

一个链霉菌新种及其灭蚊效果*

刘南欣 黄为良 谢以权 朱涤芳

(广东省昆虫研究所, 广州)

何灌田 阎逊初 张国伟 邢桂香

(广东省卫生防疫站, 广州) (中国科学院微生物研究所, 北京)

对具有灭蚊效果的链霉菌 No. 7180 进行了形态、培养特征和生理生化特性的研究, 认为与已知的近似种都不相同, 是一个新种, 定名为灭蚊链霉菌 (*Streptomyces culicidicus* Yan et al. n. sp.), 它的培养物对中华按蚊、致乏库蚊、二带喙库蚊、三带喙库蚊、褐尾库蚊、骚扰阿蚊等幼虫有显著的毒杀效果。

应用微生物杀虫剂, 具有选择性强, 比较安全和一般不易引起抗性等优点, 是害虫防治工作的一个新方向。在国外, 曾有人对蚊子病原体包括真菌、细菌、病毒、线虫和原生动物等进行过许多研究, 但尚未见到有关链霉菌用于现场灭蚊的成功报道。几年来, 我们开展应用微生物灭蚊研究工作。在实验室内筛选试验中, 发现由上海植物生理研究所提供的链霉菌 No. 7180 菌株对中华按蚊 (*Anopheles hyrcanus sinensis* W.)、致乏库蚊 (*Culex fatigans* W.)、二带喙库蚊 (*Culex bitaeniorhynchus* Giles)、三带喙库蚊 (*Culex tritaeniorhynchus* Giles)、褐尾库蚊 (*Culex fuscus* W.)、骚扰阿蚊 (*Armigeres obturbans* W.) 等幼虫有明显的毒效, 摇瓶发酵液稀释 1—2 千倍可杀死致乏库蚊幼虫 90% 以上。后经菌种选育, 有效浓度提高到 4—6 万倍。该菌经阎逊初等鉴定, 属于灰褐类群, 与已知相似种有明显区别, 认为是新种, 根据其培养物有灭蚊效果的特点, 定名为灭蚊链霉菌 (*Streptomyces culicidicus* Yan et al. n. sp.)。

灭蚊链霉菌的分类鉴定

(一) 形态特征

孢子丝直或柔曲, 孢子长圆至柱形, 表面光滑 (图 1)。

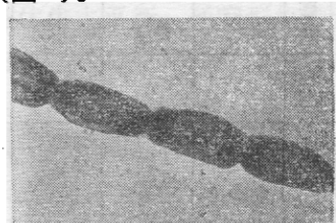


图 1 灭蚊链霉菌 No. 7180 孢子形态 (10000×)

(二) 培养特征

蔗糖察氏琼脂: 不生长。高氏合成一号琼脂: 气丝绒状, 浅粉灰, 浅褐灰。基丝巧克力棕。可溶色素由软木黄转落叶棕。葡萄糖天门冬素琼脂: 气丝同上。基丝中红灰转淡咖啡, 可溶色素淡黄至软木黄。葡

