

柑桔木虱传播柑桔黄龙病的研究*

黄炳超** 刘秀琼 陈循渊

(植保系)

(杨村华侨柑桔场)

提 要

本文报道了柑桔木虱 (*Diaphorina citri* Kuwayama) 传播柑桔黄龙病的试验, 在柑桔木虱的主唾液腺及滤室中观察到柑桔黄龙病的病原类细菌体, 这些类细菌体与病株中的类细菌体相同, 进一步证明了柑桔木虱是柑桔黄龙病的媒介昆虫, 并图示了柑桔木虱唾液腺和消化道滤室的结构。

前 言

近年来, 我国对柑桔黄龙病的媒介昆虫及病原问题的研究取得了较大的进展。广东农林学院植保系植病组(1977)^[1], 广西柑桔黄龙病组(1977)^[2], 戴月明等(1982)^[3], 陈循渊等(1982)^[4]的实验相继提出柑桔木虱能传染柑桔黄龙病。柯冲等(1979)^[5]从病树切片上观察到柑桔黄龙病的病原体, 并把这种病原体归为类立克次体 (Rickettsia Like organism, 简称RLO); 陈作义等(1979)^[6]也报道了柑桔黄龙病的病原体, 并把它归为类菌原体 (Mycoplasmal like organism, 简称MLO), 随后陈作义等(1982)^[7]又把它归为类细菌体 (Bacterium Like organism, 简称BLO)。既然在病树上已看到柑桔黄龙病的病原体, 柑桔木虱又能传染柑桔黄龙病, 那么在柑桔木虱体内也应找到这种病原体。带着这个问题, 我们从1982年起进行了虫传试验及用电子显微镜进行了病原观察。

材 料 与 方 法

(一) 虫传试验

虫传试验在广东省博罗县杨村华侨柑桔场进行。选取3株具有典型柑桔黄龙病症状的甜橙 (*Citrus sinensis* (Linn.) Osb.) 病树, 栽植于室外防虫网室中 (网室大小为149×151×170厘米), 作为柑桔木虱获毒饲养的毒源树。病树症状为叶脉肿大, 硬化, 叶片黄化, 有黄绿斑驳。

取刚孵化的若虫饲养于无毒甜橙实生苗上 (种子经55~56℃温水热处理50分钟), 在

* 电镜观察得到中心实验室李济和、章潜才等同志协助。廖丽雅、李凤山同志参加部分虫传试验工作, 谨致谢意。

** 本文是植保系研究生黄炳超硕士论文的一部分, 现在广东省农科院植保所工作。

室外小网室中经多代繁殖, 作为无毒虫虫源。

1983年5月5日开始, 将大批无毒木虱成虫放入毒源树上饲养, 然后按不同获毒饲养期取出木虱成虫进行传毒试验。

供虫传试验的柑桔实生苗的种子也用55~56℃热水处理50分钟, 在防虫网室中栽于20×18厘米的花盆中, 每盆一苗, 品种为蕉柑, 椪柑和酸桔。苗高15~18厘米, 生长期为新梢期。

虫传试验在室外小网室中进行, 网室大小为145×70×90厘米, 每苗接虫为20头。盆上用圆柱状纱罩加盖, 纱罩高30厘米, 直径20厘米, 顶盖纱布, 接虫后2天除去纱罩, 让虫子在小网室中自由飞翔。传毒完后, 即用乐果杀死虫子, 然后将虫传柑桔苗移入大网室中观察。

虫传苗发病后, 取病苗枝条, 用单芽切接法进行嫁接。1984年4月, 如上法重复部分试验。

(二) 柑桔黄龙病病原观察

1. 柑桔叶脉制样: 取毒源树叶脉, 用刀片切成3毫米长, 用4%戊二醛溶液固定12小时后, 经0.1M, pH7.2磷酸缓冲液漂洗6次, 再用1%锇酸固定12小时, 磷酸缓冲液漂洗6次, 酒精系列脱水, 丙酮加环氧树脂Epon 812渗透, 用环氧树脂Epon 812包埋。

