

苏芸金杆菌在美国

严绍良 谢天健

(湖北省农业科学院植物保护研究所, 武昌)

笔者不久前曾被中华人民共和国农业部派遣到美国考察苏芸金杆菌的生产和应用情况, 后来又与来华的美国微生物防治考察团进行过技术交流。现将有关资料摘要介绍, 供参考。

近年来, 美国利用昆虫病原微生物防治农林害虫的工作有较大发展。如 1975 年, 以棉铃虫核多角体为活性成分的病毒制剂 “elcar” 投产, 1980 年以多毛菌为活性成分的真菌制剂 “Mycar” 投产。尽管品种增多了, 但从生产规模和使用范围看, 当前美国微生物农药中仍以苏芸金杆菌为主, 它甚至在整个农药中也占有一定地位。据美国研究苏芸金杆菌的权威 Dulmage 估计, 1976 年美国苏芸金杆菌制剂的产量是 200 万磅, 1979 年为 400 万磅, 1980 年达 800 万磅。同时, 一些专家认为, 筛选昆虫病原真菌和病毒时, 应着重于那些用苏芸金杆菌难以防治的害虫, 这也说明苏芸金杆菌在微生物农药中的优势地位。

苏芸金杆菌制剂在美国的发展并非一帆风顺。40 年代, 美国昆虫病理学家 Steinhaus 曾先后分离出苏芸金杆菌亚毒变种和杀虫变种, 1957 年美国太平洋酵母制剂公司 (Pacific Yeast Products) 开始生产苏芸金杆菌制剂 “Thricide”, 后来又有 Biotrol。但直到 60 年代末期, 它的发展都不顺利, 因为生产成本低, 防效不稳定。70 年代以后对该菌进行了全面研究, 在此基础上, 技术得到一系列突破, 才达到今天这样的成绩。成功的要素是: 使用优良菌种, 建立生物测定标准, 以及改进生产技术。现分述如下。

一、菌种

1967 年 Dulmage 从罹病红铃虫中分离出

HD-1 菌株, 该菌株的制剂比当时市售的苏芸金杆菌制剂毒效高 200 倍, 该菌株经鉴定, 定名为库斯塔克变种 (*Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*)。高毒效和性能适合工业生产, 使该菌株很快被用于工业生产, 为美国 70 年代苏芸金杆菌制剂的稳定发展奠定了基础。

不同变种具有不同的杀虫谱, 这一点在筛选时受到特别考虑。最成功的例子是以色列变种的分离。该变种对多种蚊有明显而快速的效果。美国对该变种的研究非常活跃, 1981 年美国无脊椎动物病理学年会上, 有关以色列变种的研究论文最多。

在致力于筛选苏芸金杆菌新变种的同时, 美国的研究工作者还进一步比较了同一变种中不同晶体型的杀虫谱。根据晶体型别对苏芸金杆菌进行分类的方法, 是加拿大生物化学家 Krywienczyk 首先提出的。这种分类法与传统方法所得结果基本一致。但也有例外, 如库斯塔克变种就有两种晶体类型 K-1 和 K-73。后来证明, K-1 型的晶体比 K-73 型的多一种蛋白质组分, 该组分对蚊有毒性。HD-1 菌株属于 K-1 型, 它产生的晶体呈镶嵌状, 母体蛋白质分子量为 13 万, 镶嵌体蛋白质分子量为 65000。K-1 和 K-73 对不同昆虫的相对毒力也不同。另外, 还发现苏芸金变种有 K-1 和 Th 两种晶体型, 它们对不同昆虫的相对毒力也不同。晶体型与杀虫谱的联系充分显示了晶体类型在分类学中的重要性。因此, 美国科学家强调, 描述苏芸金杆菌性状时, 必须包括它们所属的晶体型。

美国对苏芸金杆菌资源的收集, 鉴定和利用十分重视。为了提高筛选优良菌株的效率, 1974 年与英、法、荷、日等国建立了国际协作组,

对 319 株菌逐个进行了鉴定,并对 20 种目标昆虫作了毒效试验,这项工作已基本结束。通过广泛比较,发现对每一特定目标害虫,至少有一株菌毒效高于 HD-1。这项工作为生产不同作用对象的制剂提供了理论依据。

