

媒介生物 防治技术

主 编
张应国 钱乃红



南京出版社

作品登记号：10-1996-A5-0033 号

书 名 媒介生物防治技术

主 编 张应阔 钱万红

出版发行 南京出版社

(社址：北京东路41号，邮编：210008)

印 刷 江苏金地矿局兰桥印刷厂

开 本 850×1168毫米 1/32

印 张 7.125

字 数 137千字

版 次 1997年7月第1版第1次印刷

印 数 0.001-1,000 册

书 号 ISBN 7-80614-338-6/Q·1

定 价 14.00元

责任编辑 蔡 健 封面设计 杨晓霞

(本书如非印装问题可向印刷厂调换)

内 容 简 介

媒介生物防治技术是近年来兴起的一个新课题,作为无公害控制方法,正越来越为人类所重视。我国这方面的研究尚处起步阶段,系统专业书籍更是空白。本书作者参阅国内外最新资料,结合自己的实验室研究和现场研究编著此书,为专业研究人员和环保政策制定者提供了一本有益的参考书。

序

在经历了前后 3 个春秋并数易其稿之后,《媒介生物防治技术》一书终于得以封笔付梓了。这对从事本项科研工作的作者们来讲,不能不算是一种欣慰和解脱。生物技术是 21 世纪的时代标识,是人类未来发展的支柱。但是,在将该技术应用于控制有害昆虫方面,以往的著述和应用大多局限于农业害虫,对危及人类健康的媒介昆虫涉及较少,像本书这样对其技术和理论进行系统整理和阐述的尚不多见(起码在国内是这样)。本书第二章至第五章系统地介绍了生物样本的采集、包装、运输、制备和贮存技术;第六章至第九章着重叙述了生物杀虫剂的实验技术和实验安全;最后第六章分类阐述了几种病原体的性状、侵袭病媒体的寄生物特点以及生物杀虫剂的应用研究等等。可以说,本书的问世标志着国内媒介生物防治的

研究与应用取得了新的进展。

《媒介生物防治技术》的主要作者是南京军区军事医学研究所的钱万红副研究员和张应阔高级实验师。他们长期从事媒介生物防治的研究,硕果累累,成绩卓著,且同是政府特殊津贴获得者。

由于生物技术是一种发展中的新兴技术,同时,也由于作者研究水平有限,书中还存在着这样那样的不足之处,希望得到广大读者的批评和指正。

最后,希望本书的出版能给国内同行带来有益的帮助,并祝愿我国媒介生物防治的研究和应用拥有一个灿烂的明天!

作者

1997年2月于南京

目 录

● 序	(1)
● 第一章 绪 论	(1)
● 第二章 野生生物体的采集	(5)
● 第三章 生物样本的包装和运输	(19)
● 第四章 标本的制备方法	(36)
● 第五章 生物材料的贮存	(40)
● 第六章 实验室常规技术	(42)
● 第七章 分离物活性实验	(55)
● 第八章 生物杀虫剂活性实验模型的制备	(66)
● 第九章 采样者及实验室工作人员的安全	(71)
● 第十章 主要病原体的性状鉴定	(73)
● 第十一章 侵袭病媒体的拟寄生生物	(128)
● 第十二章 昆虫拟寄生生物及病媒体克星	(145)
● 第十三章 捕食蚊虫的鱼类	(151)
● 第十四章 主要生物杀虫剂——苏云金芽 孢杆菌的实验技术	(168)
● 第十五章 生物杀虫剂的应用	(192)

