

赤眼蜂三种潜在病原体及其所引起的疾病

蒲蛰龙 庞 义
(中山大学昆虫学研究所)

赤眼蜂 (*Trichogramma sp.*) 是一种体型微小的卵寄生蜂, 作为害虫天敌加以利用, 至今已有近百年历史。我国于五十年代开始应用于生产实践, 并在害虫生物防治中发挥了重要作用, 近年来, 许多国家都在大规模繁殖和应用。但到目前为止, 对这种益虫的疾病的研 究还未见有文章报导。1978年, 我们在广州市郊区石龙寄生蜂站罹病的拟澳洲赤眼蜂 (*T. confusum*) 中曾发现一种细胞内的类立克次氏体 (Rickettsia-like organism)⁽¹⁾, 最近, 我们在对罹病蜂群和国内不同地区的蜂种作进一步研究和重新描述感染赤眼蜂的类立克次氏体的同时, 又发现另外两类赤眼蜂的潜在致病微生物——葡萄球菌 (*Staphylococcus sp.*) 和细胞内的类支原体 (*Mycoplasma-like organism*)。本文简要报导上述三种微生物的形态、超微结构、对寄主的感染、病变和防治试验结果等。

一、感染赤眼蜂的葡萄球菌

从广东、湖北等省室内繁殖的罹病拟澳洲赤眼蜂和松毛虫赤眼蜂 (*T. dendrolimi*) 中分离出两株革兰氏阳性球菌, 经鉴定均属于葡萄球菌⁽²⁾。其中一株代号为 TC-1 的葡萄球菌, 对赤眼蜂的危害较大。这种球菌直径大小为 $0.41-0.62\mu\text{m}$, 呈球形, 可在普通细菌培养基上生长 (图 1), 产橙黄色非水溶性色素。这种菌可通过寄主卵感染赤眼蜂幼虫、蛹和成虫, 并造成不同程度的危害。受葡萄球菌 TC-1 感染的赤眼蜂, 个体小而弱, 体色较正常的暗, 严重者死亡, 组织涂片染色, 在光学显微镜下可见大量的小圆形颗粒状球菌, 常聚集成不规则的堆团。在电子显微镜下观察病蜂的超薄切片, 可见受感染细胞的细胞器几乎全部被破坏 (图 2)。已感染这种球菌的赤眼蜂种群, 室内繁殖代数越多, 感染率和死亡率越高, 存活成虫寿命越短。用冷藏过的柞蚕 (*Antheraea pernyi*) 卵比用新产的蓖麻蚕 (*Philosamia cynthia ricini*) 卵作寄主卵, 感染率高三倍以上。经调查发现, 在我国华南和中南地区繁殖的赤眼蜂比华北和东北地区繁殖的赤眼蜂受葡萄球菌的感染率高。葡萄球菌 TC-1 经体腔注射对其它昆虫, 如斜纹夜蛾 (*Spodoptera litura*) 和蓖麻蚕幼虫甚至哺乳动物如小白鼠和家兔也有一定致病性和毒性, 而口服却无明显不良反应。生物测定初步证明这种球菌产生外毒素。此菌对青霉素、链霉素、氯霉素和四环素等抗菌素敏感, 寄主卵浆中含 400 国际单位/毫升的青霉素和链霉素混合剂, 即可有效地抑制对赤眼蜂的感染; 用高浓度 (25,000 国际单位/毫升) 的上述抗菌素溶液预先浸泡寄主卵 2—3 天再行接蜂, 也有一定的防治效果。

