



一株对棉铃虫高效的苏云金杆菌

吴继星 陈在悒 谢天健 钟连胜

(湖北省农业科学院 Bt 研究和开发中心, 武汉 430064)

摘要 1979 年从舍蝇 (*Musca vicina*) 幼虫中分离出一株能够形成伴孢晶体的芽孢杆菌 79007。该菌具有苏云金杆菌天门变种(7216)的典型特征。血清型属 H_{34-35} , 但培养特征、生化特征与已知的 H_{34-35} 的戈尔斯德变种 (HD-1)、天门变种(7216)略有不同, 特别是对棉铃虫的毒力大大高于已知的菌株, 预示着将成为我国防治棉铃虫的一株高效菌。

关键词 苏云金杆菌(79007), 生物学特性, 棉铃虫, 毒力

苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis*, 以下简称 Bt) 的不同菌株对昆虫的毒效存在显著的差异^[1,2]。国内外学者从自然界土壤、死亡昆虫、仓库粉尘、水体中分离到大量的 Bt 菌株^[3]。作者于 1979 年在湖北省天门市岳口镇采集到一自然死亡的舍蝇幼虫, 并从中分离获得一株对棉铃虫高毒的 Bt 菌株, 代号为 79007。该菌具有苏云金芽孢杆菌的典型特征。本文主要报道 79007 菌的培养特性、生理生化特性及其对棉铃虫的毒效测定结果。

1 材料和方法

1.1 菌株

79007 菌系作者从自然死亡的舍蝇幼虫尸体中分离获得。

标准菌株 009(H_1), 021(H_2), E-3(H_{34}), HD-1(H_{34-35}), 7216(H_{34-35}), 016(H_{44-45}), 023(H_{44-45}), 087(H_{44-45}), 010(H_4), 096(H_7), 012(H_{44-45}), 013(H_9) 为本中心保藏菌株。

1.2 形态及培养特征

将活化菌种转接到牛肉膏蛋白胨葡萄糖琼脂平板上, 置于 30℃ 恒温培养箱中培养 24h 后观察; 采用相同培养基(无琼脂)置于 500 ml 三角瓶 (50ml/瓶) 振荡培养 8h 涂片镜检。将活化 3—5 代的营养细胞接种于半固体培养基置于 30℃ 培养 8h 后, 采用悬滴法, 置于显微镜下观察其运动性。

1.3 生化反应

各种生化反应按文献[3]方法进行。

1.4 血清学鉴定

血清学鉴定按常规方法进行^[4]。

1.5 生物测定

采用 3—5 号优选培养基配方^[5], 分别为 (%) : 3 号: 酵母粉 4.0, 淀粉 3.0, 葡萄糖 0.4; 4 号: 酵母粉 4.8, 淀粉 3.6, 葡萄糖 0.48; 5 号: 酵母粉 5.0, 淀粉 3.75, 葡萄糖 0.5, 添加剂 II 号 0.25。分别接种后置于 30℃ 恒温下摇瓶振荡培养至大部分芽孢晶体脱落时终止培养, 供生测使用。以初孵棉铃虫幼虫为供试昆虫, 将标准品和培养液样品均按 5 个稀释度进行稀释, 均匀混于人工配制饲料中。小心挑取孵化后不超过 10h 且未取食的初孵幼虫, 放入盛有毒饵的塑料盒中, 上盖, 置于 30℃ 恒温室中饲养, 72h 后调查死虫数, 计算死亡率和毒力回归式, 求出 LC_{50} 值、斜率、相关系数 (r), 最后计算样品的生物效价。

2 结果和讨论

2.1 形态及培养特征

取培养 6—8h 菌龄的营养体观察, 79007 菌具有苏云金杆菌 7216 菌的典型特征, 伴孢晶体为短菱形、近圆形等多种形态, 大小不一, 多

1994-05-09 收稿

为 $0.5-1.8 \times 1.0-3.0\mu\text{m}$ 。菌落圆形, 边缘不整齐, 表面粗糙, 无光泽, 具有明显的皱纹。79007 菌在牛肉膏蛋白胨葡萄糖琼脂平板上生长快, 30°C 培养 20h 菌落直径达 $6.5-7.5\text{mm}$ 。

