

昆虫病原菌苏云金芽孢杆菌群 (*Bacillus thuringiensis* Group) 的分类

任改新 李克田 杨明华 易兴民*

(中国科学院北京动物研究所, 北京)

采用形态、生化、血清学的方法对国外引种的 13 株已知菌和本国 51 株未知菌进行了变种的分型研究。结果表明: 苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis*) 作为有益的细菌资源在我国分布较广。51 株菌中属于血清型 H₁ 苏云金芽孢杆菌苏云金变种 (*Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis*) 有 11 株, 血清型 H_{2a-5b} 苏云金芽孢杆菌蜡螟变种 (*B. thur.* var. *galleriae*) 31 株, 血清型 H_{2a-6} 苏云金芽孢杆菌松蚕变种 (*B. thur.* var. *dendrolimus*) 3 株, 血清型 H_{2a-10} 苏云金芽孢杆菌肯尼亚变种 (*B. thur.* var. *kenyae*) 5 株, 同时发现血清型 H_{2a} 苏云金芽孢杆菌玉米螟变种 (*B. thur.* var. *osvrinae*) 一株。玉米螟变种不同于该菌群的已知菌株, 认为是一个新变种。实践证明, 利用血清学抗原抗体具有高度特异性的凝集反应来鉴别苏云金芽孢杆菌变种, 简便, 快速, 准确。而该群噬菌体却不能作为区分变种的标准。

苏云金芽孢杆菌近缘于蜡状芽孢杆菌 (*B. cereus*), 革兰氏阳性菌, 1901 年 Ishiwata 从死蚕体分离出猝倒芽孢杆菌 (*Bacillus sotto*), 1911 年 Berliner 从地中海粉蛾罹病幼虫中分离出苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis*)。此后世界各地陆续从多种鳞翅目昆虫的幼虫中分离出这类杆菌的不同变种, 目前已报导的有 262 株, 分别归为 12 个血清型 17 个变种。^[1]

苏云金芽孢杆菌产生对昆虫有毒的晶体内毒素和热稳定外毒素, 所以能毒杀多种鳞翅目幼虫。同时它又易于进行工业化生产和农村人民公社用土法生产。因此, 在应用剧毒化学农药使环境污染日益严重的情况下, 细菌杀虫剂在各国愈来愈引起人们的重视^[2-5]。

无产阶级文化大革命以来, 群众性科学实验运动蓬勃发展, 我国各地广泛生产和使用青虫菌、杀螟杆菌、苏云金杆菌等, 在防治农林害虫方面取得了较好效果。同

时, 各地还分离筛选出不少苏云金芽孢杆菌类菌株。为了进一步推动细菌杀虫剂的研究、生产和应用, 我们对新分离的菌进行了鉴定。

本研究采用 de Barjac 和 Bonnefoi 的分类系统^[4,6]并参考 Norris 1964^[7]的报导, 把所有产生伴孢晶体芽孢杆菌作为一个种群, 以 Berliner 1915 年命名的苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis* Berliner) 为模式种, 再根据该菌不同菌株间的生化、血清特性差异鉴别变种。我们先后收集鉴定了 13 株已知菌, 并与 51 株未知菌进行了对比鉴定。