2. 柑桔木虱成虫唾腺及消化道制样: 方法基本与叶脉制样相同。不同点是1%锇酸仅固定3小时, 用丙酮系列脱水。

上述样品用LKB-V超薄切片机作定位切片, 用荷兰EM400电子透射显微镜观察。

研究结果

(一) 虫传试验

1. 1983年5月, 获毒饲养期10天, 传毒饲养期10天, 供试7株柑桔苗未见发病。不接虫对照7株未见发病;

2. 1984年4月, 获毒饲养期10天, 传毒饲养期10天, 供试10株柑桔苗, 未见发病。不接虫对照10株未见发病;

3. 1985年5月, 获毒饲养期20天, 传毒饲养期10天, 供试7株柑桔苗有2株发病。一株为蕉柑, 另一株为酸桔, 发病潜育期分别为2个月和3个月。不接虫对照7株不发病。

每次每株试验虫数均为20只柑桔木虱成虫。虫传发病柑桔苗的症状为叶片黄化, 有黄绿斑驳, 质硬、叶脉肿大。症状和毒源树一样。

1984年1月29日, 取这些病梢嫁接于无毒的甜橙实生苗砧木上, 其中蕉柑病梢嫁接4株, 1株发病。酸桔病梢嫁接6株, 3株发病。症状和原传毒发病苗一样。

(二) 柑桔黄龙病病原观察

1. 在虫传毒源树柑桔苗叶脉韧皮部筛管细胞中观察到柑桔黄龙病的病原体为类细菌体(BLO), 椭圆形、似圆形或长形, 大小为200~463×556~1111nm。菌体的膜壁厚度为20~25nm, 膜壁可分为三个区。内外两个膜壁区电子密度较大、中间区电子密度较小, 外层膜壁区为膜质细胞壁(membranous cell wall), 内层膜壁区为细胞质

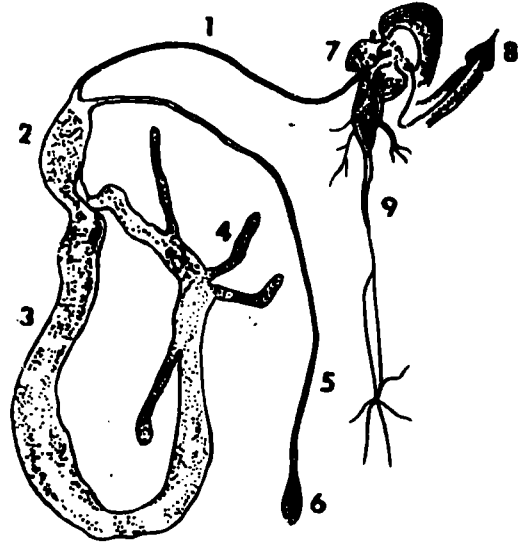
膜(Cytoplasmic membrane)。内含物中可见到类似文献中描述的核糖体和核 酸 物 质。(照片1、2)。

2. 在获毒饲育43天的柑桔木虱成虫唾腺的主唾腺细胞中也观察到柑桔黄龙病的病原类细菌体(BLO), 园形或似园形。大小为 $200\sim 370\times 220\sim 580\mu\text{m}$, 膜壁厚度为 $20\sim 25\mu\text{m}$, 也可见如上述的三个膜壁区。菌体内含物与上述病树叶脉中的病原菌体的内含物一样。(照片3)

在获毒饲育20天的柑桔木虱成虫消化道的滤室中, 也见到这种类细菌体(BLO), 椭圆形或似园形, 膜壁厚度为 $20\sim 25\mu\text{m}$, 也可清晰地看到如上述的三个膜壁区, 内含物丰富。(照片4)

在对照无毒虫的唾腺细胞及滤室中, 未见上述菌体。柑桔木虱的唾腺包括主唾腺和副唾腺各一对(照片5), 主唾腺为荔枝果形, 大小为 $120\mu\times 106\mu$, 基部有一管道。副唾腺顶端锤状膨大, 大小为 $21\mu\times 11\mu$, 有一管道与主唾腺管道在靠近主唾腺基部处相通。主唾腺细胞的超微结构一部分(照片6), 主唾腺细胞中主要有线粒体, 内质网, 有轮纹分泌颗粒, 棉絮状颗粒, 细胞核等细胞器。

