染给它们的后代,称为经卵传染。对于这一传染途径,学者们已找到不少证据<sup>(32,31,28,40,19,37,25)</sup>。

赤眼蜂是卵寄生蜂,从卵到羽化前成虫都在它们的寄主卵这个特殊的小生境里渡过,没有和外界直接接触和在外取食(成虫除外),而RLO是专性细胞内寄生的,离开寄主细胞就会死亡,所以,由寄主卵外环境经卵壳孔道污染卵浆从而使幼虫受感染的可能性甚微,或者是不可能的,唯一最大的可能性是经雌蜂产卵传染,或者由产卵管或者由卵(卵面或卵内)将RLO传染给它们的子代。

近年来发现,有的类立克次氏体虽然不引起寄主患病致死,但却可导致寄主昆虫的遗传病——胞质不孕,结果是没有胚胎发育,卵不孵化<sup>(25,37-40)</sup>。

但是这种不孕,只有在交尾的雄虫带有类立克次氏体而雌虫不带这种微生物时才会发生。

本研究发现受RLO感染的赤眼蜂种群,不但雌蜂产卵能力差甚至不产卵,而且所产的卵孵化率低,只达18.3%(表1)。过去有人也曾注意到高比率的雌蜂不产卵的现象,但没有涉及卵的孵化率及遗传不育的问题<sup>(7)</sup>,在研究正常赤眼蜂的胚胎发育中也

没有卵孵化率低的报导<sup>[4)</sup>。当然,除了遗传不育,造成昆虫不育的因素是很多的<sup>[6,14)</sup>,要证实赤眼蜂的不育是否属遗传不育并与RLO的存在有关,还要作大量的研究。

赤眼蜂这种RLO在寄主种群中很少出现全面暴发的急性病征,而常常只有部分个体显示致命疾病,即使在感染严重的情况下也是如此。这说明这种RLO与其寄主在长期的共同进化过程中已渐趋适应,只有当寄主在某些不良因素的促使下才发展成致命疾病。

## 2. 形态和超微结构

赤眼蜂中的RLO形态特征,接近于微立克次氏体属的成员<sup>[27,36)</sup>,与日本金龟子“蓝病”病原体<sup>[19)</sup>和鳃角金龟微立克次氏体(*Rickettsiella melolonthae*)<sup>[28,24,17)</sup>非常相似,但后两者会产生蛋白质晶体,前者没有,据认为这种晶体是寄主对立克次氏体反应的一种产物<sup>[36)</sup>。多形态常常是立克次氏体以及与此相近的衣原体、支原体细胞的一个特征,赤眼蜂中的RLO也是如此。但在提纯的赤眼蜂RLO中,却往往只能得到基本体一种细胞形式,其他研究者也得到同样的结果。我们发现,这是由于初始体和中间型细胞结构较松散,离体后极易自溶的缘故。表7是几种昆虫的微立克次氏体与RLO的形态特征比较。

赤眼蜂RLO的一般细胞结构与其它立克次氏体相似<sup>[18,22)</sup>,具有细胞壁和细胞质膜,而且更进一步的细微结构已证实属于三片层结构。这种细胞壁和细胞膜的构造和成份据认为与革兰氏阴性细菌相象<sup>[22)</sup>。赤眼蜂RLO细胞内的类核糖体颗粒无规则分布,没有象在摇蚊微立克次氏体(*Rickettsiella chironomi*)中所见到的那种斜纹排列<sup>[20)</sup>,在细胞内也没有见到拟核和DNA极丝。

## 3. 繁殖方式

一般认为,立克次氏体和类立克次氏体都只有二分裂的繁殖方式<sup>[12)</sup>。通过超薄切片研究发现几种不同昆虫寄主上的微立克次氏体除了与细菌那样典型的二分裂繁殖方式以外,在寄主细胞中还存在着一种立克次氏体发生基质并可由这种基质转变成成为独立的立克次氏体<sup>[24)</sup>。Götz还观察到一种摇蚊上的微立克次氏体在寄主细胞内通过多细胞分裂的繁殖方式,每个初始体产生30个基本体,这在细菌和立克次氏体中是非常罕见的<sup>[21)</sup>。本研究只明显观察到赤眼蜂中的RLO行二分裂方式繁殖(图5)。它的发育经过初始体——中间型——基本体三个阶段,二分裂发生在初始体阶段。关于立克次氏体初始体的形成,一般认为是由入侵寄主细胞的基本体增大而来的。对一些微立克次氏体的研究表明,它们的繁殖周期与衣原体更为相似,甚至认为它们应该归入衣原体目<sup>[20,21)</sup>。