菌株来源

鉴定菌株总计 51 株, 其寄主和来源详见表 1。为便于鉴定, 采用从国外引入的已知菌作为对照 (表 2)。

* 北京大学生物系, 1973 届学员。
本文于 1975 年 6 月 4 日收到。

表 1 51 株 鉴定 菌株 一览表

菌 号	寄 主	来 源
058		本组 1960 年从捷克菌粉分离
P-8	玉米螟 [<i>Ostriniae nubilalis</i> (Hübner)]	本组 1961 年分离
007	玉米螟 [<i>Ostriniae nubilalis</i> (Hübner)]	本组 1970 年分离
Frc	玉米螟 [<i>Ostriniae nubilalis</i> (Hübner)]	本组 1973 年从法国菌粉 “Bactospeine” 分离
558	玉米螟 [<i>Pyrausta nubilalis</i> (Hübner)]	东北农学院植保系
B ₁	鳞翅目幼虫	中国科学院微生物研究所
B ₄	鳞翅目幼虫	中国科学院微生物研究所
A ₇	鳞翅目幼虫	中国科学院微生物研究所
A ₈	鳞翅目幼虫	中国科学院微生物研究所
A ₁₂	鳞翅目幼虫	中国科学院微生物研究所
A ₁₃	鳞翅目幼虫	中国科学院微生物研究所
008	西伯利亚松毛虫 [<i>Dendrolimus sibiricus</i> Tschetw]	东北农学院植保系
C-008	西伯利亚松毛虫 [<i>Dendrolimus sibiricus</i> Tschetw]	湖南省微生物所生产菌株
7417	松毛虫	东北农学院植保系
7304	鳞翅目幼虫	本组 1973 年从面粉害虫尸体分离
7404	一点谷螟 [<i>Aphomia gularis</i> Zeller]	本组 1974 年分离
7235	大谷盗 [<i>Tenebrioides mauritanicus</i> Linne]	本组 1972 年分离
36	菜青虫 [<i>Pieris rapae</i> Linne]	浙江农业大学植保系
S-1	刺 蛾	上海西郊公园园林农药厂 1 号菌株
010	蜜蜂幼虫	本组 1964 年分离
011	螟 虫	湖南省微生物研究所
012	灯 蛾 [<i>Hyphuntia cunea</i>]	本组 1970 年分离
013	刺 蛾	本组 1970 年分离
7217	米 蛾 [<i>Corcyra cephalonica</i> Stainton]	本组 1972 年分离
7219	蓖麻蚕 [<i>Attacus ricini</i> Boisduval]	本组 1972 年分离
73-7	二化螟 [<i>Chilo simplex</i> (Butler)]	湖南省农科院植保系
7302	褶翅尺蠖 [<i>Zanacra excavata</i> Dyar]	本组 1973 年分离
7303	鳞翅目幼虫	广东省昆虫研究所
B ₆	鳞翅目幼虫	中国科学院微生物研究所
B ₁₀	鳞翅目幼虫	中国科学院微生物研究所
A ₉	鳞翅目幼虫	中国科学院微生物研究所
R ₄₁₋₅		本组选育抗“010”噬菌体的抗株
R ₀₋₃₂		本组选育抗“101”噬菌体的抗株
A ₆	鳞翅目幼虫	中国科学院微生物研究所
A ₄	鳞翅目幼虫	中国科学院微生物研究所
A ₅	鳞翅目幼虫	中国科学院微生物研究所
7301	米 蛾 [<i>Corcyra cephalonica</i> Stainton]	本组 1973 年分离
7214	米 蛾 [<i>Corcyra cephalonica</i> Stainton]	本组 1972 年分离
140	棉花小造桥虫 [<i>Anomis flava</i> Fabricius]	湖北省微生物研究所
111		湖北省微生物研究所
242		湖北省微生物研究所
红39		湖北省微生物研究所
174	黄地老虎 [<i>Agrotis segetum</i> Schiffermuller]	上海植物生理研究所
48	螟 虫	上海植物生理研究所
83	红铃虫 [<i>Pectinophora gossypiella</i> (Saunders)]	上海植物生理研究所

表 1 (续)

菌号	寄主	来源
P-A ₁	粘虫 [<i>Leucania separata</i> (Walker)]	辽宁朝阳农学院、朝阳地区农科所
P-A ₂	粘虫 [<i>Leucania separata</i> (Walker)]	"
P-A ₃	粘虫 [<i>Leucania separata</i> (Walker)]	朝阳地区农科所
H-B ₁	棉铃虫 [<i>Heliothis obsoleta</i> Hübner]	"
H-B ₂	"	"
006	玉米螟 [<i>Ostrinia nubilis</i> (Hübner)]	本组 1970 年分离