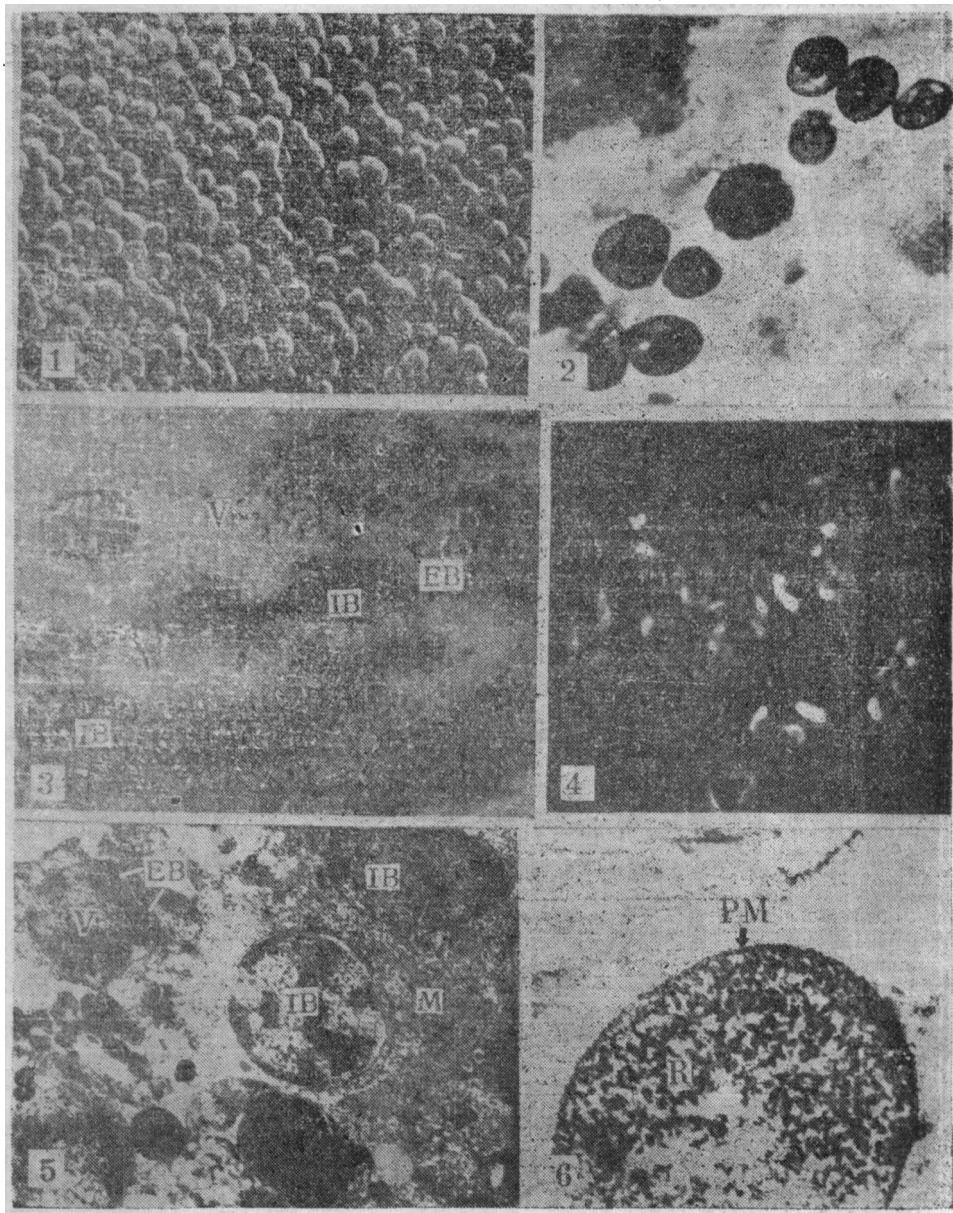
●广州市生物防治站等单位为本研究提供材料, 本校电镜室制备超薄切片。

二、感染赤眼蜂的类立克次氏体

到目前为止,已发现广东、广西、浙江和湖北等省繁殖的一些拟澳洲赤眼蜂和松毛虫赤眼蜂受到类立克次氏体(简称RLO)的感染。受感染的赤眼蜂种群,发育不整齐,从卵期到成虫羽化的时间,可以相差两倍以上(从9天到25天),羽化率、成虫生活力和成虫寿命等均受影响,变畸者多,产卵能力也低,有许多雌蜂不产卵或所产的卵不孵化。在解剖显微镜下观察,感染严重的幼虫或蛹,皮下呈乳白色的团块增多,发育受阻,或死于寄主卵内,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症状,幼虫照常发育、化蛹、羽化和交尾产卵。受这种RLO感染的赤眼蜂种群,很少出现全面暴发的急性病症或流行病,而常常只有部分个体显示致命疾病,即使在严重感染的情况下也是如此。取有明显症状的赤眼蜂作整体涂片,经Giemsa或Macciavello法染色,在光学显微镜油镜下可见RLO呈很微小的椭圆或短杆状的紫红色或红色颗粒,这些颗粒分散存在或成堆存在于一个包囊中,革兰氏染色阴性。经Giemsa染色的石蜡组织切片,可见病蜂体壁上皮细胞以及一些脂肪体细胞的细胞质中存在数量和大小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。超薄切片显示,赤眼蜂细胞的RLO是多形态的,依发育过程的不同阶段分两种形态的细胞,初始体(initial bodies)和基本体(elementary bodies)。前者椭圆或香肠状,较大,平均大小为 $0.62 \times 1.3 \mu\text{m}$,行二分裂繁殖;后者由初始体经浓缩而成,是成熟阶段的细胞,呈小杆状,平均大小为 $0.20 \times 0.48 \mu\text{m}$,常多个地被包裹在一膜束液泡中(图3)。