## 4. 鸡胚培养和小白鼠接种

本研究曾试图用活鸡胚培养赤眼蜂的RLO,但无论接种于卵黄囊还是绒毛尿囊膜,虽经五次传代转接,还不能肯定这种RLO能够生长繁殖,对部分接种鸡胚的死亡,也无法作出解释。据文献记载,对人致病的立克次氏体大多能很好生长于发育中的鸡胚卵

表7 几种昆虫的微立克次氏体及类立克次氏体特征比较

立克次氏体和RLO	寄主	形态	大小(μm)	晶体	感染部位	参考
日本孤丽蟻微立克次氏体 ( <i>Rickettsiella popilliae</i> )	日本孤丽蟻 ( <i>Popillia japonica</i> )	肾形杆状体	0.2 × 0.6	1—3 μm	脂肪细胞核	Dutky和Gooden (1952)
鳃角金龟微立克次氏体 ( <i>R. melolonthae</i> )	鳃角金龟 ( <i>Melolontha melolontha</i> )	1. 小球形 2. 肾形(不成链) 3. 大球形(成链)	1. 直径0.11—0.12 2. 长0.50—0.68 3. 0.79 × 0.45	2—4 μm	脂肪细胞 染色细胞和血 细胞的细胞质	Krieg(1955)
摇蚊微立克次氏体 ( <i>R. chironomi</i> )	摇蚊 <i>C. decorus</i> 和 <i>C. frommeri</i>	1. 中等球形初始体 2. 大球形初始体 3. 球状中间型 4. 盘形基本体	1. 直径约1.0 2. 直径1.5—2.0 3. 直径0.6—0.7 4. 0.06 × 0.6	无	脂肪细胞质	Federici(1980)
锯角叶蜂类立克次氏体 ( <i>Diprion RLO</i> )	普通锯角叶蜂 ( <i>Diprion pini</i> )	肾形	0.918 × 0.513	无	脂肪细胞质	Sidor(1974) <sup>3</sup>
赤眼蜂类立克次氏体 ( <i>Trichogramma RLO</i> )	赤眼蜂 <i>T. confusum</i> 和 <i>T. dendrolimi</i>	1. 棒状或椭圆初 始体 2. 漏斗状中间型 3. 杆状基本体	1. 0.62 × 1.3 2. 0.36 × 0.69 3. 0.20 × 0.48	无	脂肪细胞和 真皮细胞质	蒲蛰龙、庞义 (1983)

黄囊或绒毛尿囊膜上<sup>[24,27]</sup>。沃尔巴奇体属(*Wolbachia*)的一些成员也能在鸡胚卵黄和卵黄囊上生长<sup>[24,28]</sup>。从昆虫中分离出来的两株微立克次氏体,发现可在鸡胚内胚层细胞培养中生长,但这种生长非常有限<sup>[26]</sup>,此外,还没有发现其它昆虫类立克次氏体能成功地在鸡胚中培养的报导。

赤眼蜂的RLO经注射接种于小白鼠,无论经腹腔还是经睾丸鞘膜接种,都得到阴性结果(表2)。虽然这一测定是初步的,但至少说明这种RLO对哺乳动物的感染可能性极小。以昆虫为中间寄主的一些种类的立克次氏体本身就是对高等动物包括人在内的病原体。但对以昆虫为专性寄主的立克次氏体或RLO对高等动物的毒性和致病性至今研究得不多,试验也很少,已知鳃角金龟微立克次氏体和蟋蟀微立克次氏体(*R. grylli*)能致命地感染哺乳动物,特别是经鼻内和腹膜注射对鼠类如此,可使部分实验动物受感染而死亡,并伴有典型的立克次氏体病症状,因此,立克次氏体用于田间防治害虫被认为是\*\*不安全的<sup>[23,30]</sup>。