表 2 13 株对照菌及其来源

菌号	名称	血清型	来源
457 009	苏云金芽孢杆菌苏云金变种(苏云金杆菌或苏云金菌) <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>thuringiensis</i>	H ₁	本组 1962 年引自捷克 武汉大学引自英国
021	苏云金芽孢杆菌幕虫变种(幕虫杆菌或幕虫菌) <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>finitimus</i>	H ₂	
E-3	苏云金芽孢杆菌阿莱变种(阿莱杆菌、阿莱菌) <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>alesti</i>	H _{3a}	武汉大学引自英国
016	苏云金芽孢杆菌猝倒变种(猝倒杆菌、猝倒菌) <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>sotto</i>		
461	苏云金芽孢杆菌猝倒变种 <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>sotto</i>	H _{4a-b}	本组引自捷克
306	苏云金芽孢杆菌松绸变种(松毛虫杆菌、松绸菌松毛虫菌) <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>dendrolimus</i>		
023	苏云金芽孢杆菌肯尼亚变种(坚夷菌、肯尼亚杆菌) <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kenya</i>	H _{4a-c}	武汉大学引自英国
001	苏云金芽孢杆菌蜡螟变种(蜡螟杆菌 蜡螟菌青虫菌) <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>galleriae</i>	H _{5a-b}	本组自苏联菌粉分离
E-010	苏云金芽孢杆菌杀虫变种(杀虫杆菌, 杀虫菌) <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>entomoidus</i>	H ₆	
096	苏云金芽孢杆菌站泽变种(站泽杆菌, 站泽菌) <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i>	H ₇	武汉大学引自英国
E-012	苏云金芽孢杆菌莫里逊变种(莫里逊菌、莫里逊杆菌) <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>morrisoni</i>	H ₈	
E-013	苏云金芽孢杆菌多窝变种(多窝菌、多窝杆菌) <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>tolworthi</i>	H ₉	

实验方法

一般用相差显微镜观察菌株的形态和运动
力,并用日立 Hu-H_A 型电子显微镜观察菌株鞭

毛及伴孢晶体形态。鞭毛观察用 30℃ 培养 8—12
小时斜面菌苔,晶体观察用芽孢囊自溶后的斜面
菌苔,用接种环取菌苔少许稀释于生理盐水制成
悬液,轻滴小滴悬液于附有火棉胶的铜网上,干

后喷镜观察。

各项生化试验的培养基与试验方法基本上按 Smith 等(1952)方法进行^[6], 其中糖发酵试验, 尿酶试验与方心芳方法进行对比观察^[9], 卵磷脂酶试验参照 Grinstead 等(1955), McGeughey 等(1948)方法进行^[10]。

鞭毛抗原及其免疫抗血清的制备按 de Barjac 和 Bonnefoi 1962,^[11] Norris 1964^[7] 方法进行。鞭毛凝集试验和吸收试验除参照上述作者的做法外, 按血清学常规进行^[12-16]。

为探讨噬菌体在鉴别菌型上的作用, 用血清型 1、4、5 不同菌株分离纯化的 8 个噬菌体样品在供试 30 株菌株双层平板上点种, 次日观察噬菌斑。

结 果

一、形态观察和生化试验

供试菌株除 021、006、140 外绝大部分都具有苏云金芽孢杆菌群共有的形态特征, 菌体周身鞭毛(图版 I-1), 运动, 在芽孢的另一端伴生着有毒蛋白质晶体(伴孢晶体)(图版 I-2)。140、A₆ 开始观察不运动, 经多次软洋菜 U 形管活化诱导后发现 A₆ 有鞭毛, 而 140 亦曾看见不典型的鞭毛。006、021 菌其伴孢晶体近于圆形, 有别于其他典型株, 021 菌晶体在芽孢膜之内, 当菌体自溶时, 其晶体, 芽孢总是紧密地连在一起,(图版 II-1)。

生化试验结果和血清型列于表 3。

从表 3 51 株菌生化反应看出, 在 13 株已知菌中 457, 009, 021, E-3, 306, 016, 023, 001, E-010, 012, 013 完全符合 de Barjac (1973) 检索表中该菌的原性状, 可作为本研究鉴别未知菌的对照菌; 096 有蔗糖及甘露糖发酵、尿酶反应与原性状相反; 461 完全不符其原始性状而与 457 性状相同。在 40 株未知菌中, 与对照菌苏云金菌(457)相同的有 12 株, 与松螭菌(306)

相同的有 3 株, 与肯尼亚菌(023)相同的有 5 株, 与蜡螟菌(001)相同的有 14 株, 此外, A₆, A₄, A₅, 7214, 7301, 006, 其反应多少有别于已知 13 个变种, 其分类地位尚需结合血清反应进行分析。