本文于 1977 年 12 月 26 日收到。

* 电镜照片承中国科学院生物物理研究所电镜组拍摄。

肇庆地区农业微生物厂、肇庆地区、市卫生防疫站、开平县微生物厂、开平县中医院、佛山市卫生防疫站、花县农科所等单位参加了部分试验工作。

表1 灭蚊链霉菌与相近种的比较

种 名	形 态	蔡氏琼脂	葡萄糖天门冬素琼脂	碳 源 利 用 或 生 理 活 性								拮抗性和抗菌素	
				阿拉伯糖	木糖	葡萄糖	果糖	蔗糖	鼠李糖	棉子糖	肌醇		甘露醇
灭蚊链霉菌 (<i>Sireptomyces entelidicus</i> n. sp.)	孢子长圆至柱形	不长	气丝浅褐灰，基丝淡咖啡，可溶色素浅黄至暗黄	+	-	+	(+)	-	-	(+)	-	+	抑制枯草杆菌、产金青霉、白色假丝酵母，对金黄色葡萄球菌、分枝杆菌607、大肠杆菌无作用
不产色链霉菌 ^[6,8] (<i>S. achromogenes</i>)	孢子柱形		气丝少，黄白，基丝黄褐，可溶色素无或略褐	+	-	+	+	-	(+)	-	+	(+)	抗病毒的无色病毒毒素 Achromovirumycin
烟色链霉菌 ^[6,11] (<i>S. fumosus</i>)	孢子柱形大横隔分裂	生长	气丝深褐或灰色，基丝深褐或沙灰，可溶色素沙灰后浅黄	0	±	±	+	-	-	±	+	-	强烈抑制金黄色葡萄球菌和几种芽孢杆菌
栗色链霉菌 ^[7] (<i>S. castaneus</i>)	孢子椭圆形至柱形		气丝深灰，基丝无色至淡黄，色素无至淡黄	0	±	+	+	+	-	±	±	-	抑制枯草杆菌、对产金青霉、白色假丝酵母无作用
栗色浑圆链霉菌 ^[7] (<i>S. castaneoglobosus</i>)	孢丝很短，孢子球形至卵圆		气丝灰色，基丝和可溶色素栗棕至深红褐	0	±	±	+	-	±	±	+	+	对枯草杆菌和产金青霉作用可疑，对白色假丝酵母无作用
泛温链霉菌 ^[6,12] (<i>S. eurythermus</i>)	孢子卵圆		气丝灰白至暗灰，基丝黄白，可溶色素栗褐	+	+	+	+	+	-	(+)	-	+	产安哥拉霉素、抑制阳性细菌
橄榄褐链霉菌 ^[11] (<i>S. olivobrunneus</i>)	孢子卵圆		气丝灰，基丝灰褐，可溶色素黄褐，转嫩褐	+	+	+	+	+	+	+	0	+	产生放线菌素 D，强抑制金黄色葡萄球菌、枯草杆菌，对阴性细菌、酵母和丝状真菌无作用
<i>S. sp. 539-C₁</i> ^[13]	孢丝短，孢子球形	生长	气丝褐色，基丝浅褐，(最初珊瑚红)，可溶色素浅褐	+	+	+	+	+	+	+	+	+	产生杀孢菌素 Mycosporidin 抑制阳性细菌
<i>S. sp. 1aA</i> ^[9,10]	孢丝短，孢子球形	生长	气丝灰色，基丝褐，可溶色素浅褐										抗生抗菌素，对阳性细菌和包括绿脓杆菌的阴性细菌有作用
柱形孢链霉菌 ^[6] (<i>S. cylindrosporus</i>)	孢子长圆至柱形	生长	气丝灰白，基丝褐色，无可溶色素褐色										未表现拮抗性
浑圆链霉菌 ^[6] (<i>S. globosus</i>)	孢丝很短，孢子球形至卵圆		气丝暗灰，基丝暗褐，可溶色素暗褐										未表现拮抗性

*“+”利用；“(+)”利用较差；“-”不利用；“0”未测定，无资料；“±”利用可疑。

葡萄糖酵母膏琼脂: 气丝薄, 暗灰至黄灰。基丝深棕褐至褐黑。可溶色素深棕褐至暗驼棕。马铃薯块: 气丝少, 块顶端浅灰微黄。基丝深褐至黑色。块中灰驼。可溶色素芒果棕至柞叶棕。

(三) 生理生化特性

明胶液化相当快, 黑褐色素。牛奶先凝固后脓化, 呈黑褐色素。淀粉水解弱。纤维素上不生长。在有机培养基内产生类黑色素。

(四) 碳源利用

利用 L-阿拉伯糖、D-葡萄糖、D-甘露醇, 轻度利用 D-果糖、棉子糖, 不利用 D-木糖、蔗糖、L-鼠李糖、DL-肌醇。

(五) 拮抗性

对所试枯草杆菌、产金青霉、白色假丝酵母有抑制作用。对金黄色葡萄球菌、分枝杆菌 607、大肠杆菌无作用。

灭蚊链霉菌与已知的孢子丝直, 孢子表面光滑, 在合成培养基上气丝灰色, 基丝褐色的相似种比较, 有着显著的差别。比较结果列于表 1。

灭蚊链霉菌培养物的灭蚊效果

(一) 培养物的制备

用麸皮斜面接种在黄豆饼粉复合培养

基中, 在 28—31℃ 培养 3—4 天的培养物, 过滤得滤渣, 干燥粉碎成菌粉使用。

(二) 室内灭蚊效果

供试的菌粉采用广东省肇庆地区农业微生物厂、开平县微生物厂、花县农科所试验工厂的小批罐产品。选用华南最普通的致乏库蚊幼虫为主要对象。试验幼虫是野外或室内饲养得到的卵块, 孵化后用 10% 酵母膏溶液饲养而来。毒杀试验采用浸液法, 用直径 15 厘米、深 4.5 厘米的白色搪瓷缸, 盛装经脱氯的自来水或井水 200 毫升; 投药前预先选取三龄末四龄初的健康幼虫 40 条饲养其中。试验时按要求的浓度, 将一定量的菌粉稀释液缓慢加入缸内, 同时饲给酵母膏饲料, 每个试验处理设三个重复, 并设空白对照。24 小时后检查幼虫死亡率。结果见表 2。