### 5. 对赤眼蜂类立克次氏体病的防治

RLO在一定的条件和范围内使赤眼蜂致病,而且又往往和葡萄球菌感染同时出现,这对赤眼蜂的繁殖和利用是另一个潜在的威胁<sup>[11]</sup>。对这种RLO病的防治,用抗菌素加入寄主卵浆虽有一定效果(表4、5),但对于目前仍大量采用天然寄主卵繁殖的现实来看,要做到这一点是困难的。用抗菌素浸泡寄主卵的办法,没有显著效果(表6)。我们曾在蓖麻蚕大龄幼虫饲料中大量添食各种抗菌素,企图从它们的卵中获得足够的残留量以抵抗RLO对赤眼蜂的感染,结果也失败了。然而,从一些带有RLO的赤眼蜂个体或种群仍然显得健康这一现象,说明从赤眼蜂种蜂的采集和选优,提高抗病能力,改善繁殖条件等方面努力,是有希望获得良好效果的。

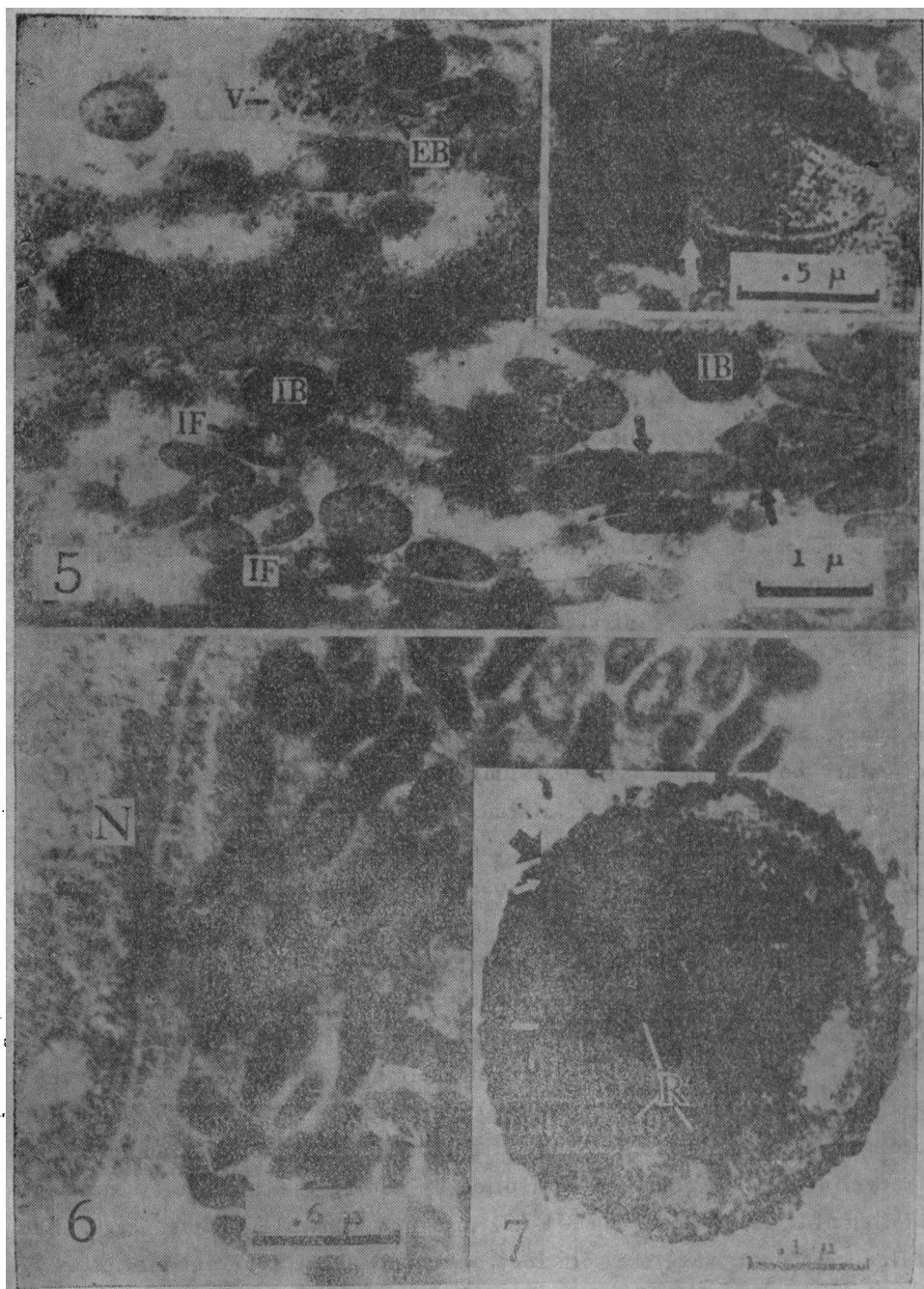
### 参 考 文 献

- [1] 王敏慧, 昆虫知识, 15(1978), 128—129.
- [2] 王敏慧, 昆虫学报, 21(1978), 457—466.
- [3] 邱益三, 昆虫知识, 15(1978), 85—88.
- [4] 利翠英, 昆虫学报, 10(1961), 339—354.
- [5] 利翠英, 昆虫知识, 7(1963), 37—41.
- [6] 庞义、叶育昌、蒲蛰龙, 自然杂志, 2(1978), 410.
- [7] 浙江林业科学研究所, 昆虫知识, 11(1974), 28—31.
- [8] 夏邦颖, 昆虫天敌, 1980, 1, 7—16, 23.
- [9] 蒲蛰龙, 昆虫知识, 7(1963), 144—148.
- [10] 蒲蛰龙主编, 害虫生物防治的原理和方法(第二版), 科学出版社, 1984.
- [11] 蒲蛰龙、庞义, 中山大学学报(自然科学版), 1983, 4, 116—120.
- [12] Armstrong, J. A., *Acta Virol.*, 12(1968), 15—17.
- [13] Beckett, E. B., *Ann. Trop. Med. Parasitol.*, 72(1978), 277—283.
- [14] Bryant, P. J., In "Insect diseases" (Vol. I, G. E. Cantwell, ed.), 1974, pp. 451—499.

- [15] Byers, J. R. and Wilkes, A., *Canadian J. Zool.*, 48 (1970), 939—964.
- [16] Carter, J. B., *J. Invertebr. Pathol.*, 30(1977), 99—101.
- [17] Devauchelle, G., Meynadier, G. et Vago, C., *J. Ultrastruc. Res.*, 38(1972), 134—148.
- [18] Diehl, P. A., et al. *Ann. de Parasitol. (Paris)*, t.55, n°3(1980), 259—270.
- [19] Dutky, S. R., and Gooden, E. L., *J. Bacteriol.*, 63(1952), 743—750.
- [20] Federici, B. A., *J. Bacteriol.*, 143 (1980), 995—1002.
- [21] Götz, P., *J. Invertebr. Pathol.*, 20 (1972), 22—30.
- [22] Hayes, S. F. and Burgdorfer, W., *J. Bacteriol.*, 137 (1979), 605—613.