在遗传学方面,有人研究了苏芸金杆菌接受质粒的能力,并叙述过转导系统。

二、生物测定

早期美国用芽孢计数法检测产品质量,1972 年正式决定用生物测定法代替,以国际单位(IU)为单位。Dulmage 提供的 HD-1-S-1971 被认定为美国的国家标准品,与国际标准品 E-61 比较,前者的生物效价为 18000IU/mg。以此为标准,美国的厂商均采用统一方法,以粉纹夜蛾为试虫,与 HD-1-S-1971 相比定出商品的单位。1981 年起,改用 HD-1-S-1981 为标准品,活性成分为 16000IU/mg。

为了保证生物测定工作的正常进行,各单位都建立了具调温、调湿,并保持半无菌状态的养虫室。用人工饲料饲养试虫,按时提供一定数量的合格试虫。如 Columbia 实验室能按需要提供 15 种试虫。

为了尽可能准确地预测制剂的防治效果,测试时尽可能保持试虫和目标害虫的一致。如 Sandoz Inc. 生产 Teknar (以色列变种制剂)时用埃及伊蚊作供试虫,生产 certan 时用蜡螟作供试虫。Brownsville 实验室筛选防治棉铃虫有效菌时,便用棉铃虫作供试虫。

三、工业生产

有关苏芸金杆菌制剂的工业生产研究,主要由生产公司进行,完成后申请专利。美国生产该制剂有表面培养和深层发酵两种方式。表面培养法成本较低,1963 年 Mechales 取得专利。但此法易污染,质量不稳定,难以大规模生产,因此近年来美国都用后一方式。Bonnefoi, Megna, Drake 和 Smith, 以及 Shell International 等公司先后取得专利。

Abbott 实验室生产的制剂约占美国总产量

的三分之二,商品名为 dipel。据说该实验室生产的一种油乳剂,全部脱水,耐贮存,覆盖性好,宜用于林区。生产时用含固体物较多的培养基,有时中间补充碳源和氮源,发酵液含菌量为 40—80 亿/ml。Sandoz Inc. 加州工厂的产量仅次于 Abbott 实验室,制剂名称为 Thuricide。有可湿性粉剂、液剂、颗粒剂和普通粉剂。Brownsville 实验室用 10 升发酵罐研究表明,同一变种在不同培养基中,发酵液毒力不同,不同变种或菌株在同一培养基中,发酵液毒力也不同。还发现发酵液毒力高峰的出现,滞后于孢囊形成,因此将发酵周期控制在 40 小时左右。

美国对制剂剂型的研究也十分重视,除油乳剂外, Sandoz Inc. 生产的 Teknar 特别注意它在水上的漂浮性。美国制剂中普遍加了类似 Xylene 的石油制品,以改善悬浮性和稳定性。

目前 HD-1 是美国主要生产菌种,还有以蜡螟变种生产的 certan,用以防治蜡螟;以色列变种制剂 Teknar, Bactimos,用以防治蚊子。

由于从以上三方面得到了成果,苏芸金杆菌制剂局部范围内已在与化学农药的竞争中取得优势。在美国,目前已注册的苏芸金杆菌制剂能有效地防治 30 多种作物的 30 多种害虫,以防治蔬菜害虫的用量最多。用于防治棉铃虫、烟草芽蛾的研究也有进展,并找到了毒力高于 HD-1 的菌株。防治森林害虫是苏芸金杆菌制剂的潜在用途,以色列变种制剂防治蚊子的显著效果也引起了美国厂商愈来愈大的兴趣。

美国的苏芸金杆菌工作者对前途充满了信心。14 年前 HD-1 菌株的获得为制剂的发展奠定了基础,六年前 Goodberg 选得以色列变种,使苏芸金杆菌制剂的应用范围扩大到鳞翅目以外的昆虫。在发酵工艺方面,尽管发酵液的单位已从 1968 年的约 1000IU/ml 提高到 1979 年的 5600IU/ml,但较之抗生素的提高程度来,还大有潜力,因此美国很重视工艺研究。

随着以上三方面的进一步发展,苏芸金杆菌制剂在美国将进一步提高防治效果,降低成本。美国的苏芸金杆菌工作者普遍认为,苏芸金杆菌将获得进一步发展。