结果发现杀死蚊幼达 90% 以上的浓度为每毫升含菌粉 2—5 毫克以下(相当于稀释 40—60 万倍)。蚊幼吞食灭蚊链霉菌后, 一般经一小时即呈中毒症状, 表现反应迟钝, 身体失去平衡, 通常群集漂浮于水面, 直至死亡; 随后肌肉松弛, 身体变长, 经震动或摇动沉于水底, 尸体颜色逐渐变黑。

幼虫中毒后的死亡速度, 随使用浓度和温度的差异而不同, 在 25—30℃ 室温

表 2 室内毒杀幼蚊效果

稀释倍数 (菌粉毫 克/升)	10万	20万	30万	40万	50万	60万	80万	100万	130万	150万	200万	对
	(10)	(5)	(3.33)	(2.5)	(2.0)	(1.67)	(1.25)	(1)	(0.77)	(0.67)	(0.5)	照
批号												
1	89.2	74.2	—	—	—	—	—	—	—	—	—	15
2	99.4	92.7	90.0	88.25	80.6	70.6	48.1	21.3	19.4	7.5	5.6	0.6
3	98.5	94.6	82.1	68.8	69.2	56.7	33.4	30.6	27.9	13.8	12.5	0
4	100	100	97.2	95.6	95.6	96.6	88.8	83.8	70.5	49.7	29.2	0
5	100	97.4	97.2	91.2	86.1	76.6	75.3	55.4	56.3	26.9	27.1	0.7
6	100	100	99.4	99.8	94.7	89.7	67.5	63.1	55.3	47.8	41.7	0.3
7	100	98.8	97.5	100	100	98.8	97.8	97.5	95.0	93.8	77.5	0
8	—	100	—	100	—	100	98.8	98.3	95.0	92.5	95.6	1.9

表3 野外采

试验日期 (年·月·日)	地 点	孳生地类型	面积(米 ²)	水深(厘米)	水温(°C)	pH 值	菌粉稀释 浓 (万倍)
73.10.28	佛冈县	积 水 缸	0.53	20	19—20	7	5
73.10.24	湛江市	污 水 潭	2.1	8.2	23.5		1.8
74. 4. 5	肇庆市	农田水沟	0.84	20	23.5—27	6.8—7	2
74. 4. 21	肇庆市	积 水 洼	2.6	14	21—21.5	7	2
74. 5. 4	广州市	污 水 池	14.7	39	24.5—28	7—7.2	2
74.11. 2	肇庆市	粪 水 池	3.24	100	20—23	7—7.5	2
74.11. 2	肇庆市	农田水沟	7.26	25	21—24	6	2
74. 4. 14	肇庆市	污 水 塘	137.9	55	22—30.5	7.2—7.5	2.7
74. 4. 15	肇庆市	粪 水 池	3.4	30	23—24	7—7.4	3
74. 4. 21	肇庆市	积 水 池	2.7	70	23—24	6.5—6.8	3
74. 4. 21	肇庆市	积 水 池	2.24	24	21—21.5	6.8—7	3
74. 4. 18	肇庆市	积 水 池	2.18	127	22.5—23.5	7—7.2	5.3
74. 4. 15	肇庆市	积 水 池	2.18	127	23	7—7.5	2.6
75. 5. 31	肇庆市	污 水 缸	0.9	32	25—25.5	6.5	5
75. 6. 4	肇庆市	污 水 沟	24.4	40	28.5	6.7—7	5
76. 5. 4	广州市	积 水 池	6.4	59	22—24.5	5.5	5.9
76. 5. 6	佛山市	陈旧粪料池	4.1	9.7	25*	5.8	5
76. 5. 6	佛山市	陈旧粪料池	4.1	100	25*	6.2	7
76. 5. 6	佛山市	陈旧粪料池	5.96	95	25*	5.8	7
76. 5. 29	佛山市	有生活污水 流入的排涌	61	50	31*	6.0	7
76. 5. 4	广州市	积 水 洼	1.07	7	22—24.3	5.5—6.3	10