进一步的放大图像表明,上述细胞均具细胞质膜和细胞壁,前者厚8—10nm,后者厚13—18nm。取病虫匀浆,加无菌双蒸水稀释,纱布过滤,并经4,000 rpm 20分钟和11,000g 20分钟差速离心,反复数次,可分离出较纯的RLO基本体(图4)。赤眼蜂RLO的形态和寄生部位,接近微立克次氏体属(*Rickettsiella*)的成员⁽⁶⁾,与日本金龟子“兰病”病原体⁽⁶⁾以及一种甲壳类的RLO⁽⁶⁾极为相似。本研究曾试图用活鸡胚培养这种RLO,但无论接种于卵黄囊还是绒毛尿囊膜,都未获成功;用小白鼠经腹腔和睾丸鞘膜注射接种,均得到负的结果。用实验方法在寄主卵浆中加入经纯化的RLO颗粒,当剂量达 2×10^6 RLO颗粒/毫升卵浆以上时,会造成赤眼蜂健康个体和种群的严重感染。赤眼蜂的RLO对青霉素和链霉素较之对氯霉素和四环素敏感。当寄主卵浆中同时含有800国际单位/毫升以上的青霉素和链霉素时,RLO即受到抑制,但用上述四种抗菌素浸泡寄主卵对防治赤眼蜂的RLO病却没有明显效果。

三、赤眼蜂细胞内的类支原体

在研究上述两种赤眼蜂的疾病时,发现蜂体头部某些脑细胞中存在一种有别于RLO的微生物——类支原体(简称MLO)。赤眼蜂细胞的MLO也是多形态的,有两种大小相差颇大的细胞:大的椭圆形体即初始体,有时伸长或具芽状突起,平均直径 $1.6 \mu\text{m}$;小的椭圆形体即基本体,平均直径 $0.61 \mu\text{m}$,有时多个地被一共同的膜束液泡所包裹(图5)。MLO没有细胞壁,而只有三层结构的细胞质膜,总厚度为13—17nm,细胞内充满着类核糖体颗粒,这些颗粒的平均直径约为22nm(图6)。赤眼蜂MLO的