序

在经历了前后 3 个春秋并数易其稿之后,《媒介生物防治技术》一书终于得以封笔付梓了。这对从事本项科研工作的作者们来讲,不能不算是一种欣慰和解脱。生物技术是 21 世纪的时代标识,是人类未来发展的支柱。但是,在将该技术应用于控制有害昆虫方面,以往的著述和应用大多局限于农业害虫,对危及人类健康的媒介昆虫涉及较少,像本书这样对其技术和理论进行系统整理和阐述的尚不多见(起码在国内是这样)。本书第二章至第五章系统地介绍了生物样本的采集、包装、运输、制备和贮存技术;第六章至第九章着重叙述了生物杀虫剂的实验技术和实验安全;最后六章分类阐述了几种病原体的性状、侵袭病媒体的寄生物特点以及生物杀虫剂的应用研究等等。可以说,本书的问世标志着国内媒介生物防治的

研究与应用取得了新的进展。

《媒介生物防治技术》的主要作者是南京军区军事医学研究所的钱万红副研究员和张应阁高级实验师。他们长期从事媒介生物防治的研究,硕果累累,成绩卓著,且同是政府特殊津贴获得者。

由于生物技术是一种发展中的新兴技术,同时,也由于作者研究水平有限,书中还存在着这样那样的不足之处,希望得到广大读者的批评和指正。

最后,希望本书的出版能给国内同行带来有益的帮助,并祝愿我国媒介生物防治的研究和应用拥有一个灿烂的明天!

作者

1997年2月于南京

的环境中认识一些新的病媒病原生物并对其进行深入研究。如何识别一些有意义且尚待确认的病媒病原生物呢？这与人类的健康卫生颇为相似。某些疾病病原体能在一些人群中较长时间和平共处；某些疾病病原体却是迅速地致人感染并流行传播，然后快速地消失；第三类疾病在正常情况下并不存在于人体内，而是通过自然宿主传入人体并保持其活力的。病媒病原生物也是这样。人们可在一些生物群体中找到第一类病媒病原生物；第二类较为罕见且持续时间短，是一种非常有效的生物传染病；第三类是从完全不同的寄生物和生境中传入病媒种群的疾病，如果没有人类介入，它们可能永远不会与寄生宿主接触。第二类病原生物远较第一类病原生物有利用价值，它们有可能被应用于控制病媒生物的措施中。第三类病媒病原体具有完全不同的价值，为确定这类病媒病原体的有效性需建立生物模型，这是开展病媒病原生物体研究工作的一个重要部分。

上述三类病媒病原生物的鉴定，向我们揭示了应当到何处去寻找各类标本。第一类存在于野外不同种群内受到感染的生物体中，因此我们只需采集一些活的生物，找出其中受感染的生物。第二类要求我们在野外扎扎实实地观察各种种群，对种群内有明显破坏作用和很强生存能力的易感病原生物使受感染病媒生物致死现象进行鉴定和评价。当然，我们也可在目标以外的寄生物中寻找它们。第三类不按目标种群或目标生境的限制范围进行研究，在各种寄生物和生境中都能找到尚待确认的病原生物体，但必须在实验室内测定它们对病媒模型的活力。在寻找新的病原生物时，实验室模型对于研究那些尚待确认的病原生物是至关重要的。通过实验室模型，我们可在定性和定量的基础上进行比较研究，很多情况下可在一

种生物混合群中找出具有活力的病原体。如用其他方法筛选,则步骤更为复杂。在寻找新的尚待确认的病原生物时,必须避免一切污染,例如曾使用过的采集物品或被带进实验室的污染物等。通常,寻找新的病原生物时必须重视用培养法浓缩得到的每一种分离物。发现具有潜在毒性和致病性的病原生物时,应按照微生物实验室工作规范加以观察和研究。

第二章

野生生物体的采集

寄生于各种病媒体中有待鉴定的病原体在野外随处可见。由于病原体存在于不同的媒介种群中,它们可以季节性引起各种病媒体传染病的爆发,如各种生物流行病等;也可以存在于同一地区的某些生物体中,使其具有传染性。但是,它们不会在自然条件下直接感染敏感宿主。由于病原体有着不同的栖息场所,因此调查方法也就有所区别。

