

苏芸金杆菌的一个新变种——云南变种*

王婉瑜 王启方 张雪萍 陈有为
(中国科学院昆明动物研究所, 昆明)

113 菌株是从罹病致死的斜纹夜蛾 (*Prodenia litura* Fabricius) 幼虫体上分离出来的产晶体芽孢杆菌, 其形态、生理、生化及血清学反应与现已知的苏芸金杆菌的各个对比菌株有别, 是一个新变种, 定名为苏芸金杆菌云南变种 (*Bacillus thuringiensis* var. *yunnanensis*)。

苏芸金杆菌群的分类鉴定和利用在国内外已有广泛的研究^[1-6], 新菌株的不断出

表 1 对比变种名称及其血清型

名 称	菌 号	血清型
苏芸金杆菌苏芸金变种 <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>thuringiensis</i>	009	H ₁
苏芸金杆菌毒虫变种 <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>finitimus</i>	021	H ₂
苏芸金杆菌阿莱变种 <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>alesti</i>	E-3	H _{3a-3b}
苏芸金杆菌猝倒变种 <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>sotto</i>	016	H _{4a-4b}
苏芸金杆菌坚夷变种 <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>kenyae</i>	023	H _{4a-4c}
苏芸金杆菌蜡螟变种 <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>galleriae</i>	087	H _{5a-5b}
苏芸金杆菌杀虫变种 <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>entomocidus</i>	010	H ₆
苏芸金杆菌站泽变种 <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i>	096	H ₇
苏芸金杆菌莫里逊变种 <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>morrisoni</i>	021	H ₈
苏芸金杆菌多窝变种 <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>tolworthi</i>	013	H ₉

注: 以上 10 株菌均系武汉大学引自英国。

现丰富了以菌治虫的研究内容, 也促进了生物防治工作的发展。我们于 1972 年在云南保山县潞江坝棉田采得罹病致死的斜纹夜蛾幼虫, 次年从中分离出 113 菌株, 并对该菌的形态、生理、生化、血清学等方面进行了一系列的观察和鉴定工作, 同时与苏芸金杆菌的 10 个变种 (分属 9 个血清型), 分别作了相应的试验对比, 见表 1。

一、113 菌株的形态特征

113 菌株在营养琼脂平板上, 菌落呈灰白色, 干燥扁平, 有皱褶, 边缘不整齐; 在 30℃ 恒温箱中培养 24 小时, 菌落直径 4.5 毫米, 48 小时直径 9 毫米。在肉汤中生长良好, 有菌膜。

用 Casaresgils 鞭毛染色和晶体区别染色^[8,9], 在光学显微镜以及电镜下观察的结果: 113 菌株的营养细胞呈杆状, 两端钝圆, 周身具鞭毛, 19 个营养细胞平均量度单位为微米, $4.49 \pm 0.95 \times 1.72 \pm 0.26$ 。芽孢囊不膨大, 芽孢着生次极端, 另一端形成伴孢晶体。芽孢椭圆形, 41 个平均量度为 $1.8 \pm 0.20 \times 1.04 \pm 0.093$ 。晶体略呈

本文于 1978 年 4 月 11 日收到。

* 本组潘淑英、马骏同志参加了部分试验, 电镜照片承中山大学电镜室拍摄, 血清学鉴定得到湖北省微生物所虫生菌组的指导和帮助。

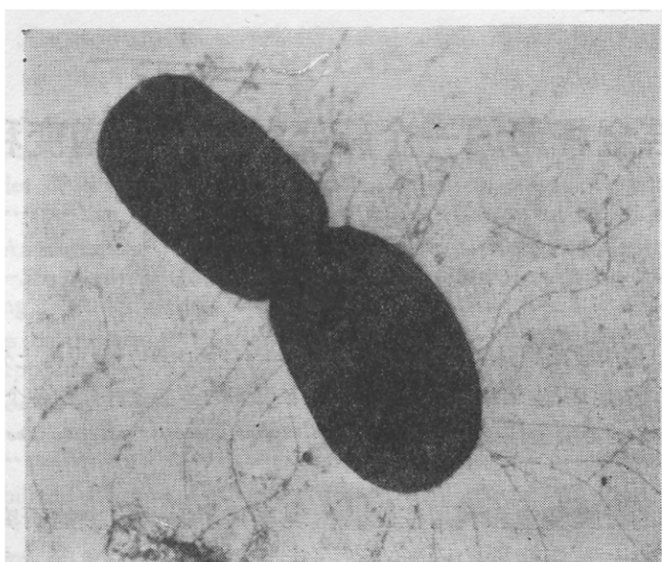


图1 苏芸金杆菌云南变种的营养细胞(8900×)