1. 感染赤眼蜂的葡萄球菌TC-1菌落表面一部分, 扫描电镜摄, $8,000\times$ 。
2. 侵入赤眼蜂细胞内的葡萄球菌, 幼虫超薄切片, $20,000\times$ 。
3. 赤眼蜂细胞内的类立克次氏体(RLO), IB—初始体, EB—基本体, V—膜束液泡。幼虫超薄切片, $18,000\times$ 。
4. 提纯的赤眼蜂类立克次氏体(基本体), 扫描电镜摄, $8,000\times$ 。
5. 赤眼蜂细胞内的类支原体(MLO), IB—初始体, EB—基本体, V—膜束液泡, M—线粒体。成虫脑细胞超薄切片, $10,000\times$ 。
6. 赤眼蜂MLO细胞放大图的一部分。PM—细胞质膜, R—类核糖体颗粒。 $50,000\times$ 。

细胞学特征与果蝇 (*Drosophila paulistorum*) 的 MLO^(4,5) 和地中海粉螟 (*Ephesia kuehniella*) 的 MLO⁽⁷⁾ 相似, 与支原体 *Mycoplasma hominis* 也有许多共同之处⁽⁸⁾。这种 MLO 在赤眼蜂体内的寄生部位未完全清楚, 目前只有通过电子显微镜在赤眼蜂幼虫和成虫头部的某些脑细胞质中观察到, 在来自广东、北京和吉林等省市的一些拟澳洲赤眼蜂和松毛虫赤眼蜂种群中均有所发现, 其中有些种群或个体外观健康、发育正常, 有些则同时受到葡萄球菌和 RLO 的感染而表现出病态。

参 考 文 献

- [1] 庞 义、叶育昌、蒲蛰龙, 自然杂志, 2 (1978), 410.
- [2] 中国科学院微生物研究所细菌分类组, 一般细菌常用鉴定方法, 科学出版社, 1978.
- [3] Anderson, D. R., Barile, M. F., *J. Bacteriol.*, 90 (1965), 180—192.
- [4] Daniels, S., Ehrman, L., *J. Invertebr. Pathol.*, 24 (1964), 14—19.
- [5] Dutky, S. R., Gooden, E. L., *J. Bacteriol.*, 63 (1952), 743—750.
- [6] Federici, B. A., Hazard, E. I. and Anthony, D. W., *Appl. Microbiol.*, 28 (1974), 885—886.
- [7] Gottlieb, F. J., *J. Invertebr. Pathol.*, 20 (1972), 351—355.
- [8] Gottlieb, F. J., Goitein, R., Ehrman, L. and Inocencis, B., *J. Invertebr. Pathol.*, 30 (1977), 140—150.
- [9] 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 Company, Baltimore, 1974.

Studies on Three Potential Pathogens, *Staphylococcus*, *Rickettsia*-Like and *Microplasma*-Like Organisms of *Trichogramma* spp. and Their Causative Diseases of the Hosts

Pu Zhelong Pang Yi

(Research Institute of Entomology)

Abstract

The morphology, ultrastructure and infectivity of these newly recorded pathogens as well as the prevention and control of their causative diseases of *Trichogramma* were investigated.

Three different groups of microorganisms, *Staphylococcus*, rickettsia-like organism (RLO) and mycoplasma-like organism (MLO) were found existing singly or simultaneously in *Trichogramma* spp. mass-produced in different parts of China, and they were all considered as the potential pathogens of this parasitoid.

Two strains of *Staphylococcus* were isolated from invalid *T. confusum* and *T. dendrolimi*. One strain (TC-1) infected the larvae, pupae as well as adults of *Trichogramma* via the host eggs and caused harmful effects in varying degrees. The infection of this coccus was higher at the *Trichogramma* rearing stations in South China than in North China. The cocci were sensitive to antibiotics, such as penicillin, streptomycin, chloramphenicol and tetracycline.

The RLO mainly invaded the cytoplasm of fat body and epithelium of body wall of the larvae, pupae and adults of *Trichogramma* and caused them death or weakness. This microorganism was found to occur in several provinces of China. The RLO was more sensitive to penicillin and streptomycin than to chloramphenicol and tetracycline.

The MLO was detected in some populations of *Trichogramma* species mentioned above, and it was found existing in the cytoplasm of the larvae and adults. Some of its hosts looked healthy and normally developed.