- [23] Heimpel, A. M., In "Microbial Control of Insects and Mites" (H. D. Burges and N. W. Hussey, eds), pp. 469—489, Academic Press, London, New York, 1971.
- [24] Huger, A. M. and Krieg, A., *J. Invertebr. Pathol.*, 9(1967), 442—445.
- [25] Kellen, W. R. and Hoffmann, D. F., *J. Invertebr. Pathol.*, 37 (1981), 273—283.
- [26] Krieg, A., *Z. Naturforsch.*, 106 (1955), 34—37.
- [27] Krieg, A., In "Insect Pathology, An Advanced Treatise" (E. A. Steinhaus, ed.), Vol I, pp. 577—617, Academic Press, New York, 1963.
- [28] Krieg, A., In "Microbial Control of Insects and Mites" (H. D. Burges and N. W. Hussey, eds.) pp. 173—179, Academic Press, London, New York, 1971.
- [29] Lewiss, W. J. et al., *Environment Entomol.*, 5 (1976), 449—452.
- [30] Mandin, J., Giran, F. and Vago, C., *Entomophaga*, 12 (1967), 295—301.
- [31] Niklas, O. F., *Entomophaga*, 14 (1969), 225—228.
- [32] Roshdy, M. A., *J. Invertebr. Pathol.*, 3 (1961), 148—166.
- [33] Sidor, C., *J. Invertebr. Pathol.*, 24 (1974), 256—257.
- [34] Steinhaus, E. A., In "Insect Microbiology", pp. 256—347, Comstock Pub. Comp., Inc. New York, 1947.
- [35] Vago, C. et Meynadier, G., *Entomophaga*, 10 (1965), 307—310.
- [36] Weiss, E., In "Bergey's Manual of Determinative Bacteriology" (8th ed., R. E. Buchanan and N. E. Gibbons, eds.), pp. 901—903. Williams and Wilkins Comp., Baltimore, 1974.
- [37] Wright, G. D. and Wang, B. T., *J. Invertebr. Pathol.*, 35(1980), 200—208.
- [38] Yen, J. H. and Barr, A. R., *Nature (London)*, 232 (1971), 657—658.
- [39] Yen, J. H. and Barr, A. R., *J. Invertebr. Pathol.*, 22 (1973), 242—250.
- [40] Yen, J. H. and Barr, A. R., In "The Use Of Genetics in Insect Control" (R. Pal and M. J. Whitten, eds.), Chap. 6, pp. 97—118. Elsevier/North, Holland, 1974.