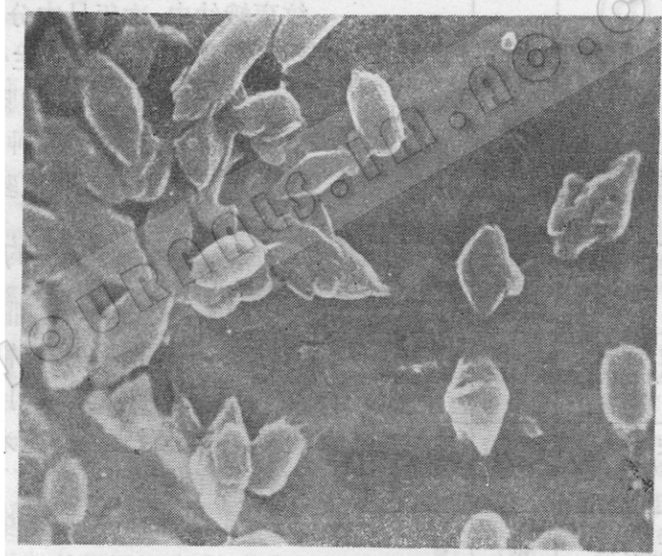


图2 苏芸金杆菌云南变种的伴孢晶体(5000×)

菱形, 26 个平均量度为 $2.49 \pm 0.22 \times 1.35 \pm 0.46$ (图 2)。113 菌株的营养细胞和晶体均大于对比菌株。通过实验证明, 113 菌株对稻苞虫、稻纵卷叶螟、斜纹夜蛾、粘虫等都有一定的致病力。

二、113 菌株的生理生化特性

113 菌株能在营养琼脂、葡萄糖斜面(肉膏, 蛋白胨, 葡萄糖)、麦芽糖斜面(肉

膏, 蛋白胨, 麦芽糖, 酵母)等培养基上生长, 以麦芽糖斜面上生长最佳。18 小时开始出现游离的芽孢和伴孢晶体, 42 小时游离晶体, 芽孢占 95%, 晶体特大。在 28—37℃ 范围内, 温度越高生长越快, 出现游离的晶体、芽孢越早。在 pH 6.8—7.6 的范围内都能生长, 但以 7.2—7.4 之间最为适宜。

(一) 色素

113 菌株和对比菌株分别接种在卵黄

表 2 113 菌株和对比变种在四种培养基上产生的色素

产生色素 试验菌株	培养基	卵黄	马铃薯	麦芽糖	营养琼脂
113		灰绿色	暗灰绿色	深绿色	暗绿色
009		无	无	无	无
021		无	无	无	无
E-3		红色	红色	红色	无
016		无	无	无	无
023		无	无	无	无
087		无	无	无	无
010		无	无	无	无
096		无	无	无	无
021		无	无	无	无
013		无	无	无	无

平板,马铃薯斜面,麦芽糖斜面,营养琼脂斜面上,113 菌株呈现不同程度的绿色。阿莱杆菌在卵黄平板、马铃薯斜面和麦芽糖斜面上呈现红色,其他对比菌株皆不呈现色素,结果见表 2。

(二) 生化反应

各项生化试验按常规方法进行,113 菌株与第 8 血清型的生化反应结果较为接近,仅有色素、脲酶结果不同;与其他对比菌株相比约有半数生化反应结果不同,见表 3。

三、血清学反应

参照 Norris 1964^[20] 的方法制备 H 抗原和免疫血清,鞭毛凝集试验按血清学常规方法进行^[11],结果 11 个试验菌株的滴度都在 5120 以上,见表 4。

表 3 113 菌株与对比菌株生化反应结果*

项 目 菌 株	血清型	V. P. 反应	卵磷 脂酶	水 杨 甙	水 解 蛋 白	色 素 形 成	蔗 糖	菌 膜	脲 酶	七 叶 苷	甘 露 糖	水 解 淀 粉	纤 维 二 糖
113		+	-	-	+	+	++	+	+	+++	-	+	-
009	H ₁	+	+	+	+	-	+	+	-	+++	+	++	
021	H ₂	+	+	+	+	-	+	+	-	+++	-	-	
E-3	H _{3a-3b}	+	+	-	+++	+	-	-	-	+	-	++	
016	H _{4a-4b}	+	+	-	+++	-	+	-	-	+	-	+	-
023	H _{4a-4c}	+	+	+	+	-	-	-	++	+	-	+	
087	H _{5a-5b}	+	-	+	+	-	-	-	+	+++	-	++	
010	H ₆	-	-	-	+++	-	+	-	-	+	-	+	
096	H ₇	+	+	+	+	-	+++	-	-	+	+	+	
021	H ₈	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	++	-
013	H ₉	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+	-
<i>B. thur. var. darmstadensis</i>	H ₁₀	+	-	-	+	-	-	-	-	+	-	++	-
<i>B. thur. var. toumanoffi</i>	H ₁₁	+	+	-	+	-	-	-	++	+	+	++	
<i>B. thur. var. thompsoni</i>	H ₁₂	+	+	+	+	-	+	-	+	+++	+	+	
<i>B. thur. var. pakistani</i>	H ₁₃	+	+	+	+	-	+	+	+	+++	-	++	+