2.2 生化特征

所有标准菌株基本上重复原始性状。三菌株 HD-1、7216 和 79007 的生化反应结果见表 1。

表 1 HD-1、7216、79007 的生化反应结果

结果	项目	蔗糖	纤维二糖	色氨酸	七叶灵	水杨苷	水解淀粉	甘露糖	尿素	VP 试验	卵磷脂酶	菌膜
菌株												
HD-1		-	+	±	+++	+	+	-	++	+	+	-
7216		-	+	-	+	+	+	-	+	+	-	-
79007		-	+	-	+	-	+	-	+	+	-	-

注: + 发酵; - 不发酵; ± 弱发酵或结果不定

表 1 结果显示, 79007 独特的生化反应为水杨苷阴性反应, 而 HD-1、7216 菌均为阳性反应; 卵磷脂酶与 7216 菌相同而呈阴性反应, 与 HD-1 不同。

2.3 血清学鉴定

79007 血清反应结果表明该菌属血清型 H_{30-31} , 经饱和吸收试验与 HD-1 及 7216 完全相同 (表 2)。

表 2 交叉凝集吸收试验结果

抗血清	吸收抗原	反 应 抗 原		
		7216	79007	HD-1
HD-1	7216	0	0	0
	79007	0	0	0
7216	HD-1	0	0	0
	79007	0	0	0
79007	HD-1	0	0	0
	7216	0	0	0

2.4 生物测定结果

三菌株生物测定结果见表 3。

表 3 结果表明, 79007 在三种培养基上的效价均高于 HD-1、7216, 随着培养基固体物浓度的增加而提高, 特别在 5 号培养基上平均效价高达 $3154 \times 10^3\text{IU/ml}$, 分别为 HD-1 和

表 3 生物测定结果

效价 (10^3IU/ml)		菌株		
		HD-1	7216	79007
培养基				
3 号	1	731	1023	3020
	2	926	595	2650
	3	1274	687	2440
	4	819	831	2356
	5	1185	504	2469
	平均	987	728	2587
4 号	1	1023	1076	3224
	2	1357	1425	3056
	3	1139	1172	2669
	4	874	996	2893
	5	1052	1666	2695
	平均	1089	1267	2907
5 号	1	1825	1825	3046
	2	1375	1950	3325
	3	1560	1496	2950
	4	1497	1379	3401
	5	1538	1785	3048
	平均	1559	1687	3154

7216 菌的 2 倍和 1.87 倍。

79007 菌株的发现, 表明自然界中蕴藏着对昆虫高毒的苏云金杆菌。我国地域辽阔, Bt 资源十分丰富。如能组织进行全面系统地调查研究, 无疑为发掘我国苏云金杆菌的新资源具有重要意义, 不仅能在较短时间内找到高效广谱新菌株, 同时对开展工程菌株的研究也将提供宝贵的材料。笔者认为, 苏云金杆菌作为杀虫菌, 筛选研究的主要目标应该从传统的发现新血清型模式转向寻找高毒效的轨道上来, 使之尽快地转向为生产力, 为现代化农业服务。

参 考 文 献

[1] 吴继星, 陈在伟. 微生物学通报, 1984, 11(5): 273-276.
[2] 喻子牛. 苏云金杆菌. 北京: 科学出版社, 1990.
[3] 湖北省微生物研究所虫生菌组. 微生物学报, 1976, 16(1): 12-16.
[4] 齐良才. 细菌学检验手册. 北京: 人民出版社, 1962.
[5] 吴继星, 陈在伟, 谢天健, 等. 生物防治通报, 1994, 10(3): 110-113.

A HIGH TOXIC ISOLATE OF *BACILLUS THURINGIENSIS* AGAINST COTTON BOLLWORM

Wu Jixing Chen Zaier Xie Tianjian Zhong Liansheng

(Be Research and Development Center Hubei Academy of Agricultural Science, Wuhan 430064)

Abstract A parasporal crystal forming bacillus "79007" was isolated from dead larva of *Musca vicina* in 1979. This bacillus has the typical characteristics of *Bacillus thuringiensis* var. *tianmensis* (7216). Its serotype belong to H_{3a-3b}, but it is distinguished from strain HD-1 and 7216 in cultural characteristics and biochemical reactions.

The results showed strain 79007 is more high toxicity against cotton bollworm than known strain. This forecast that it is more effective in the control of cotton bollworm than any other strain commonly used in this country.

Key words *Bacillus thuringiensis* (79007), biological characteristics, cotton bollworm (*Heliothis armigera*), toxicity