注: *只测气温。

蚊试验记录

菌粉来源	处理前幼虫数 (条)	处理后 24 小时		处理后 48 小时		备 注
		幼虫数(条)	死亡率(%)	幼虫数(条)	死亡率(%)	
试 验 室	130	2	98.5	—	—	库蚊
省微生物 研究所试产	1254	227	73.9			库蚊
肇庆地区农 业微生物厂	865	17	98	14	98.3	库蚊
肇庆地区农 业微生物厂	1888	193	89.3	—	—	阿蚊
肇庆地区农 业微生物厂	722	47	93.5	4	99.5	库蚊、按蚊
肇庆地区农 业微生物厂	2083	812	61.0	435	79.4	库蚊
肇庆地区农 业微生物厂	49	1	98.0	—	—	库蚊
肇庆地区农 业微生物厂	1491	7	99.5	5	99.7	库蚊
肇庆地区农 业微生物厂	966	4	99.6	0	100	库蚊
肇庆地区农 业微生物厂	271	201	25.8	48	82.3	库蚊为主 按蚊全死
肇庆地区农 业微生物厂	400	141	64.8	—	—	库蚊为主
肇庆地区农 业微生物厂	234	134	42.7	—	—	库蚊
肇庆地区农 业微生物厂	973	538	44.7	282	71.2	库蚊
开平县微生物 厂工业产品	307	4	98.7	—	—	库蚊
开平县微生物 厂工业产品	685	7	98.3	—	—	库蚊
花县微生物 厂工业菌粉	2315	16	99.4			库蚊
花县微生物 厂工业菌粉	690	16	96.2			库蚊
花县微生物 厂工业菌粉	503	78	84.5			库蚊
花县微生物 厂工业菌粉	560	3	99.5			库蚊
花县微生物 厂工业菌粉	1460	16	98.9			库蚊
花县微生物 厂工业菌粉	932	165	82.3			库蚊

下,投药后4小时幼虫即大量死亡,至16小时死亡率便趋于稳定。但当浓度较高或气温较高时,幼虫死亡速度显著变快。

(三) 野外灭蚊试验

1973年至1976年,曾分别在广州市、肇庆、佛山市和开平县等地区进行多次野外孳生地毒杀蚊幼试验。供试菌粉来源与室内试验同,视孳生地水体大小,按所需的试验浓度投入一定量的菌粉。投药前后多点取样,调查活幼蚊数,并根据数量递减情况计算蚊幼死亡率。

试验现场包括农田水沟、旧粪水池、臭水沟、积水洼、积水缸、污水塘和西洋菜田等华南常见的各种类型孳生地。水体一般杂质较多,腐殖质丰富,酸碱度差异较大。试验过程中保持孳生地原来自然状况,结果见表3。

从表3看出,1974年使用浓度二至三万倍,1975年使用浓度五万倍,1976年使用五至七万倍,可杀死蚊幼80%以上。试验表明,灭蚊链霉菌对水温 and 孳生地的pH值适应范围较大,水温较高时杀蚊幼效果较好,而pH的影响则不如温度显著。

(四) 毒性的初步试验

1973年用实验室摇瓶发酵液(杀死蚊幼80%以上的稀释浓度为二万倍)稀释成五千倍拌饲料,连续喂鸭五天,未显示中毒症状。另以上述发酵液原液喂小白鼠,每克体重喂给0.04毫升,每只鼠顿服总剂量达1毫升以上,经多次连续喂饲,也未显示急性中毒现象。此外,1975年又用每公斤体重260毫克剂量的菌粉(第四批产品对蚊幼毒效见表2)饲喂猪和猴子,1976年用野外毒杀蚊幼的使用浓度灌服黄牛(成年牛以每天喝水50市斤计),亦未发现急性中毒症状。试验猪、牛经病理解剖,未见器质性病变;组切片观察,亦未发现明显的病理变化。但此菌对几种家鱼有比较明显的毒

