

在不同昆虫体内连续传代对苏芸金杆菌晶体形成的影响*

吴 继 星

(湖北省天门县微生物研究所)

苏芸金杆菌“7216”菌株在人工培养基上连续转接,会产生衰退现象。产晶体的苏芸金杆菌,衰退主要表现在晶体的变化上,严重者会使晶体消失。幸兴球^[1]等发现将6个菌株连续通过粘虫虫体转接后,晶体大小发生变化,并使其最后失去产生晶体的能力。但从中却分离到一个对粘虫毒力较强的菌株。我们用相似的方法,将7216菌株连续通过几种昆虫体进行传代,并从棉卷叶螟尸体中分离到一个对棉铃虫、斜纹夜蛾毒力较强的 m₉ 菌株。现报道如下。

材 料 和 方 法

1. 菌株: “7216”原始菌株由本所于1972年分离, HD-1_(A) 菌株由湖南省微生物研究所引入,经过单菌落分离。

2. 供试昆虫: 棉卷叶螟; 棉红铃虫; 棉铃虫; 鼎点金刚钻; 斜纹夜蛾; 棉小造桥虫; 菜青虫。

* 本文经幸兴球同志审阅。

3. 斜面培养基(%)：牛肉膏 0.5，蛋白胨 1.0，琼脂 2.0。

4. 液体摇瓶培养基(%)：玉米粉 1.7，黄豆饼粉 1.9，棉子饼粉 0.5，蚕蛹粉 0.2，CaCO₃ 0.1。

5. 虫体传代方法：采集健康幼虫，制备均匀的菌体悬液。感染时用镊子轻轻夹住幼虫前胸部，浸入悬液中 5 秒，取出迅速置于吸水纸上，吸干虫体体表的菌液，然后每套培养皿内放入 5 头幼虫（棉铃虫用养虫管分头饲养），加入新鲜饲料，30℃ 保温饲养。饲养 24 h 不死亡者经 75% 酒精表面灭菌，再投入 100℃ 水中致死，取出放入备有滤纸的培养皿中（培养皿内需无菌水湿棉球保湿）。幼虫死后 24 h 取虫尸体中段体液进行菌株分离，分离的菌在斜面上培养到芽孢晶体全部脱落时，再用千分之一的洗衣粉溶液配成悬液，作下次试验的感染材料。在 24、48、72 h 取虫尸中段体液镜检，观察其菌体、芽孢和晶体形成情况，对照用千分之一的洗衣粉溶液处理。

6. 毒力测定：采用摇床振荡培养菌液。500 ml 三角瓶装液量 50ml，1.1 kg/cm²，灭菌 30 分钟。接种后于 30—32℃ 恒温振荡培养到芽孢，晶体全部脱落。

棉铃虫试验采用从田间枝把收蛾，室内产卵、孵化。用千分之一的洗衣粉溶液将摇瓶液稀释至每 ml 含 1.6 亿孢子。田间采回未施药剂的新鲜嫩棉叶剪成小块浸入菌悬液中，取出晾干，每管放入晾干棉叶及 5 头初孵幼虫，30℃ 保温（饲养过程中注意湿度）。在 24、48、72 h 调查死虫数、计算死亡率。对照用千分之一的洗衣粉溶液浸过的嫩棉叶饲喂幼虫。

斜纹夜蛾试验采用野外蓖麻叶上采回卵块，室内孵化。培养皿内放初孵幼虫 20 头，感染材料为蓖麻叶，处理浓度为 1.5 亿孢子/ml。

棉卷叶螟试验采用从寄主植物木槿叶上采回四龄左右健康幼虫，感染饲料为木槿叶，处理浓度为 0.5 亿孢子/ml。

结 果

一、7216 菌株在虫体中形成芽孢和晶体的情况

在四次重复试验中，除在菜青虫虫体内不形成芽孢，晶体外，7216 菌株在其他几种昆虫体内可形成芽孢和晶体。其形成时间，从致死幼虫后培养计算，一般在 48 h 以内。其中在棉卷叶螟幼虫体内，芽孢和晶体形成迅速，从感染开始到形成芽孢和晶体，只需 40 h 左右，晶体大

表 1 “7216”菌株通过昆虫幼虫虫体传代后芽孢和晶体形成情况*

昆虫种类 传代次数	棉卷叶螟 (采自苘麻)	棉卷叶螟 (采自木槿)	棉铃虫	红铃虫	金刚钻	斜纹夜蛾	棉小造桥虫	菜青虫
1	S+C+	S+C+	S+C+	S+C+	S+C+	S+C+	S+C+	S-C-
2	S+C+	S+C+	S+C+	S+C+	S+C-	S+C+	S+C+	S-C-
3	S+C+	S+C+	S+C+	S+C+		S+C+	污染	
4	S+C+	S+C-	S+C+	S+C+		S+C+		
5	S+C+	S+C-	S+C+	S+C+		S+C+		
6	S+C+	S+C-	S+C+	S+C+		S+C+		
7	S+C+	S+C-	S+C+	S+C+		S+C-		
8	S+C+	S+C-	S+C+	S+C+		S+C-		
9	S+C+	S+C-	S+C+	S+C+				
10	S+C+	S+C-		S+C+				
	⋮			⋮				
	S+C+			S+C+				
	(26代)			(12代)				