*因没有血清型 H₁₀、H₁₁、H₁₂、H₁₃ 的菌株,其生化反应结果系摘自 De Baejec 等^[2,7]。

表4 试验菌株的免疫血清滴度

菌号	113	009	021	E-3	016	023	087	010	096	012	013
血清型		H ₁	H ₂	H _{3a-3b}	H _{4a-4b}	H _{4a-4c}	H _{5a-5b}	H ₆	H ₇	H ₈	H ₉
滴度	40960	5120	5120	81920	5120	20480	81920	40960	20480	5120	40960

113菌株的抗原和抗血清与10个对比菌株的抗血清和抗原都不发生凝集。对比菌株中各个血清型之间也不发生凝集。

四、结果与讨论

1. 113菌株的12项生化反应结果与第8血清型最为接近,但仍有两项生化反应结果不同;与其他对比菌株相比,11—12项生化反应结果有近半数不同。

2. De Barjac 等^[2]对262株苏芸金杆菌的分类研究与任改新等^[4]对64株苏芸金杆菌菌株的研究表明,生化反应和抗原特性之间有一定的相关性,每个血清型相当于一个生化组,当血清学反应中遇到新的抗原时也同时有新的生化性状出现。113菌株的抗原和抗血清与9个血清型10个变种的抗血清和抗原都不发生凝集,虽然我们没有血清型10—13的菌株以供试验对比,但根据已报道的生化性状^[2,7],113菌有毒素、蔗糖、菌膜、脲酶等4项生化反应与第10血清型(*B. thur. var. darmstadiensis*)不同。有卵磷脂酶、水杨甙、色素、菌膜、甘露糖等5项生化反应与第11血清型(*B. thur. var. toumanoffi*)不同。有卵磷脂酶、水杨甙、色素、菌膜、甘露糖等5项生化反应与第12血清型(*B. thur. var. thompsoni*)不同。有卵磷脂酶、水杨甙、色素、纤维二糖等4项生化反应与第13血清型(*B. thur. var. pakistani*)不同,见表3。可以推想它们的抗血清和抗原也不会与113菌株的发

生凝集。

3. 特别是色素反应,在苏芸金杆菌群中,除阿莱杆菌为阳性反应外,其他对比菌株都为阴性反应,而113菌在4种培养基上生长都呈现不同程度的绿色,见表2。此外在形态上113菌株的营养细胞和晶体,均大于对比菌株,以上说明113菌株有别于对比菌株,故认为是一新变种,定名为苏芸金杆菌云南变种(*Bacillus thuringiensis var. yunnanensis*)。目前国内尚缺第10、11、12、13血清型的菌株与113菌株作血清学反应,为此113菌株的血清型待定。

参 考 文 献

- [1] Heimpel, A. M.: *Ann. Ent.*, 12: 287—322, 1967.
- [2] De Barjac, H. and A. Bonnefoi: *Entomophaga*, 18(1): 5—7, 1973.
- [3] 中国科学院动物研究所昆虫病理组: *昆虫学报*, 16(1): 91—98, 1973.
- [4] 武汉大学生物系微生物专业70级工农兵学员几种杀虫剂的菌种鉴定小组等: *微生物学报*, 15(1): 5—14, 1975.
- [5] 任改新等: *微生物学报*, 15(4): 292—301, 1975.
- [6] 湖北省微生物所虫生菌组: *微生物学报*, 16(1): 12—16, 1976.
- [7] De Barjac, H.: *Acad. Sci. Paris. Serie. D.*, 20(23): 2051—2053, 1977.
- [8] Smirnoff, W. A.: *J. Insect. Pathol.*, 4(3): 384—386, 1962.
- [9] 戴冠群: *昆虫学报*, 17(2): 331—332, 1974.
- [10] Norris, J. R.: *J. Appl. Bact.*, 27(3): 439—447, 1964.
- [11] 齐长才等: 《细菌血清学检验手册》, 人民出版社, 1965.

A NEW VARIETY OF *BACILLUS THURINGIENSIS* —*B. THURINGIENSIS* VAR. *YUNNANENSIS*

Wang Wan-yu Wang Qi-fang Zhang Xue-ping Chen You-wei

(*Kunming Institute of Zoology, Academia Sinica, Kunming*)

A crystalliferous bacterium—strain “113” was isolated from a dead larva of the noctuid moth (*Prodenia litura* F.) found in a cotton field.

The morphological, physiological, biochemical and serological characteristics of strain “113” were compared with those of other varieties of the species.

The results showed that this strain is clearly distinguishable from other strains so far reported.

Thus the authors consider it as a new variety, and the name *Bacillus thuringiensis* var. *yunnanensis* var. nov. is proposed.