2.1 媒介种群中病原体的调查

在各种生物种群中都存在着感染上某些传染病的单体。通常这些传染病是慢性病,侵袭力不强,不易通过接触而使传染蔓延。当这些传染病出现典型症状时,它们就对昆虫的某一龄期具有特异性,参与降低昆虫种群的密度。不同媒介群体孵化数的减少情况是不同的,此种损失因虫龄而异。蜕皮幼虫的准确统计数是一个狭窄的范围,该范围内任何过高的死亡率都意味着是高效病原体所致,是自然因素所致,是不以人的意志和生物因素为转移的。但是,人类可以模拟和控制这些与密度有关的因素。

为了在某一种群中发现病原生物,需要一个相当大的群体。先在显微镜下检查群体中个体颜色、大小和形状的异同,以及生理状况的异同。然后在实验室内饲养一些生物,经过一段时间病原生物就会出现。某些传染病常集中在自然界的某个地点。该地的某一寄主可能出现很高的发病率,而该聚集地以外的种群不受感染。如与高发病区发生联系,则传染病可在整个易感种群中蔓延。每种特定的生物环境都有其主要的传染病,后者能在特异性宿主中或生物环境的特定发育期内传播。因此,必须观察各种不同的生物环境。

2.1.1 静水生境

短暂性的水域小生境和长期性的水域小生境,这两者的发展情况是不同的。在长期性的水域小生境中,如某个水池、水塘或水库,全年都有充足的水满足各种生物发育所需。在深

水中,鱼类和两栖类生物可将生活在水中的整个蚊虫种群摧毁。只有在沿岸植物体上生长的生物或在漂浮的菲藻和其他藻类的微生境中生长的生物才能生存下来。开阔水域是浮游性甲壳类生物的生境。在甲壳生物体内,人们可发现处于各个发育阶段的链壶菌、雕蚀菌和某些原生物的个体。受雕蚀菌感染的绕足亚纲通常呈砖红色或黄色,其内部起初是呈不规则形状的球状或叶状寄生物,干涂片上的原生质中有很多核。数天以后,绕足亚纲体内充满带鞭毛的无定形生物。寄主死亡后,这些游动孢子离散。它们离开寄主的尸体,迅速地到处移动以寻找适合的寄主。寄生于绕足亚纲阶段和寄生于孑孓体内阶段之间有一个滞育期。库蚊的卵筏经常与雌蚊的遗体一起在水面上漂浮,它们会被虫霉(通常是库蚊虫霉)感染。漂浮的生物尸体聚集在水坝的石块和水生植物上,人们可在这些地方采集到它们。可用一张滤纸从下部将它们取出水面,小心转移到一个小瓶中(不要接触瓶壁),将它们放在培养基上培养。

菲藻的表面有疟蚊的幼虫,密集的非藻上有曼蚊属的幼虫。要用网来采集,并在筛上用水清洗。将幼虫浓集在筛上,转至烧瓶中以便运输。某些被感染的幼虫呈白色或黄色,在装有黑碳纸的培养皿中易于辨认。带有白色胞囊的幼虫,可用吸管将其转移到另外的小瓶中,以便运输。很多蚊子的幼虫浓集在池塘浅水处的植被上。像研究疟蚊那样,这些孑孓可收集在有柄勺或浅盘中。黑色背景下,在采集运送以前将具有白色胞囊的孑孓(被感染的)从其他孑孓中分离出来,这是很重要的。因为,一旦发现使人感兴趣的有用的幼虫,就不要将它们丢失。一般来说,被感染的生物抵抗力较弱,在运送过程中它们首先死亡。在准备运送的各种类型的生物中,必须将死亡的生

物除去。这些生物尸体可能将所有的氧气都消耗掉,并释放出有毒物质和细菌。还必须将毛翅目和鞘翅目的食肉性幼虫、甲壳类生物、涡虫属等除去,因为在运输过程中它们会袭击子孓了。

