

苏芸金杆菌以色列变种灭蚊的有效成份

徐启丰 翟建庄 朱有南

(武汉军区军事医学研究所, 武汉)

苏芸金杆菌以色列变种 (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*) 对双翅目的蚊幼虫具有较高的毒杀力, 而对鳞翅目昆虫无效^[1-4]。为探讨其毒杀机理及其与其它苏芸金杆菌的差异, 我们做了如下一些试验。

一、菌液上清液与沉淀物的毒效比较

苏芸金杆菌以色列变种 1897 菌株(引自中国科学院动物研究所), 以含糖肉汤培养基摇瓶培养, 将培养 24 及 48 小时的菌液, 离心 (3000 转/分) 20 分钟, 分出上清液及沉淀物。上清液用

脱氯自来水稀释 500 倍, 沉淀物用灭菌盐水补足到离心前体积后再稀释 1,000 倍, 以未经离心的培养菌液作对照, 分别以淡色库蚊 (*C. pipiens pallens*) 幼虫做毒力测定, 每处理 50 头。24 小时后检查毒效, 上清液、沉淀物、对照菌液的致死率分别为 0、100、100。说明毒效成分不在上清液中。

二、加热对毒效的影响

将培养 24 及 48 小时的菌液, 分别以不同温度处理, 然后用脱氯自来水稀释 1,000 倍, 以

表 1 菌液加热处理对毒效的影响

菌液培养时间 (小时)	处 理 条 件	幼虫死亡率 (%)	细菌培养结果
24	不 处 理	100	++
	65℃, 1 小时	100	+
	65℃, 5 小时	100	-
	100℃, 1 分钟	0	-
48	不 处 理	100	++
	65℃, 1 小时	100	++
	65℃, 12 小时	100	++
	100℃, 3 分钟	0	-

蚊幼虫做毒效试验,同时将各处理菌液涂平板培养。

从表 1 可看出,24 小时培养液经 65℃ 加热处理后,细菌虽可被杀死而毒力不减。48 小时的培养液因已充分形成芽孢,65℃ 不能杀死芽孢。这表明毒效成分可能是晶体,而非菌体或芽孢。同时也表明,毒效成分不耐高温煮沸。

三、福尔马林处理对毒效的影响

将福尔马林加入培养 48 小时的菌液中,使其浓度达到 0.25% 及 2%,一定时间后以脱氯自来水稀释 1,000 倍,各处理 50 头蚊幼虫,24 小时后观察死亡情况,并将各处理菌液做细菌培养,结果见表 2。

表 2 福尔马林处理对毒效的影响

福尔马林浓度 (%)	处理时间 (小时)	幼虫死亡率 (%)	细菌培养结果
0.25	1/4	100	++
0.25	24	62	-
2	1/4	42	+
2	24	5	-

上述结果说明高浓度福尔马林不仅杀死芽孢也使毒力降低,而低浓度福尔马林虽杀死全部芽孢却较小影响毒力。这证明毒效物质不是芽孢而可能存在于晶体中。

四、紫外线及日光的影响

将武汉市微生物农药厂试制的菌粉(按青虫菌制剂的工业生产方法生产,以碳酸钙为填充剂),摊薄层于平皿中,分别放在无菌室中 40 瓦紫外线灯下 1 米处及室外日光下(6-7 月)

曝晒,每天照晒 8-10 小时,逐日取被处理的菌粉作杀蚊试验及细菌培养试验。经日光及紫外线照射 7 日后,毒力被破坏,但芽孢未完全杀死(表 3),可说明毒力主要在于晶体。据报道,苏芸金杆菌芽孢暴露于紫外线下 10 分钟即有 99% 失活,阳光照射 60 分钟 90% 失活。我们的试验结果与此不太一致,可能是由于试验用菌粉含大量填充剂之故。

表 3 紫外线、日光照射菌粉对毒力的影响

照射时间 (日)	幼虫死亡率(%)		细菌培养结果	
	紫外线照射	日光曝晒	紫外线照射	日光曝晒
0	95	95	++	++
1	90	95	++	++
2	90	95	++	++
3	90	65	++	++
4	95	25	++	++
5	75	30	++	++
6	30	5	++	++
7	0	0	++	++

五、芽孢、晶体分别毒力测试

为进一步确定毒效成分究竟是晶体还是芽孢,做了如下试验。

纯晶体的获得:将在固体培养基上生长 7 天的菌苔刮下,加入等量的无菌生理盐水和氯化仿,在组织捣碎器中,以 8,000/分的速度搅拌 3 分钟,在分液漏斗中分层,取水反复离心清洗,得晶体悬液。晶体悬液纯度为 98%,浓度为 24.8 亿个/毫升。

芽孢的获得:将培养 7 天的菌苔加入到 0.1N 氢氧化钠溶液中,以每分钟 8,000 转的速度搅拌 3 分钟,静置 12 小时,然后用灭菌生理盐水反复离心清洗,直至 pH 为中性。此法获得的芽孢纯度为 99.83%,每毫升含 52.2 亿个。

将上述晶体和芽孢悬液分别用脱氯自来水稀释后,测定杀虫效果,重复三次。结果表明苏芸金杆菌以色列变种对蚊幼虫的毒效物质是晶体而不是芽孢(表 4)。

六、讨论

苏芸金杆菌对敏感昆虫的毒性成份主要是伴孢晶体,有些变种还有耐热性外毒素等。苏

表4 晶体和芽孢对蚊幼虫的毒效测定

晶 体 悬 液			芽 孢 悬 液		
稀释倍数	晶体含量 (万/毫升)	蚊幼虫死 亡率(%)	稀释倍数	芽孢含量 (万/毫升)	幼虫死亡 率(%)
1,000	248	100	1,000	522	0
10,000	24.8	100	10,000	52.2	0
100,000	2.48	96.7			

芸金杆菌以色列变种对鳞翅目幼虫无毒性而只对蚊幼虫有很高的毒性,其毒效物质有无特殊性是使人感兴趣的问题。我们通过上述试验证明该变种不产生耐热性外毒素,其毒性物质主要是伴孢晶体。

一般认为,不同种类的鳞翅目幼虫对苏芸金杆菌染病的反应不同,可分为四个类型^[5]。试

验中观察到蚊幼虫接触苏芸金杆菌以色列变种后,在几个小时内即发生中毒,浓度高时只要几十分钟,幼虫麻痹致死。这种毒性反应与家蚕类似,即蚊幼虫吞食晶体毒素后,引起中肠功能失常,肠液渗入胸腔,引起全身中毒麻痹而死。

参 考 文 献

- [1] Barjac, H. de: *C. R. Acad. Sci. Paris*, 286D: 797—800, 1978.
- [2] Barjac, H. de: *C. R. Acad. Sci. Paris*, 286D: 1175—1178, 1978.
- [3] Barjac, H. de and J. Coz: *Bull. WHO*, 57: 139—141, 1979.
- [4] Goldberg, L. J. and J. Margalit: *Mosquito news*, 37: 355—358, 1977.
- [5] Barjac, H. de: *C. R. Acad. Sci. Paris*, 286D: 1629—1632, 1978.