



杀 虫 细 菌

优良菌株评选

湖南省微生物研究所杀虫菌试验组

(长 沙)

毛主席在亲自制定的农业“八字宪法”中指出了“种”的重要性。在细菌杀虫剂的生产中,选择优良的生产菌种是扩大产量、提高产品质量、降低成本的关键,而生产菌株必须具备对害虫毒力强、抗逆性强、菌数高、生长快、收率高等特点。目前我国生产上较常用的菌种有血清型,的青虫菌(包括杀螟杆菌)和血清型,的苏芸金杆菌。为了比较各菌种的生产性能和毒力情况,我们引进了苏芸金杆菌的9个血清型共19个菌株,分别在三种不同培养基中,进行菌体培养观察、活

孢子测定、发酵生产的性能比较,以及家蚕蚁蚕的毒力测定和大田杀虫试验等,初步认为:血清型,的库斯塔克菌、7216和血清型,的012菌为优良菌株。

材 料 和 方 法

一、试验菌株

试验所用的19个菌株的菌号、菌名及血清型见表1。

表1 试验菌株菌名及血清型

菌 号	菌 名	血清型(H)
009	苏芸金杆菌苏芸金变种 (<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>thuringiensis</i> Berliner)	1
096	苏芸金杆菌太平洋变种 (<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>pacificus</i>)	7
010	苏芸金杆菌杀虫菌变种 (<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>entomocidus</i>)	6
013	苏芸金杆菌多窝变种 (<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>tolworthi</i>)	9
016	苏芸金杆菌猝倒变种 (<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>sotto</i>)	4
023	苏芸金杆菌肯尼亚变种 (<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kenya</i>)	4
E-3	苏芸金杆菌阿莱变种 (<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>alesti</i>)	3
012	苏芸金杆菌莫里逊变种 (<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>morrison</i>)	8
021	苏芸金杆菌幕虫变种 (<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>finitimus</i>)	2
087	苏芸金杆菌蜡螟变种 (<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>galleriae</i>)	5
育 82	苏芸金杆菌蜡螟变种 (<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>galleriae</i>)	5
751 ^a	苏芸金杆菌库斯塔克变种 (<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>)	3
752 ^a	苏芸金杆菌库斯塔克变种 (<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>)	3
753	苏芸金杆菌库斯塔克变种 (<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>)	3
育 4	苏芸金杆菌蜡螟变种 (<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>galleriae</i>)	5
D-57	苏芸金杆菌松蠹变种 (<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>dendrolimus</i>)	4
7216	(<i>Bacillus thuringiensis</i> var. sp.)	3
140	(<i>Bacillus thuringiensis</i> var. sp.)	无*
735	苏芸金杆菌蜡螟变种 (<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>galleriae</i>)	5

* 140 菌无鞭毛,故无H抗原。

二、培养基

斜面培养基: 牛肉膏 0.3 克, 蛋白胨 0.8 克, 柠檬酸钠 0.5 克, 琼脂 2 克, 水 100 毫升。

培养基 A: 蛋白胨 1 克, 葡萄糖 1 克, 牛肉膏 0.7 克, 水 100 毫升。

培养基 B: 酵母粉 2 克, 淀粉 1 克, 碳酸钙 0.2 克, 水 100 毫升。

培养基 C: 蚕蛹粉 2 克, 豆饼粉 7 克, 糊精 3 克, 酵母粉 0.5 克, 碳酸钙 0.5 克, 水 100 毫升。

培养基 A、B、C 均用 500 毫升三角瓶装, 每瓶装 25 毫升, 1 公斤/厘米²灭菌 30 分钟。上述四种培养基的 pH 值均为 7.2。

三、试验方法

1. 将 19 个菌株分别接种斜面, 34℃ 培养后, 观察菌落特征, 菌体形态, 并用斜面菌苔进行家蚕蚁蚕的生物测定毒力比较(斜面菌苔用 12.5 毫升蒸馏水稀释成孢子悬液)。

2. 将 19 个菌株分别接种于 A、B、C 三种培养基中, 29℃ 振荡培养至形成芽孢及晶体后, 每瓶发酵液

加 5 克碳酸钙, 55℃ 烘干后制成粉剂, 测定菌粉含活孢子数, 并以家蚕蚁蚕做生物测定比较其毒力。

3. 通过摇瓶初步筛选出的优良菌株进行 1.5 吨发酵罐的生产考核, 并采用板框压滤、喷雾干燥制成粉剂。

4. 经发酵罐考核的菌种发酵制成粉剂后, 对菜青虫、水稻害虫进行大田杀虫试验, 比较防治效果。

试验结果

一、菌落形态及毒力比较

菌落形态: 19 个菌株中大部分具有圆形、乳白色、表面光滑等特征, 751²⁴、752⁸、753 三株菌则为浅乳白色、表面粗糙有皱纹, 096 菌株则为浅乳白色、中间突起。