柑桔木虱消化系统的构造如图1, 示滤室的位置。同翅目昆虫一般都有滤室。柑桔木虱的消化系统包括前肠、中肠、后肠, 有四根马氏管。前肠和后肠在滤室相通, 由肠进入的多余水份可经滤室由后肠排出。



1. 前肠 2. 滤室 3. 中肠 4. 马氏管
5. 后肠 6. 直肠 7. 唾腺 8. 口针 9. 神经

图1 柑桔木虱*D. citri*的消化系统

结 论 与 讨 论

本实验结果表明, 柑桔木虱获毒饲育10天, 传毒饲育10天, 未能引起发病, 而获毒饲育20天, 传毒饲育10天能引起发病。根据这些试验, 初步推断柑桔黄龙病原在柑桔木虱体内的循徊期约为21~30天。柑桔黄龙病原未能分离和人工培育, 因而也未能完成柯克氏定律。但以前人的虫传试验和病原鉴定为基础, 从我们的虫传试验结果及在虫体主唾腺和消化道滤室中观察到的病原菌体与虫传毒源树叶脉韧皮部筛管细胞中所观察到的病原菌体相同, 进一步证明了柑桔木虱是柑桔黄龙病的媒介昆虫。

目前, 关于柑桔黄龙病的病原有类克次体(简称RLO)^[6]和类细菌体(简称BLO)^{[6][7]}两种称法。最近美籍植病教授陈泽安博士(1984)访问华南农业大学时认为称为类细菌体(BLO)更为恰当。

参 考 文 献

- [1] 广东农林学院植保系植病教研组, 柑桔木虱传递柑桔黄龙病试验初报, 《广东农业科学》, (6) 1977, 50~53。
- [2] 广西柑桔黄龙病研究小组, 柑桔木虱和柑桔黄龙病, 《柑桔科技通讯》, (3) 1977, 23~24。
- [3] 柯冲, 林先沾等, 柑桔黄龙病与类立克次体及线状病毒研究初报, 《科学通报》, (10) 1979, 463~466。
- [4] 陈作义, 沈菊英等, 广西柑桔黄龙病株中类菌原体的发现, 《生物生化与生物物理学报》, 11 (4) 1979, 389~390。
- [5] 陈作义, 我国植物黄化病害研究进展, 《植物保护》, (1) 1981, 7—9。
- [6] 陈循渊等, 柑桔木虱生物学特性观察及其与柑桔黄龙病的关系, 《中国柑桔》, (4) 1982, 14—17。
- [7] 戴月明等, 柑桔黄龙病传病昆虫木虱的研究, 《中国柑桔》, (3) 1982, 1—2。

A STUDY ON THE TRANSMISSION OF YELLOW SHOOT DISEASE OF
CITRUS BY THE ASIATIC CITRUS PSYLLID
(*DIAPHORINA CITRI* KUWAYAMA)

