

三株苏芸金杆菌的鉴定*

朱呈智 赵彤言 任改新

(南开大学生物系,天津)

利用苏芸金杆菌鞭毛抗原(H抗原)的血清学反应及生理生化反应对三株苏芸金杆菌 Tt-1、Tt-4 及 Tt-5 进行了分类研究,结果表明它们分别属于血清型 H₁₀、H₁₃、H₂₁, 其亚种名称为达姆斯达特亚种 (*Bacillus thuringiensis* subsp. *darmstadiensis*)、巴基斯坦亚种 (*B. thuringiensis* subsp. *pakistani*) 和科尔莫亚种 (*B. thuringiensis* subsp. *colmeri*), 均为国内首次报道。

材料和方法

(一) 菌株

标准菌株共 28 株, 其中 H₁₅、H₁₈、H₁₉ 及 H₂₁ 的标准菌株由中国科学院动物所王瑛提供, H₂₀ 的标准菌株由云南省动物所王婉瑜提供, 其余为本组保存。

待鉴定菌株 Tt-1 为 1984 年从土壤中分离, Tt-4 及 Tt-5 为 1982 年从亚洲玉米螟 (*Ostrinia furnacalis*) 死亡幼虫中分离。

(二) 形态观察、生理生化反应及血清学试验

形态观察用相差显微镜, 生理生化反应及血清学试验按常规方法进行^[1,2]。

(三) 对几种鳞翅目及双翅目昆虫幼虫的毒性试验

试验昆虫为亚洲玉米螟、白纹伊蚊 (*Aedes albopictus*)、尖音库蚊淡色变种 (*Culex pipiens pallens*) 和三代喙库蚊 (*C. tritaeniorhynchus*) 的 3 龄幼虫。

试验结果

(一) 形态

这三株菌具有苏芸金杆菌的典型形态特征: 菌体杆状, 有鞭毛, 形成芽孢时孢子囊不膨大, 产生伴孢晶体。Tt-4 菌的伴孢晶体长菱

* 颜林、贾楠二位学生参加部分工作。

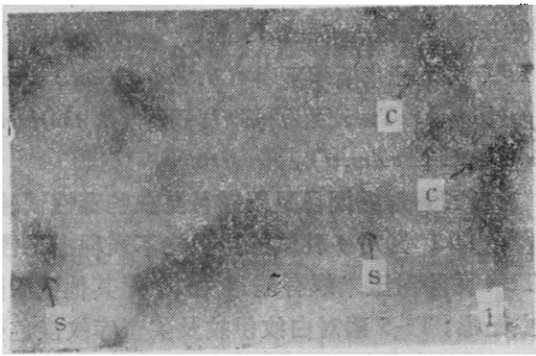


图1 Tt-4 菌的芽孢(S)和伴孢晶体(C), 4000×

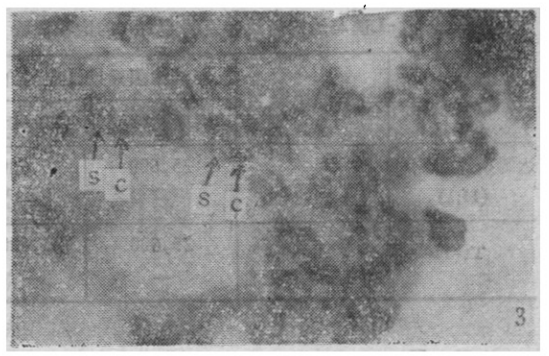


图3 Tt-1 菌的芽孢(S)和伴孢晶体(C), 培养10天, 4000×

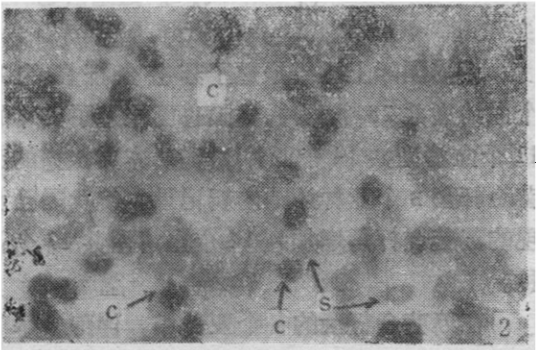


图2 Tt-5 菌的芽孢(S)和伴孢晶体(C), 4000×

形; Tt-5 菌的伴孢晶体为大菱形及椭圆形; Tt-1 菌的伴孢晶体比较特殊, 它与芽孢连在一

起不易分开, 此点与标准菌株不同 (见图1—3)。

(二) 生理生化反应(见表1)

从表1可以看出, Tt-4 与其标准菌株的生理生化反应完全相同; Tt-5 在蔗糖反应上与其标准菌株不同; Tt-1 在卵磷脂酶及蔗糖两项反应上与其标准菌株不同。

(三) 血清学反应

1. 按照 De Barjac^[2] 的方法用 Tt-1、Tt-4 及 Tt-5 分别与28个标准抗血清(H₁₋₂₈) 进行初步血清学凝集试验, 发现 Tt-1 与 H₁₀ 抗血

表1 三菌株与相应标准菌株的生理生化反应比较

项 目 菌 株	V-P 反应	卵磷酯酶	水杨苷	水解蛋白	色素	蔗糖	菌膜	脲酶	七叶灵	甘露糖	水解淀粉	纤维二糖
Tt-1	+	+(—)	—	+	—	+(—)	—	—	+	—	+	—
Tt-4	+	+	+	+	—	+	+	—	+	—	+	+
Tt-5	+	+	+	+	—	—(+)	—	+	+	—	+	—