毒力测定: 血清型, 和血清型的, 菌种, 对家蚕蚁蚕均有较高的毒效, 血清型的, 毒效次之, 其它血清型菌株毒力较低(表 2)。

二、发酵液毒力比较

19 个菌株用 A、B、C 三种不同培养基培养后, 用

表 2 19 个菌株在不同培养基中发酵液毒效比较*

菌 号	培 养 基							
	斜 面 培 养 基		A		B		C	
	LC ₅₀ ** (毫克/毫升)	毒效比率	LC ₅₀ (毫克/毫升)	毒效比率	LC ₅₀ (毫克/毫升)	毒效比率	LC ₅₀ (毫克/毫升)	毒效比率
009	120	0.033	1000	0.0004	1000	0.016	1000	0.007
096	120	0.033	43.65	0.01	1000	0.016	69.2	0.11
010	52.5	0.077	0.398	1	23.9	0.68	15.85	0.5
013	120	0.033	0.398	1	30.2	0.53	21.9	0.37
016	100	0.033	166	0.0024	25	0.64	125	0.063
023	100	0.033	0.398	1	83	0.19	109	0.072
E-3	100	0.033	0.398	1	30.2	0.53	12	0.66
087	12	0.33	0.398	1	25.7	0.63	19.95	0.4
012	13	0.3	87.1	0.005	18.2	0.9	11.5	0.69
021	120	0.033	1000	0.0004	1000	0.016	1000	0.007
青 82	5.13	0.8	0.398	1	19.95	0.81	14.5	0.55
751 ²⁴	3.98	1	0.398	1	16.22	1	7.9	1
752 ⁸	5.37	0.74	0.398	1	12.1	1.34	19.1	0.41
753	6.76	0.6	0.398	1			17.4	0.45
青 4	9.55	0.41	0.398	1	13.2	1.23	5.8	1.4
D-57	120	0.033	15.85	0.027	30.2	0.53	39.8	0.2
7216	8.3	0.48	0.398	1	3.98	4.09	5.3	1.5
140	15.14	0.27	0.398	1	17.4	0.93	11.5	0.69
735	60	0.07	0.398	1	19.1	0.85	18.2	0.43

* 家蚕蚁蚕生物测定, 按中山大学生物系昆虫教研室的方法进行, 各项测定中均以 751²⁴ 菌株作标准。以 751²⁴ 的杀虫效率为 1, 由各处理的致死中浓度 (LC₅₀) 算出各处理菌株的毒效比率。

** 此处剂量系指每毫升稀释液中所含原孢子悬液或原发酵液的毫克数。

发酵液及发酵液制成的菌粉测定其毒力,结果均以血清型和血清型的菌株毒力高,血清型的012菌株效果次之。在血清型的菌株中,以751¹⁴、7216、752⁸对蚁蚕毒力高而且毒效稳定。在血清型中,以青₁、青₂对蚁蚕毒力高(表2)。

三、在不同培养基中摇瓶发酵性能比较

发酵液含菌数:血清型的松蠋菌(D57)发酵液含菌数最高,血清型、₁、₂、₃各菌株次之,血清型的菌株最低。在培养基C中血清型、和血清型的菌株比血清型的含菌数高。血清型的菌株生长繁殖快。

总收率:19个菌株中以D57、7216、751¹⁴的总收率最高,青₁、青₂、012菌株次之。

四、各菌株在发酵罐中生产性能比较

在摇瓶试验的基础上,将19个菌株用1.5吨罐分别发酵培养,发酵培养基成分(%):蚕蛹粉3,糊精1,豆饼粉1,蛋白胨0.4,玉米浆1,酵母粉0.4,碳酸钙0.1,pH7.4。将发酵液含菌数、收率、倒罐率等生产性能做了比较。

发酵液含菌数:松蠋菌、青虫菌、库斯塔克菌,分别为94.9亿/毫升、31.5亿/毫升,32亿/毫升。7216、012菌株在同一种培养基中发酵液含菌数与库斯塔克菌相近,与摇瓶试验基本一致。

总收率:库斯塔克菌、7216、012菌株的总收率分别为57%、61%、66%。

倒罐率:松蠋菌的发酵液含菌数高,青虫菌生长快,但易受噬菌体污染造成倒罐。库斯塔克菌和7216菌具有生长较快、菌体整齐和收率高等特点。从倒罐率来看,松蠋菌、青虫菌、库斯塔克菌、7216菌的倒罐率(倒罐次数/生产罐数)分别为:8/94、11/59、21/293、1/50,库斯塔克菌和7216菌是倒罐率最低的菌株。因此,从比较发酵罐生产性能看,我们认为库斯塔克菌和7216菌是两个生产性能较好的菌株。

五、杀虫效果比较

(一) 防治稻纵卷叶螟试验

1. 青虫菌、松蠋菌、苏芸金杆菌三种菌剂的田间小区杀虫试验比较,防治效果按80—100%、50—80%、20—50%、0—20%四个等级来分,综合30多次试验结果,以青虫菌菌剂的防治效果最好(表3)。