Huang Bingchao Liu Siuking

Chen Xunyan

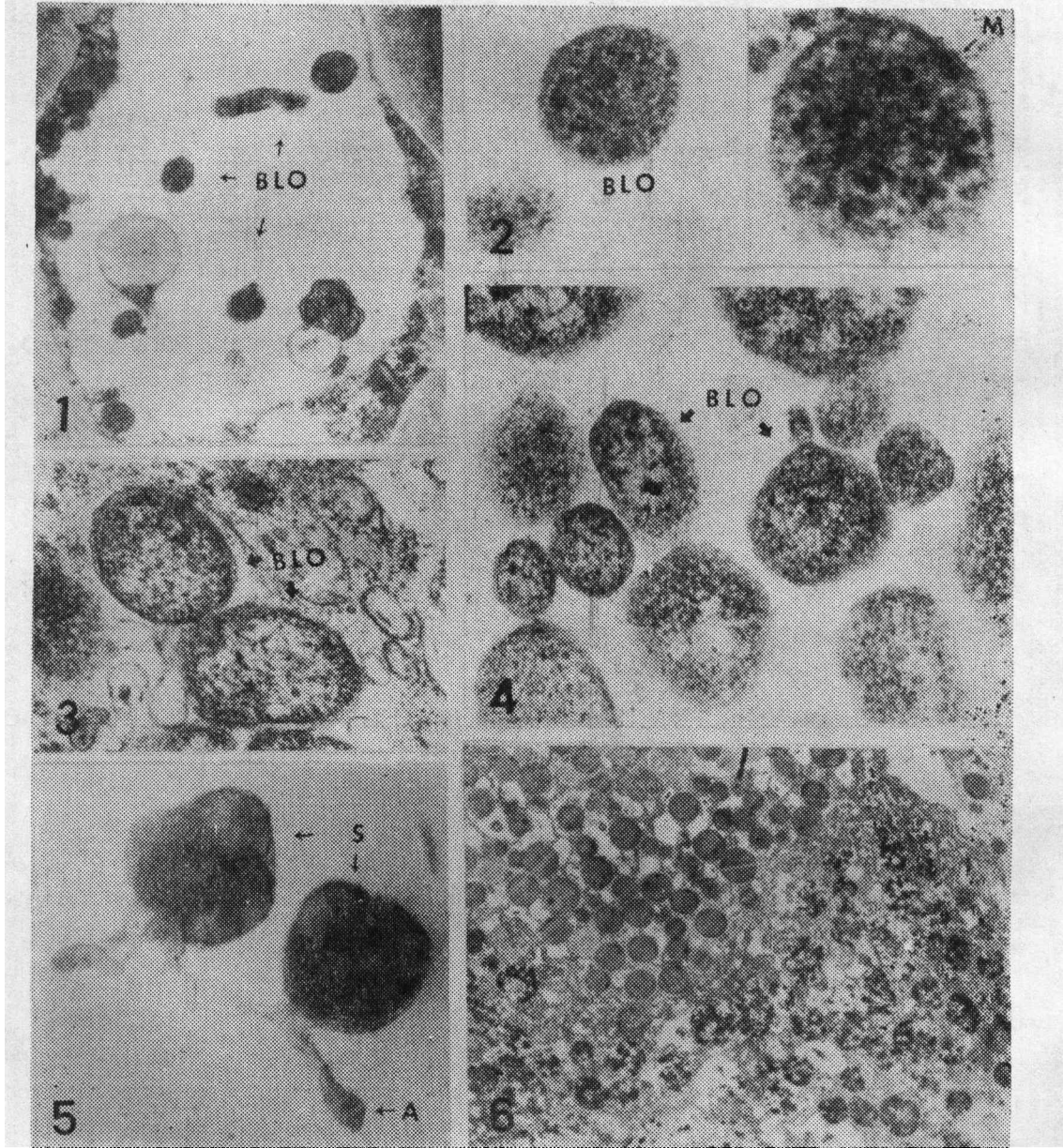
(Department of Plant Protection)

(Citrus Research Institute, Yan-cun Citrus
Farm, Guangdong, China)

ABSTRACT

Results of our experiments showed that adults of Asiatic citrus psyllid (*Diaphorina citri* Kuwayama) after feeding on the yellow shoot diseased citrus trees for 20 days and then transferred to the healthy ones could transmit the disease. The pathogen was a bacterium-like organism (BLO) found in the main salivary glands of the psyllid which had fed on the infected trees for 43 days, and in the filter chamber of digestive system after feeding on the infected tree for 20 days. The pathogen was similar to that found in the sieve tubes of the yellow-shoot disease trees. Thus further evidence was obtained proving that *Diaphorina citri* is the vector of the citrus yellow-shoot disease in South China.

照片图



照片1 柑桔黄龙病株叶脉韧皮部筛管细胞中的柑桔黄龙病原——类细菌体 (BLO)。×12520

照片2 照片1的柑桔黄龙病原体放大图, ×43200, 示三层膜壁结构 (M) 及内含物。

照片3 获毒饲养43天的柑桔木虱唾腺的主唾腺细胞中的柑桔黄龙病原 (BLO), 示三层膜壁结构及内含物。×43200

照片4 获毒饲养20天柑桔木虱滤室中的柑桔黄龙病原体 (BLO), 示三层膜壁结构及丰富的内含物。×75300

照片5 柑桔木虱唾腺构造, S: 主唾腺, A: 副唾腺。

照片6 柑桔木虱主唾腺的细胞结构。×5850