注: (—) 为标准菌株的反应结果。

表2 三菌株鞭毛抗原与相应标准抗血清凝集反应效价

抗血清		达姆斯达特亚种 (H ₁₀)	巴基斯坦亚种 (H ₁₂)	科尔莫亚种 (H ₁₁)
反应效价	标准效价	25,600	12,800	25,600
	抗原			
	Tt-1	25,600	—	—
	Tt-4	—	12,800	—
	Tt-5	—	—	25,600

表 3a Tt-1 菌与达姆斯达特亚种 (H_{10}) 的饱和试验

抗血清	吸收抗原	与试验菌凝集反应效价	
		达姆斯达特亚种	Tt-1
达姆斯达特亚种 (H_{10})	— Tt-1	25,600 —	25,600 —
Tt-1	— 达姆斯达特亚种	25,600 —	25,600 —

表 3b Tt-4 菌与巴基斯坦亚种 (H_{13}) 的饱和试验

抗血清	吸收抗原	与试验菌凝集反应效价	
		巴基斯坦亚种	Tt-4
巴基斯坦亚种 (H_{13})	— Tt-4	12,800 —	12,800 —
Tt-4	— 巴基斯坦亚种	12,800 —	12,800 —

表 3c Tt-5 菌与科尔莫亚种 (H_{21}) 的饱和试验

抗血清	吸收抗原	与试验菌凝集反应效价	
		科尔莫亚种	Tt-5
科尔莫亚种 (H_{21})	— Tt-5	25,600 —	25,600 —
Tt-5	— 科尔莫亚种	12,800 —	12,800 —

清、Tt-4 与 H_{13} 抗血清、Tt-5 与 H_{21} 抗血清发生凝集反应。然后进一步测定凝集反应效价,结果见表 2。

从表 2 可以看出: Tt-1 属于 H_{10} , Tt-4 属于 H_{13} , Tt-5 属于 H_{21} 。

2. 饱和试验结果(见表 3a—b)

通过表 3a—b 可以看出, 标准抗血清 H_{10} 、 H_{13} 及 H_{21} 分别被 Tt-1、Tt-4 及 Tt-5 菌的鞭毛抗原饱和后, 不再与标准菌株的鞭毛抗原发生凝集反应; 同样当 Tt-1、Tt-4 及 Tt-5 菌的抗血清被相应的标准菌株的鞭毛抗原饱和后, 也不再与其本身的鞭毛抗原起反应。说明三株待鉴定菌与其相应的标准菌株具有完全相同的鞭毛抗原因子。因此 Tt-1 菌为达姆斯达特亚种

(*Bacillus thuringiensis* subsp. *darmstadiensis*), Tt-4 菌为巴基斯坦亚种 (*B. thuringiensis* subsp. *pakistani*), Tt-5 菌为科尔莫亚种 (*B. thuringiensis* subsp. *colmeri*)。

(四) 对鳞翅目及双翅目昆虫的毒性试验

Tt-1 菌对 4 种试验昆虫均不表现出毒性; Tt-4 菌除对玉米螟有弱毒性外, 对其他试验昆虫无毒; Tt-5 菌对白纹伊蚊及尖音库蚊淡色变种无毒, 但对玉米螟及三代喙库蚊有一定毒性。

讨 论

目前国际上已经报道了苏芸金杆菌的 21 个血清型共 28 个亚种, 我国也已报道了其中的 11 个血清型共 14 个亚种^[3-10]。本文报道的苏芸金杆菌 3 个亚种为国内新记录, 使我国已发现的苏芸金杆菌增加到 14 个血清型共 17 个亚种。

在苏芸金杆菌的各个亚种中, 伴孢晶体与芽孢连在一起而不分离的现象并不多见。Heimle 等^[11]及吴凤雅等^[5]曾报道过幕虫亚种 (*Bacillus thuringiensis* subsp. *finitimus*) 的菌株具有这一特征, 而且这些菌株都是从昆虫中分离的, 在其他亚种中尚少报道。本文报道的 Tt-1 菌是从土壤中分离的, 属达姆斯达特亚种。表明具有这一特征的菌株并不限于幕虫亚种。

参 考 文 献

[1] Norris, J.R.: *J. Appl. Bact.* 27(3):439—447, 1964.
[2] De Barjac, H.: *Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970—1980*, Edited by Burges, H. D. 1981 p.35—44.
[3] 任改新等: *微生物学报*, 15(4): 292—301, 1975.
[4] 湖北省天门县微生物研究所等: *微生物学报*, 20(1): 1—5, 1980.
[5] 吴凤雅等: *微生物学通报*, 8(3): 101—102, 1981.
[6] 王婉瑜等: *微生物学报*, 19(2): 117—121, 1979.
[7] 喻子牛等: *微生物学报*, 24(2): 117—121, 1984.
[8] 张 益等: *微生物学通报*, 10(1): 1—3, 1983.
[9] 王 瑛等: *微生物学通报*, 11(6): 244—246, 1984.
[10] 张用梅等: *自然杂志*, 7(5): 394—395, 1984.
[11] Heimle, A.M., Angus, T.A.: *Canad. J. Microbiol.* 4:531—541, 1958.