* S+C+ 为产生芽孢和晶体； S+C- 为只产生芽孢不产生晶体； S-C- 为既不产生芽孢，也不产生晶体； S+C± 为产生芽孢，产生晶体结果不定。

表 2 几个菌株对不同昆虫毒力测定结果*

昆虫种类	试验菌株	试验次数	处理浓度	试验虫数	死亡虫数			死亡总虫数	死亡率(%)
					24h	48h	72h		
棉铃虫	7216 原	1	1.6亿/ml	20	11	6	0	17	85
		2	1.6亿/ml	20	10	6	2	18	90
	m ₉	1	1.6亿/ml	20	13	7	0	20	100
		2	1.6亿/ml	20	12	5	2	19	95
	HD-1 _(A)	1	1.6亿/ml	20	11	5	1	17	85
		2	1.6亿/ml	20	13	5	0	18	90
	木 ₇	1	1.6亿/ml	20	2	0	0	2	10
		2	1.6亿/ml	20	0	1	0	1	5
	对 照	1		20	0	0	0	0	0
		2		20	0	0	0	0	0
斜纹夜蛾	7216 _原	1	1.5亿/ml	60	16	3	0	19	32
		2	1.5亿/ml	40	13	0	0	13	32
	m ₉	1	1.5亿/ml	60	28	3	0	31	51.7
		2	1.5亿/ml	40	19	0	0	19	47.5
	HD-1 _(A)	1	1.5亿/ml	60	20	1	0	21	35
		2	1.5亿/ml	40	12	0	0	12	30
	对 照	1		20	0	0	0	0	0
		2		20	0	0	0	0	0
棉卷叶蛾 (采自木槿)	7216 _原	1	0.5亿/ml	40	35	2	1	38	95
		2	0.5亿/ml	40	35	4	0	39	97.5
	m ₀	1	0.5亿/ml	40	39	1	0	40	100
		2	0.5亿/ml	40	37	1	1	39	97.5
	HD-1 _(A)	1	0.5亿/ml	40	10	3	0	13	32.5
		2	0.5亿/ml	40	9	5	0	14	35
	木 ₇	1	0.5亿/ml	40	2	0	0	2	5
		2	0.5亿/ml	40	3	0	0	3	7.5
	对 照	1		20	0	0	0	0	0
		2		20	1	0	0	1	5

* 7216_原 为 7216 原始菌株; m₉ 为用 7216_原 经棉卷叶蛾(采自苘麻)传代 9 次分离的菌株; HD-1_(A) 为引自湖南省微生物研究所并进行单孢分离的菌株; 木₇ 为用 7216_原 经棉卷叶蛾(采自木槿)传代 7 次分离的菌株; 由于对照仅一次出现 5% 的死亡率,所有的死亡率均未加以校正。

且整齐一致,大多数呈不典型的圆菱形,经过 26 次虫体传代后,芽孢和晶体形成良好。而采自不同寄主植物(如木槿)的棉卷叶蛾虫,只经过

4 次虫体传代就失去了形成晶体的能力。7216 菌株在其他昆虫幼虫体内形成芽孢和晶体的情况见表 1。

试验还表明, 7216 菌株一旦在虫体中失去形成晶体的性能之后, 即使再进行虫体传代或转入牛肉膏、蛋白胨琼脂斜面上培养, 也不再产生晶体, 只能形成芽孢。我们将 7216 菌株用采自木槿的棉卷叶螟从第 4 次到第 10 次试验传代, 均不产生晶体。

二、毒力测定结果

采用“虫体复壮法”的目的, 是为了保持或提高 7216 菌株的毒力。经虫体传代而得到的菌株 m_9 、木 7 与 7216 原始菌株和 HD-1_(A), 进行毒力测定的结果表明, m_9 对供试的三种昆虫的毒力均较强, 尤其是对斜纹夜蛾初孵的幼虫毒力分别达 51.7% 和 47.5%; 7216 原始菌株和 HD-1_(A) 的毒力均较稳定; 而木 7 (通过传代后晶体消失的菌株) 几乎无毒力。不同菌株对不同昆虫的毒力测定结果见表 2。

讨 论

苏芸金杆菌现已广泛应用于生物防治。研

究表明, 此菌对害虫 (主要是鳞翅目害虫) 的毒杀力主要是晶体内毒素的作用。但晶体内毒素是不稳定的。所以在菌种的保藏、选育和工业生产中都要注意晶体形成的情况。我们的工作表明, 一旦细菌失去形成晶体的能力, 也就失去了对昆虫的毒力, 而且不易恢复。但可通过昆虫移接即“虫体复壮”的方法来恢复毒力, 还可能筛选出高毒力的菌株。当然也不是任何昆虫都可用于“复壮”, 要选择合适的昆虫种类。我们认为菜青虫不宜作为 7216 菌株的“复壮”昆虫。同时, 即使选择同一昆虫, 对昆虫的食物也需研究, 说明产生晶体的能力与食料有一定的相关性。

参 考 文 献

- [1] 辛兴球等: 昆虫学报 22(2): 206—209, 1979。