二、血清学试验

(一) 交叉凝集试验

用上述对照菌株制备的抗血清与未知菌进行交叉凝集试验。其结果(表 4)与生化试验相符。

从表 4 明显看出: 对照菌抗血清 1—9 均能以较高的效价凝集同源抗原, 但不凝集异源抗原, 有 13 株菌(058, 009, P-8, 007, Frc, 558, B₁, B₄, A₇, A₈, A₁₂, A₁₃, 461) 与血清型 H₁(457) 抗血清产生阳性凝集反应属于同源; 有 3 株(7417, C-008, 008) 与血清型 H_{4a-4b}(306) 同源; 有 5 株(7304, 7404, S-1, 36, 7235) 与血清型 H_{4a-4c}(023) 同源; 有 25 株(010, 011, 012, 013, 7217, 7219, 73-7, 7302, 7303; B₈, B₁₀, A₉, R₄₂₋₁, R₀₋₃₂, 111, 242, 红 39, 174, 83, 48, P-A₁, P-A₅, P-A₉, H-B₁, H-B₂) 与血清型 H_{4a-4b} 同源; 有 1 株(006) 与血清型 H₃(012) 同源; 140, A₆, A₄, A₅, 7214, 7301 抗原与血清型 H_{3a-3b} 产生交叉凝集效价较低; 血清型 H_{4a-4b} 与血清型 H_{4a-4c} 有 200 以下交叉凝集, 显示二者具有共同的抗原因子 a。

(二) 凝集吸收试验

基于上述形态、生化及凝集试验结果, 对具有特异性的未知菌进行了下述几个组合的交叉凝集吸收试验。

(1) 7301, 7214, 140, 与 001 (H_{3a-3b}) 交叉凝集吸收试验。

表 5 结果表明, 7301, 7214, 140 与对照株 001 均能以一定的效价发生交叉凝集反应, 经过交叉吸收以后 001 与 7214, 001 与 7301, 001 与 140 均能相互吸收彼此的全部

表 3 52 株供试菌株生化反应一览表

生化组	菌株号	生化反应										类别			血清型 (H)	变种名称	
		A. M. C.	卵磷酯酶	水杨苷	水解蛋白	色素形成	蔗糖	菌膜	尿酸	七叶苷	甘露糖	水解淀粉	纤维二糖				
I	457, 058, P-8, 007, Erc. 558, B ₁ , B ₂ , A ₇ , A ₉ , A ₁₂ , A ₁₃ , 461	+	+	+	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	1	<i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>thuringiensis</i>
		+	+	+	-	+	+	-	+	+	-	-	-	-	-	2	var. <i>finitimus</i>
III	E-3	+	+	+++	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	+	3	var. <i>alesti</i>
		+	+	+++	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	4a-4b	var. <i>dendrolimus</i>
IV	306, 008, C-008, 7417, 016	+	+	+++	-	+	+	-	+	+	+	+	+	+	+	4a-4c	var. <i>kenyae</i>
		+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	5a-5b	
		+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	?	
		+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	6	var. <i>entomocidus</i>
V	A ₆ A ₄ , A ₅	+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	7	var. <i>aisawai</i>	
		+	+	+	-	-	-	+	+	+	+	+	+	+	8	var. <i>morrisoni</i>	
VI	E-010	+	+	+++	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+	9	var. <i>tolworthi</i>	
		+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+			
VII	096	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+			
		+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+			
VIII	012	+	+	+++	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+			
		+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+			
IX	006	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+			
		+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+			
IX	013	+	+	+	-	-	+	+	+	+	+	+	+	+			
		+	+	+	-	-	-	-	+	+	+	+	+	+			

A. M. C. (Acetyl-methyl-carbinol) 即 V. P. 反应。

表 4 10 种对照菌株抗血清与未知菌株交叉凝集反应

免疫血清种类	H ₁ (457)	H ₂ (021)	H ₃ (E-3)	H _{4a-b} (306)	H _{4c-dc} (023)	H _{5-a-b} (001)	H ₆	H ₇ (096)	H ₈ (012)	H ₉ (013)	血清型 (H)
免疫血清效价	6400— 12800	6400	6400	6400— 12800	6400	6400— 12800	800— 1600	6400	6400	800	(H)
与未知菌凝集反应效价	457, 058, 009, P-8, 007, Frc, 558, B ₁ , B ₂ , A ₁ , A ₂ , A ₃ , A ₁₃ , A ₁₅ , 461	—	—	—	—	—	—	—	—	—	1
	306, 7417, 008, C-008	—	—	6400— 12800	80—160	—	—	—	—	—	4a-4b
	023, 7304, 7404, S-1 36, 7235,	—	—	—	6400	—	—	—	—	—	4a-4c
	001, 010, 011, 012, 013, 7217, 7219, 73-7, 7302, 7303, B ₁ , B ₂ , A ₉ , 83, R ₆₃₋₃ , R ₆₃₋₃₃ , 111, 242, 红39, 174, 48, P-A ₁ , P-A ₂ , P-A ₃ , H-B ₁ , H-B ₂	—	—	—	—	6400— 12800	—	—	—	—	5a-5b
	140	—	—	—	—	160—200	—	—	—	—	
	A ₆	—	—	—	—	1600	—	—	—	—	
	A ₃ , A ₅	—	—	—	—	3200— 6400	—	—	—	—	
	7214	—	—	—	—	3200	—	—	—	—	
	7301	—	—	—	—	3200	—	—	—	—	
	012	—	—	—	—	—	—	—	6400	—	8
	006	—	—	—	—	—	—	—	1600	—	