在永久性静水中,个别占优势的生物(浮游藻类、硅藻科、轮虫类密集的种群、绕足亚纲和枝角目)一年中有其发育周期。深水一年有两个时期停滞不流动,即夏季和冬季;有两个时期流动,即春季和秋季。春秋两季上部水温和底部水温相同。流动时,对流水将病原体的孢子从底部带至整个水体,雕刻菌属、链壶菌属及其他真菌、微孢子纲和索线虫都能使宿主感染。在停滞期,不同温度的水层中浮游生物彼此不流动。所以,各种病原体每年按一定规律重复出现于水生境中。如果知道在某处采集到某种生物的时间,则第二年相同时期在该处可再次采集到这种生物。热带地区的自然条件不同于亚热带和温带地区的自然条件。热带地区的大雨破坏了旱季平静的发展过程,降雨的周期性引发了水生生物疾病的周期性发生。大雨使生境中的生物群得到稀释,在大洪涝地区难以找到合适的条件。在较小的地点即缩小的生境中,宿主和寄生物之间的相互作用很显著,寻找所需的生物变得比较容易。

生长芦苇和其他植物的沿岸地区对子孓有保护作用,是最好的采集地。在捕捞或搅动生境以前,宜先观察一下生境中的生物。在正常的幼虫群中,容易用肉眼看出受感染的幼虫。它们形体较大,运动缓慢。生境被搅动后,它们最后出现在水面上。进行初步观察以后,用有柄勺、浮游生物捕捞网或筛进行采集,并将采集物置于碟中以供检验。在黑色背景下,被感染的幼虫颜色异常,凭肉眼易于认出。用粗口吸管将它们移至别的容器内。蚊的幼虫与水接触、蛹蜕皮羽化以及成虫产卵,

这些都是易受真菌感染的时期,能导致死亡。某些被感染的幼虫藏匿于水底的植物残留物中。在某处采集完毕后,最好将沉积物搅成漩涡,用捕捞网收集样品,检查其中是否有活的子孓。如果幼虫胸部的圈纹中存在索线虫,则可在腐殖泥中寻找带圈纹的索线虫。将底部死亡的子孓拣出来,在滤纸条上干燥,以供进一步研究。

在热带的某些地区,可在森林中发现一些暂时性水池,池底有很多树叶。在温带地区,这种情况更多。春季雨水泛滥时雨水注入池中,树叶密盖池底,密度很高的伊蚊种群有规律地出现在该处。与北部地区冻土地带春雪融化后的水池相似,幼虫以分解树叶的微生物为生,许多幼虫藏匿于树叶沉积物内。对没有受到干扰的种群进行检查,可发现许多受到感染的幼虫:慢慢移动的绿色或红色的肿胀幼虫,带有闪光病毒;黄色或乳白色的幼虫,带有雕蚀菌或链壶菌;像索线虫带有白色圈纹的以及在胸腹部带有白色胞囊的,是小孢子虫感染的幼虫。茶叶滤器是采集这些幼虫的最好工具。将采集到的幼虫放在带水的盘内,用吸管挑出被感染的幼虫。在水池中,随着生物种群的发展,受感染的生物数不断增加。健康的幼虫先化蛹,剩下的幼虫大部分是受感染的。人类生境周围的水池、水坑或快要干涸的灌溉渠中,也能看到同样的情况。如前所述,必须将收集到的样品中的食虫生物除尽,然后才能送往实验室。

有食蚊鱼的水池要采取专门方法。雨季,食蚊鱼遍布不断涨水的深潭中。这些深潭往后形成零星的水池。首先必须确证这种鱼的存在,然后将有关样品送往实验室评定,并与没有食蚊鱼的水池比较,观察野外食蚊鱼对蚊虫种群的影响。在广泛分布吞食幼虫的鱼地区,应寻找没有这种鱼的水池,研究普通蚊虫有病种群中的病原生物体。

含有有机质的水坑,带有生物遗体的水池、草地和粪坑,都是专门的采样点。大部分孑孓不显病症。在这些生境中,细菌感染可能起着与众不同的作用,存在于底部死亡的或受损害的幼虫可能含有有价值的病原生物体。