- 图1 感染类立克次氏体[(RLO)的拟澳洲赤眼蜂幼虫的组织涂片, Giemsa 染色, 小箭头所指的是 RLO 颗粒, 有的 RLO 聚集成团(粒箭头所指)。光学显微镜摄, 1,450×。
- 图2 感染 RLO 的拟澳洲赤眼蜂蛹组织切片, 示脂肪体被侵害和破坏的情形, 箭头所指是聚集成团的 RLO 颗粒, Giemsa 染色, 光学显微镜摄, 1,100×。
- 图3 感染 RLO 的拟澳洲赤眼蜂幼虫横切面的一部分, 示体壁上皮细胞中存在的许多大小不等的 RLO 的颗粒堆团。光学显微镜摄, 1,100×。
- 图4 从染病的拟澳洲赤眼蜂中提纯出来的 RLO 基本体。扫描电子显微镜摄。



**图5** 感染 RLO 的拟澳洲赤眼蜂脂肪细胞超薄切片的一部分，示各种形态的 RLO：IB—初始体，IF—中间型，EB—基本体，V—膜束液泡，黑箭头所指为二分裂繁殖中的短链状初始体，右上角显示一对初始体正在分开。

**图6** 感染 RLO 的拟澳洲赤眼蜂成虫超薄切片，示体壁上皮细胞质中的一个膜束液泡充满 RLO 基本体，左边为细胞核 (N)。

**图7** 赤眼蜂 RLO 一个基本体横切面 (超薄切片)，粒箭头所指为凹凸不平的细胞壁，小箭头所指为紧贴细胞质的质膜，两者之间隔着一层外周原生质空间，细胞内充满类核体颗粒 (R)。

## A Rickettsia-like Organism and the RLO Disease of *Trichogramma* sp.

Pu Zhelong Pang Yi

### Abstract

This paper deals with a rickettsia-like organism (RLO) and RLO disease of *Trichogramma* sp.. The intracellular microorganism was Gram-negative. It mainly invaded the cytoplasm of fat body and epithelium of the body wall of the parasitoid and could be detected from larvae, pupae and adults, causing its hosts death or weakness. It also existed in individuals and populations which appeared to be healthy. So far, it had been found that some populations of *Trichogramma confusum* and *T. dendrolimi* from Guangdong, Guangxi, Hubei and Zhejiang provinces were infected by RLO. The RLO was pleomorphic and consisted of three major cell types based on its reproductive cycle: (i) large oval or elongated initial bodies (mean  $0.62 \times 1.3 \mu\text{m}$ ), which multiplied by binary fission; (ii) funnelshaped intermediate forms (mean  $0.36-0.69 \mu\text{m}$ ), and (iii) small rodshaped elementary bodies (mean  $0.20 \times 0.48 \mu\text{m}$ ), which were the mature stage of cells and formed by the condensation of intermediate forms. All three typical cells had a cell wall and a plasmic membrane, the former 13-18 nm in thickness, and the later 8-10 nm. The ribosome-like particles filled the cells and measured ca. 15 nm in diameter. An attempt was made to cultivate the RLO in the yolk sac and chorioallantoic membrane of chick embryo, but failed. A negative result had been obtained by inoculating RLO into the abdominal cavity and into the testes of mouse. Healthy individuals and populations of *Trichogramma dendrolimi* would be seriously infected when the contents of their host eggs were added into the purified RLO at a dosage over  $2 \times 10^5$  RLO particles per millilitre. The RLO was more sensitive to penicillin and streptomycin than to chloramphenicol and tetracycline, and it would be controlled by adding the mixture of these two antibiotics at a dosage over 800 IU/ml into the contents of host eggs. But the results were poor when the solutions of any of above four antibiotics were used to soak the host eggs beforehand.