表5 7214, 7301, 140 与 001 (H_{5a-5b})
交叉凝集吸收试验

抗血清	吸收用抗原	试验菌	凝集效价
001	—	001 7214	6400 3200
	7214	001 7214	— —
7214	—	7214 001	6400 6400
	001	7214 001	— —
001	—	001 7301	6400 3200
	7301	001 7301	— —
7301	—	7301 001	6400 6400
	001	7301 001	— —
001	—	001 140	800 800
	140	001 140	— —
140	—	140 001	200 160
	001	140 001	— —

抗体,说明 7301, 7214, 140 三株菌具有对照株 001 完全相同的抗原成分,故 7301, 7214, 140 的血清反应与血清型 H_{5a-5b} (001) 同源,属血清型 H_{5a-5b} (蜡螟菌)。

(2) 006 与 012 (H_6) 交叉凝集和吸收

表6 006 与 012 (H_6) 交叉凝集吸收试验

抗血清	吸收用抗原	与试验菌凝集反应效价	
		012	006
012	—	5120	1280
	006	2560	—
006	—	1280	5120
	012	—	—

试验。

表6 结果表明: 006 与 012 交叉凝集效价为 1280 以上,说明二者具有共同的抗原成分,经过交叉吸收后,显示出二者仍存在一定的差异,012 抗血清为 006 菌吸收后仍能以 2560 较高的效价与本抗原相凝集,相反 006 抗血清经过 012 菌吸收后几乎吸收掉其全部抗体,故 006 与 012 具有共同的抗原成分 a, 而 012 所具备的 b 成分则是 006 所缺少的,因此 012 血清型应为 $8a-8b$, 006 则应为 $8a$ 。

三、噬菌体敏感性测定

表7 结果表明,血清型 H_1 菌株绝大部分仅为同源的噬菌体所感染,而对异源的噬菌体不敏感,说明血清型 H_1 的菌株与其同源的噬菌体存在着一定的专一性,然而血清型 H_3 与 H_4 等不少菌株对异源的噬菌体均发生程度不等的交叉感染,噬菌体与寄生间的专一性并不明显,因此虽然噬菌体在炭疽杆菌分型鉴定方面简便可行,但用于苏云金芽孢杆菌菌型鉴定是有困难的。

结 论

综合形态、生化、血清学等实验观察结果,根据 de Barjac 和 Bonnefoi (1973) 分类系统,对 64 株菌鉴定结论如下:

1. 从国外引进的 13 株已知对照株中,461 有误,原定名为猝倒菌应更正为苏云金芽孢杆菌苏云金变种。其余 12 株仍保留其原有分类地位,变种名称不变。

2. 以引入经鉴定无误已知菌为对照菌对国内 51 株未知菌分型鉴定结果,可分别归为 4 个血清型 5 个变种,即:

苏云金芽孢杆菌苏云金变种 (*B. thuringiensis* var. *thuringiensis*), 血清型 H_1 , 以 P-8 为代表共 11 株 (图版 III-1)。