小型静水生境,如游泳池、花园中装饰性栽培植物的水泥池等,常有被严重感染的孑孓。在凤梨科等植物中,孑孓的感染不常见。有洞的树是非常特殊的小生境,和花园中的容器相似。幼虫和绕足亚纲系统有规律地传播雕蚀菌属,典型的是簇虫、蚊兰克氏原虫、考勒簇虫以及其他病原体。带有真菌的死亡成虫可在水边的洞穴内找到。蚊虫将其体内的病原体带到各处,产卵期间甚至会使暂时生境发生感染。干旱季节,研究者曾在河边水塘中一个有 500 毫升水的石洞里,收集到被雷氏泰罗汉孢虫感染的五斑按蚊。固定性小生境中反复出现一系列感染,这是正常现象。因为底部的腐殖泥土中含有不少孢子,生物下一季度发育时会被再度感染。

在流动的水中,被感染的小螺也可用同样方法调查。在形态上,疾病和感染并不很明显,必须在实验室内加以确定。在植物体或石块上的小螺卵块上找出白色的或混浊的未孵化的卵,这点很重要。存在着大量小螺的小水池适于普查。池底活着的和死亡的小螺应在实验室内解剖,或将两种样品在实验室内饲养一段时间,并将残存物收集起来。

2.1.2 流动水生境

流动水中的孑孓仅存在于水流缓慢地区或岸边的植物上,如睡莲、凤眼兰等漂浮植物的小生境,河池干涸期间的低洼处,有机质含量很低的砂土坑等。在流动水中采集生物样品,所需条件以及寻找方法和静水相同。改变了的热带河流的

自然条件,雨季流量多、水位高的河流,干旱季节的干水坑等,一起构成适于蚊虫和墨蚊普通病原体感染的条件,而蚊虫和墨蚊则是流动水生境的主要研究对象。

墨蚊产的卵沉积于植株上,也沉积于河流中的石块和建筑物上,许多卵块常常聚集在一起。在春季和夏季河水泛滥时,大河中的墨蚊卵块很多。寻找病原体时,重要的是检查卵块,找出未孵化的卵以及这些卵不能孵化的原因。在卵块的边缘可发现感染的真菌(主要是虫霉)。卵孵化时,幼虫顺流漂浮,形成一个混合种群。该种群分布在石块上和植物的遗体上,在水面上分布的较少。如果种群的密度很高,则整个河床覆盖着多层幼虫。罕见的墨蚊幼虫可在河流清水下面的石块上寻找。将覆盖幼虫的石块或树枝放在白色搪瓷盘中,在解剖显微镜下检查幼虫。将值得采集的标本放在冲洗照片用的黑色浅盘内,受感染的幼虫在盘中易被肉眼看出,白色的胞囊有时会使受感染的幼虫腹部变形。小孢子虫目的胞囊呈白色或奶油色;感染小孢子的胞囊呈微红色;感染蛭腔菌孢虫的幼虫呈奶白色,内部有许多球形菌体;带有闪光病毒的幼虫呈紫色;中肠细胞质感染多角体病毒的幼虫,其体躯中部中肠呈白色。体内含有寄生性索线虫的幼虫,虫体内有纵向圈纹。墨蚊的幼虫必须放在冰盒中运输,最好用装有冰的冰瓶。只有个别分离出来的幼虫可在水中运输。大部分幼虫必须放在用水浸泡过的滤纸上,或放在用喷水器洒湿的菲藻上。在实验室内,将幼虫置于4℃冰箱中,或放在盛自来水的量筒中,并用水管通气。

将带有墨蚊蛹的树枝或石块装在没有水的塑料袋内,在实验室内则可将它们贮存于玻璃瓶内或充满空气的塑料袋内,并用橡皮带密封。正在孵化的幼虫密集于物体壁上,可用