性,必须在使用时加以注意。

讨 论

1. 据对7180号链霉菌的形态,培养特征和生理生化特性的研究,认为它与已知近似种有明显的区别,认为是新种,根据其培养物有灭蚊效果的特点,定名为灭蚊链霉菌(*Streptomyces culicidicus* Yan et. al. n. sp.)。经室内外300多次试验证实,灭蚊链霉菌对多种库蚊、按蚊、阿蚊幼虫有显著的毒效,此外还对几种农业害虫如红萍红丝虫、萍螟、萍灰螟等亦有较好的毒杀效果,田间使用菌粉稀释五至七万倍,可杀死上述害虫80%以上。而且这种杀虫剂易于大量生产,是开展生物防治研究的良好对象。

2. 灭蚊链霉菌只对蚊子的幼虫有效,对成蚊和蛹无效。试验中发现同一批菌粉的毒效与菌粉颗粒的大小有关,颗粒越小,效果越好。这可能与幼虫口器吞食能力有关,同时也与颗粒在水中的悬浮情况为蚊幼取食到的机率有关。因此,在生产中粉碎工艺对产品使用效果有一定的影响,应加以注意。

温度对灭蚊链霉菌毒杀的效果也有一定关系,现场使用时,如能选择气温较高时施药,将收到更好的效果。

3. 鱼类对灭蚊链霉菌比较敏感,现场使用时应避免在鱼塘上游的流动水沟中大量施用,以免出现家鱼中毒死亡事故。

4. 关于灭蚊链霉菌所产生的毒杀蚊子幼虫的产物成份,毒杀机理等问题有待今后研究。

参 考 文 献

- [1] Wright, J. W., Fritz, R. F. & Haworth, J.: *Annual Review of Entomology*, 17: 75—102, 1972.
- [2] Chapman, H. C.: *Annual Review of Entomology*, 19: 33—59, 1974.
- [3] Chapman, H. C.: *Mosquito News*, 36(4):

- 395—397, 1976.
- [4] 居乃琰：微生物学通报，4(4)：43—46, 1977年。
- [5] 罗明典：应用微生物，1976年，第5期第32—36页。
- [6] Waksman, S. A.: The Actinomycetes, Vol. II: 166—167, 205, 213, 218—219, 1961.
- [7] 阎逸初等：微生物学报，10(2)：265—268, 1964。
- [8] Shirling, E. B. and D. Gottlie: Intern. J. Syst. Bact., 18:69—189, 1968.
- [9] Miller, B. M., A. Barreto, Jr. and H. B. Woodruff: Antimicrobial Agents & Chemotherapy, 1961:445—453.
- [10] Lrving Putter and Frank, J. Walf: Antimicrobial Agents & Chemotherapy 1961:454—461.
- [11] Vinogradova, K. A. et al.: Антибиотики, 15:718—721, 1970.
- [12] Corbaz, R., L. Etlinger, and E. Gäumann: Helv. Chim. Acta, 38(2):1202—1209, 1955.
- [13] Nakamura, S. et al.: J. Antibiotics, 10A: 248—253, 1957.

CULICIDE EFFECT OF A NEW SPECIES OF *STREPTOMYCES*

Liu Nan-xin Huang Wei-lian Xie Ye-quan Zhu Di-fang

(Guangdong Institute of Entomology, Guangzhou)

He Guan-tian

(Guangdong Hygienic and Anti-Infectious Disease Station, Guangzhou)

Yan Xun-chu Zhang Guo-wei Xing Gui-xiang

(Institute of Microbiology, Academia Sinica, Beijing)

The powder of culture of *Streptomyces* strain 7180 was proved to be an insecticide remarkably effective against the larvae of several species of mosquitos.

This strain was determined to be a new species and named *Streptomyces culicidicus* Yan et al.

THE MORPHOLOGICAL AND CULTURAL CHARACTERISTICS OF *STREPTOMYCES CULICIDICUS* No. 7180

Chains of spores	Straight to flexuous		
Surface of spore	Smooth		
Media	Aerial mycelium	Substrate mycelium	Soluble pigment
Sucrose-nitrate agar		No growth	
Glucose asparagin agar	Velvety, light pinkish gray light brownish gray	Brownish gray	Light yellow to indian buff 12E5*
Gause's synthetic agar no. 1	Velvety, light brownish gray	Chocolate brown	Indian buff to vandyke brown 7A11
Glucose Yeast extract agar	Thin, dark gray to yellowish gray	Deep brown to brownish black	Deep brown to sepia 8A10
Potato Plug	Scant, light yellowish gray	Deep brown to black	Buffalo 15L11 English oak 15A10

* Maerz, A. & Paul M. R. A dictionary of color 2d ed. 1950