2. 分别在我所、邵阳地区农科所、衡阳地区农科所等单位所做的小区试验中,小区面积均为0.1亩,各处理用药量相同而孢子含量不同(松蠋菌、青虫菌、库斯塔克菌三种菌剂的孢子含量分别为:364亿/克、114亿/克、89亿/克)。杀虫效果:库斯塔克菌菌剂与青虫菌菌剂相近,而松蠋菌菌剂在孢子含量高于其它二种菌剂三倍的情况下,杀虫效果还比上述二种菌剂低20%

表3 三种杀虫菌菌剂防治稻纵卷叶螟效果比较

菌剂名称	试验次数	杀虫效果分级百分率(%)			
		80—100	50—80	20—50	0—20
青虫菌	33	36.4	33.3	27.3	3
松蠋菌	34	29.4	29.4	20.6	20.6
苏芸金杆菌	32	21.9	31.3	15.6	31.3
甲六混合粉	26	30.8	42.3	11.5	15.4

左右。这一结果与用家蚕蚁蚕进行生物测定结果是一致的。

3. 在另一组试验中,比较了752(HD-1)、012、7216三种杀虫菌对稻纵卷叶螟的杀虫效果,012和7216菌杀虫效果稍高于752(HD-1)菌,这与室内用家蚕蚁蚕进行生物测定结果也是一致的。

(二) 防治水稻三化螟试验

该试验选用青虫菌、苏芸金杆菌、松蠋菌做大田杀虫效果对比,结果表明,此三种菌对水稻三化螟的防治效果相近(表4)。

表4 三种杀虫菌菌剂防治二代三化螟大田试验对比

菌剂名称	试验面积 (亩)	用药量 (斤/亩)	施药方法	施药次数	防治效果 (%)
青虫菌	25	1	喷雾	2	81.9
苏芸金杆菌	25	1	喷雾	2	96.2
松蠋菌	25	1	喷雾	2	70.0
甲六混合粉	4	2.5	喷雾	2	57.9
对照	2				0

注:该试验在祁东县灵官公社进行;每一斤杀菌剂加50%的杀螟松25克。

(三) 防治水稻稻苞虫试验

在岳阳县农林局、麻阳县良种场等5个单位进行防治水稻稻苞虫对比试验,青虫菌、松蠋菌、苏芸金杆菌的防治效果分别为:89%、92%、73.5%,三种菌剂都比甲六混合粉的防治效果好,苏芸金杆菌菌剂比青虫菌、松蠋菌二种菌剂防治效果低20%左右。

综上所述,青虫菌、库斯塔克菌、松蠋菌、7216菌、012菌等菌剂对稻纵卷叶螟都有较好的防治效果;青虫菌、库斯塔克菌、松蠋菌三种菌剂对稻苞虫也有较好的防治效果,加入少量化学农药对水稻三化螟的防治也可以得到较高的效果。

小 结

1. 在苏芸金杆菌类菌剂的生产菌株中,以青虫菌(血清型)和库斯塔克菌、7216菌(血清型)对家蚕蚁

蚕的毒力高,通过对稻纵卷叶螟、稻苞虫、三化螟的田间杀虫试验,防治效果也优于其它菌株。但在生产过程中,青虫菌对噬菌体较敏感,而库斯塔克菌、7216 菌在生产过程中,虽也有噬菌体污染问题,但倒罐率低,生产上较为有利。

2. 松蠹菌具有繁殖快、菌数高的特点,但在防治稻苞虫的试验中,每克含 300 亿孢子的松蠹菌菌粉与每克含 100 亿孢子的青虫菌菌粉防治效果相同,这一结果也说明孢子数的多少不一定与害虫死亡率呈正相关,至于松蠹菌对林业害虫防治效果如何,有待试验。

3. 能产生大量外毒素的血清型,的 012 菌株,对家蚕蚁蚕毒力仅次于青虫菌、库斯塔克菌和 7216 菌,生产性能、田间防效也较好,而做为晶体内毒素与外毒素混合制剂的生产用菌种,应进一步试验研究。

4. 用家蚕蚁蚕进行生物测定的方法,具有材料来源容易、方法简便等优点,测定结果与大田杀虫效果也基本一致。此方法目前还存在着不够稳定,灵敏度不够高等问题,还需进一步提高。

参 考 资 料

- [1] 中山大学生物系昆虫学教研室昆虫微生物组: 昆虫学报, 20(1): 5—13, 1977。
- [2] 武汉大学生物系微生物专业 70 级工农兵学员杀虫菌鉴定小组: 微生物学报, 15(1): 5—14, 1975。
- [3] Darke, B. B. & Smythe, C. V.: 美国专利, 3087865, 1963。
- [4] Dulwage, H. T.: *J. Invert. Path.*, 15, 232—239, 1970。