表 7 30 株菌对不同噬菌体敏感性测定

测 试 菌 株		H ₁ *		H _{4a-4b}		H _{3a-3b}				备 注
		457**		306		001	010	011	140	
		T ₁	T ₂	D ₂	D ₃	G ₈	G ₉	G ₃	G ₁	
H ₁ *	457**	+	+	-	±	-	-	-	-	① 1.195 为蜡状芽孢杆菌 (<i>B. cereus</i>) ② + 示敏感 - 示不敏感 ± 结果不稳定
	P-8	+	+	-	-	-	-	-	-	
	058	+	-	-	-	-	-	-	-	
	558	-	+	-	-	-	-	-	-	
	Frc	+	+	-	-	-	-	-	-	
	007	+	±	-	+	-	-	-	-	
	009	+	+	-	-	-	-	-	-	
	461	-	-	-	-	-	-	-	-	
H ₂	021	+	+	-	-	-	-	-	-	
H ₃	E-3	-	-	-	-	-	-	+	-	
	7216	+	+	±	+	+	+	+	+	
H _{4a-4b}	306	+	+	+	+	-	-	-	-	
H _{4a-4c}	023	+	+	-	-	-	-	+	-	
	7235	+	-	-	-	+	+	+	+	
	7304	+	-	-	-	+	+	-	+	
	S-1	-	+	-	+	+	+	-	+	
	36	+	-	-	-	+	+	+	+	
H _{3a-3b}	001	+	-	+	+	+	+	+	+	
	011	+	-	-	+	+	+	+	+	
	010	±	-	±	+	+	+	+	+	
	140	+	±	+	+	+	+	+	+	
	73-7	+	-	+	-	+	+	+	+	
	A ₆	+	-	+	+	+	+	-	-	
	A ₃	+	-	-	-	+	+	+	-	
	7301	+	-	-	-	+	+	-	±	
	7214	+	-	-	-	+	+	+	-	
H ₆	E-010	+	+	+	+	-	-	-	-	
H ₇	096	+	+	+	+	-	-	-	-	
H ₈	012	-	-	-	-	-	-	-	-	
H ₉	013	+	+	+	-	-	-	+	-	
1.195	-	-	-	-	-	-	-	-	-	

* H——代表血清型, ** 457 等——代表菌号

苏云金芽孢杆菌松蠹变种 (*B. thuringiensis* var. *dendrolimus*) H_{4a-4b}, 以 7417 为代表共 3 株 (图版 III-2)。

苏云金芽孢杆菌肯尼亚变种 (*B. thuringiensis* var. *kenyae*) H_{4a-4c}, 以 7404 为

代表共 5 株 (图版 III-3)。

苏云金芽孢杆菌蜡螟变种 (*B. thuringiensis* var. *galleriae*) H_{3a-3b}, 以 010 为代表共 31 株 (图版 I-2)。

苏云金芽孢杆菌玉米螟变种, 可简称

玉米螟菌 (*B. thuringiensis* var. *ostriniae*), H_{3a} , 以 006 为代表共 1 株 (图版 II-2, 3)。

上述以寄主命名的血清型 H_{3a} , 玉米螟变种与该菌群已知变种不同, 认为是一个新种。

讨 论

通过 64 株菌研究证明, 利用血清学抗原抗体高度特异性——鞭毛抗原凝集反应鉴别苏云金芽孢杆菌群的菌型是快速而准确的好方法。一般来说, 生化反应和抗原特性之间结果有一定的相关性, 每个血清型相当一个生化组, 当血清反应中遇到新的抗原时也同时有新的生化性状出现。但有些菌株的生化特性, 与血清学反应不一致。因此仅凭生化反应来确定菌株分类地位, 在亲缘关系密切、变种间差别不大的情况下, 往往导致错误的结论。例如表 1、3 所列归为 H_{3a-5b} 的 7301, 其卵磷脂酶为阳性; A_4 , A_5 尿酶反应为阴性, 与其对照株相比各有差异, 但血清反应结果并无什么差异, 故仍归为蜡螟菌, de Barjac 等 (1968) 也曾报导过类似的情况^[6]。此外 7214 除卵磷脂酶为阳性反应外, 发酵木糖和甘露糖, 形成菌膜均有别于对照株 001 (H_5), 但血清反应仍属 H_{3a-5b} , 并无差异故不能定为新变种。因此, 我们认为, 当鉴定苏云金杆菌未知菌时最好是先用已知对照株抗血清初步归型, 然后再以生化反应特征加以验证, 就可以比较快的确定变种分类地位。血清反应与生化反应相比具有较高的鉴别能力。

A_5 , 140, 二株一般形态观察不运动, 不具鞭毛, A_6 经多次诱导后, 活动力增强发现鞭毛, 而 140 却一直未得到肯定的结论。我们认为 A_6 , 140 生化反应与蜡螟菌 (001) 相同, 与对照菌血清型 H_1 , H_2 , H_{3a} , H_4 , H_6 , H_7 , H_8 , H_9 不发生交叉凝集而独与

H_{3a-5b} (001) 有交叉凝集发生, 且吸收试验证明 140 无异, 故仍应归为血清型 H_{3a-5b} , 为苏云金芽孢杆菌蜡螟变种 (蜡螟杆菌, 蜡螟菌)。

