



一株 H₈ 血清型的苏芸金杆菌

变种—“018”菌株*

张 益

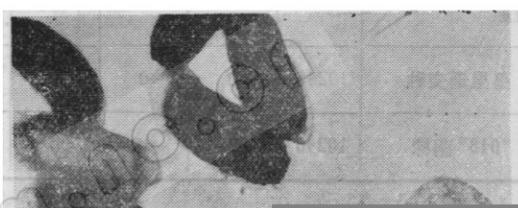
(湖北省光化县微生物站,光化)

袁砚修 罗绍彬

(中国科学院武汉病毒研究所,武昌)

1977年,湖北省光化县微生物站从自然死亡的小麦粘虫(*Leucania separata* Walker)幼虫尸体中分离获得一株形成伴孢晶体毒素的芽孢杆菌。几年来,我们对该菌株的生物学特性、分类地位、培养工艺及对鳞翅目害虫的毒力等进行了研究。结果证明“018”菌株是我国首次发现的苏芸金杆菌H₈血清型的莫里逊变种(*Bacillus thuringiensis* var. *morrisoni*),但具有特殊的性状,对棉花红铃虫有较好的毒杀效果,作者认为是血清型H₈变种中的新菌株。现将结果报告如下。

在牛肉膏蛋白胨液体培养基中30℃振荡培养8—9小时,营养细胞杆状,两端钝圆,具周生鞭毛(图1),能运动,通常2—4联排列,菌体大小1.2×2.5—4.5μm。革兰氏染色阳性,10—12小时细胞原生质开始浓缩,18小时左右形成孢子囊,孢子囊不膨大,芽孢偏端生,另一端



形成伴孢晶体。20—22 小时可见少量芽孢和晶体脱落，脱落的芽孢卵圆形，晶体菱形或近似菱形。芽孢大小为 $0.7 \times 1.5 \mu\text{m}$ (图 2)。

在牛肉膏蛋白胨琼脂培养基上生长丰满；30℃ 培养 73 小时，菌落直径为 1.5—2.0 cm，白色，扁平，边缘不整齐，略显光泽。液体静置培养形成一薄层菌膜。

(二) 生化特性

液化明胶，胨化牛奶，VP 反应阳性，水解

淀粉，蛋白质水解酶阳性，尿素酶反应阴性；发酵葡萄糖、果糖、蔗糖和七叶灵，不发酵甘露糖、海藻糖和水杨苷；卵磷脂酶阳性，此特征明显区别于莫里逊变种(见图 3)。也和任革新等^⑦报道的菌株明显不同。

(三) 血清学试验

将“018”菌株及已知血清型为 H₁—H₉ 的 10 株菌分别制备抗原和抗血清，进行交叉凝集试验。结果见表 1。

表 1 “018”菌株与已知血清型菌株的凝集试验

凝集效价 抗血清来源	“018” 菌株	苏芸金 杆菌 (var. <i>thuringiensis</i>)	幕虫变种 (var. <i>finitimus</i>)	阿莱变种 (var. <i>alesti</i>)	戈尔斯德 变种 (var. <i>kurstaki</i>)	松螭变种 (var. <i>dendroliimus</i>)	蜡螟变种 (var. <i>galleriae</i>)	加州变种 (var. <i>entomocidus</i>)	粘泽变种 (var. <i>aizawai</i>)	莫里逊 变种 (var. <i>morrisoni</i>)	多窝变种 (var. <i>tolworrhii</i>)
抗原		H ₁	H ₂	H _{3a}	H _{3ab}	H _{4ab}	H _{5ab}	H ₆	H ₇	H ₈	H ₉
莫里逊变种	10240	0	0	0	0	0	0	0	0	10240	0
“018”菌株	10240	0	0	0	0	0	0	0	0	10240	0

二、液体深层培养试验

在武汉市微生物农药厂和湖北省农业科学院微生物实验工厂的支持下，我们进行了“018”菌株的深层培养试验。

所用培养基 (%): 黄豆饼粉 3, 淀粉 0.8, 蛋白胨 0.2, CaCO₃ 0.1, MgSO₄ · 7H₂O 0.03, KH₂PO₄ 0.01, 酵母粉 0.2, 消泡剂 0.4。灭菌前后 pH 值分别为 8.0—8.5 和 6.5—7.0。

按一般大量培养苏芸金杆菌的工艺条件培养，6—8 小时营养细胞发育整齐粗壮，着色均匀，12 小时后原生质开始浓缩，16 小时即有孢子囊形成，20 小时进入孢子囊成熟阶段，22 小时有部分芽孢和晶体脱落。整个培养周期 22—24 小时。据连续 13 罐培养试验，培养液菌数平均在 25 亿/毫升以上，最后获得每克制剂含菌数在 120—150 亿的杀虫力较强的产品。

三、毒力与防治效果

(一) 室内毒力试验

用“018”菌株制剂先后对越冬红铃虫、菜青虫、斜纹夜蛾等 20 多种害虫进行了室内毒力试验，证明“018”菌株制剂对多种鳞翅目害虫有较高的杀虫能力。用该菌的孢晶混合物的悬液 (0.1—0.5 亿/毫升) 浸泡感染越冬红铃虫 10 秒钟，校正死亡率一般可达 90% 左右。与某些化学农药及其它苏芸金杆菌制剂比较，“018”菌制剂毒力明显高于 DDT、1605、HD-1 和 7216 菌剂。用乳糖悬浮丙酮沉淀法制备的“018”菌株孢晶混合物，对越冬红铃虫的 LC₅₀ 为 0.0413 mg/ml。

(二) 田间应用试验

几年来，用“018”菌株制剂在湖北省襄阳、南漳、谷城、枣阳、随县、宜城、光化、天门、汉川、沔阳、应城、广济等县，襄北、襄阳地区、草埠湖、“五三”农场、沙洋农场的农科所及中国农业科学院蔬菜研究所等单位的试验点上，对棉花、小麦、水稻、蔬菜等的 18 种鳞翅目害虫进行了 200 多次田间防治试验，防治面积约 2000 亩。结果表明，以 0.5 亿/毫升浓度的菌粉制剂防治棉花

红铃虫,连续三年的效果,对一、二、三代害虫可稳定在 50% 以上,与杀虫脒的效果相当,优于 DDT, 1605; 对稻苞虫、菜青虫、棉小造桥虫、棉卷叶虫、烟青虫、麻卷叶虫和玉米螟的防治效果一般在 80% 左右,最高可达 100%; 对棉铃虫的防治效果为 74—76%; 对稻纵卷叶螟和茶卷叶螟为 50—76%。对水稻三化螟和小麦粘虫的防治效果较差。

参 考 文 献

- [1] De Barjac, H. and A. Bonnefond: *Entomophaga*, 18

- (1):5—17, 1973.
[2] De Barjac, H. & A. Bonnefond: *ibid*, 7:5—31, 1962.
[3] Norris, J. R.: *J. Appl. Bact.*, 27(3):439—447, 1964.
[4] Smith, N. R. et al.: *Agr. Monograph*, No. 16, United State Department of Agriculture Issued, November, 1952.
[5] 方心芳: 应用微生物学实验法, 中国财政出版社, 1962。
[6] 齐良才等: 细菌血清学检验手册, 人民卫生出版社, 1962。
[7] 任改新等: 微生物学报, 15 (4), 292—301, 1975。