从苏云金芽孢杆菌群的分布看, Norris (1965)^[7] 曾统计: 苏云金菌 (H_1), 蜡螟菌 (H_{3a-5b}) 广泛分布于全世界, 松蠹菌 (H_{4a-4b}) 分布于远东, 而肯尼亚菌 (H_{4a-4c}) 则分布于非洲。本研究结果表明: 我国不仅有广泛分布的苏云金菌、蜡螟菌, 而且有松蠹菌和罕见的肯尼亚菌的分布。我国地大物博、资源丰富, 具有广谱杀虫性能的菌株一定蕴藏不少, 有待进一步调查研究。

菌株的毒力问题。Heimpel^[8] 强调把热稳定毒素的产生作为鉴别菌型的一种指标但至今仍未被大家接受, 根据我们实践, 菌株的毒力 (包括内外毒素) 与菌株培养条件、菌剂制备方法、试验对象相互之间存在着复杂的因果关系。故不宜以毒力作为鉴别变种的标准。同样噬菌体也不能作为鉴别该菌型标准。

参 考 资 料

- [1] De Barjac, H. & A. Bonnefoi: *Entomophga*, 18 (1): 5—7, 1973.
- [2] 刘崇乐等: 苏云金杆菌研究的五十年, 科学出版社, 1962.
- [3] Heimpel, A. M.: *Ann. Ent.*, 12: 287—322, 1967.
- [4] Angus, T. A.: *Bacillus thuringiensis* as a microbial insecticides. In "Naturally Occurring Insecticides" (M. Jacobson, D. G. Crosby, ed.) P. 463—498, Marcel Dekker, Inc. New York, 1971.
- [5] 站沢啓夫: 化学の領域, 26 (1): 47—54, 1972.
- [6] De Barjac, H. et al.: *J. Invert. Pathol.*, 11: 335—347, 1968.
- [7] Norris, J. R.: *J. Appl. Bact.*, 27 (3): 439—447, 1964.
- [8] Smith, N. R. et al.: agr. Monograph, No. 16, United State Department of Agriculture Issued November, 1952.
- [9] 方心芳: 应用微生物学实验法, 中国财政出版社, 1962.
- [10] McGaughy, C. A. & H. P. Chu.: *J. Gen.*

- Microbiol.*, 2: 334, 1948.
- [11] De Barjac, H. & A. Bonnefoi: *Entomophaga*, 7: 5—31, 1962.
- [12] 齐良才等：细菌血清学检验手册，人民卫生出版社，1962。
- [13] De Barjac, H. & F. Lemille: *J. Invert. Pathol.*, 15 (1): 139, 1970.
- [14] De Barjac, H. & J. V. Thompson: *J. Invert. Pathol.*, 15, 141—144, 1971.
- [15] De Barjac, H. & A. Bonnefoi: *J. Invert. Pathol.*, 20: 212—213, 1972.
- [16] Krieg, A. et al.: *J. Invert. Pathol.*, 10 (2): 428, 1968.
- [17] Norris, J. B. & H. D. Burger: *Entomophaga*, 10: 41—49, 1965.
- [18] Heimpel, A. M.: *J. Invert. Pathol.*, 16 (2): 454—456, 1968.

THE CLASSIFICATION OF THE STRAINS OF *BACILLUS THURINGIENSIS* GROUP

REN GAIXIN LI KETIAN YANG MINGHUA YI XINGMIN

(Beijing Institute of Zoology Academia Sinica)

The present work deals with the classification of 51 strains of *Bacillus thuringiensis* isolated in China; and morphologica, biochemical and serological comparisons have been made with 13 introduced known varieties comprising 9 serotypes. As a resource the *B. thuringiensis* group in our country can be regarded multifarious. Among the 51 strains studied 11 belong to Serotype H₁, *B. thuringiensis* var. *thuringiensis*; 31 belong to

Serotype H_{2a-5b}, *B. thuringiensis* var. *galleriae*; 3 belong to Serotype H_{2a-4b}, *B. thuringiensis* var. *dendrolimus*; and 5 belong to Serotype H_{2a-4a}, *B. thuringiensis* var. *kenyae*. A new variety belonging to Serotype H_{2a} was discovered which is now nominated *B. thuringiensis* var. *ostriniaae*. It is also recognized that the phages of this group cannot be used as a criterion for classification.