

苏芸金杆菌天门变种——“7216”菌的研究

湖北省天门县微生物研究所
(湖北, 天门)

· 中国科学院动物研究所
(北京)

中国科学院武汉病毒研究所
(湖北, 武汉)

1972 年从棉花红铃虫 (*Pectinophora gossypiella* Saunders) 中分离出一株能形成伴孢晶体的芽孢杆菌“7216”。该菌具有苏芸金杆菌 (*Bacillus thuringiensis*) 的典型特征^[1]。血清型属 H_{3a3b}, 但培养特征、生化特性有别于 H₃ 中的阿莱变种和戈尔斯德变种, 认为是苏芸金杆菌的一个新变种, 定名为苏芸金杆菌天门变种 *Bacillus thuringiensis* var. *tianmensis* (7216)。

我们从自然死亡的越冬红铃虫幼虫的尸体中分离到一株产晶体毒素的芽孢杆菌, 代号为“7216”。该菌具有苏芸金芽孢杆菌群的典型特征。毒性试验表明, 对试验动物无致敏反应, 未见病理变化, 是一种比较安全的杀虫菌。本文报道“7216”菌的

生物学特性及分类地位。

材 料 和 方 法

(一) 菌株来源

“7216”菌系从自然死亡的越冬红铃虫的尸体中分离得到。

表 1 对照菌株及其来源

菌 号	菌 名	血 清 型	来 源
009	苏芸金杆菌苏芸金变种 (<i>B. thuringiensis</i> var. <i>thuringiensis</i>)	H ₁	引自武汉大学
021	苏芸金杆菌幕虫变种 (<i>B. thuringiensis</i> var. <i>finitimus</i>)	H ₂	
E ₃	苏芸金杆菌阿莱变种 (<i>B. thuringiensis</i> var. <i>alesti</i>)	H _{3a}	
Kurstaki	苏芸金杆菌戈尔斯德变种 (<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kurstaki</i>)	H _{3a3b}	引自中国科学院动物研究所
016	苏芸金杆菌猝倒变种 (<i>B. thuringiensis</i> var. <i>sotto</i>)	H _{4a4b}	引自武汉大学
023	苏芸金杆菌肯尼亚变种 (<i>B. thuringiensis</i> var. <i>kenyae</i>)	H _{4a4c}	
087	苏芸金杆菌蜡螟变种 (<i>B. thuringiensis</i> var. <i>galleriae</i>)	H _{5a3b}	
010	苏芸金杆菌杀虫变种 (<i>B. thuringiensis</i> var. <i>entomocidus</i>)	H ₅	引自武汉大学
096	苏芸金杆菌帖泽变种 (<i>B. thuringiensis</i> var. <i>aizawai</i>)	H ₇	
012	苏芸金杆菌莫里逊变种 (<i>B. thuringiensis</i> var. <i>morrisoni</i>)	H ₈	
013	苏芸金杆菌多窝变种 (<i>B. thuringiensis</i> var. <i>tolworthi</i>)	H ₉	

本文于 1979 年 1 月 21 日收到。武汉大学生物系协助写外文摘要。

对照菌株来源见表 1。

(二) 形态及培养特征

在牛肉膏蛋白胨琼脂平板上接种, 30℃ 培养 24 小时后观察。

在牛肉膏蛋白胨摇瓶中培养 6—8 小时涂片镜检。

鞭毛及运动性的观察采用半固体平板培养, 转接活化 3—5 代, 取 8 小时左右的培养物制成悬液, 活体观察, 并进行了电镜观察。

(三) 生化反应

各种生化反应均按常规方法进行^[2-4]。

(四) 血清学试验

1. H 抗原的制备: 将各菌株分别接种于半固体平板上进行鞭毛活化培养, 连续 5 次, 然后选取活动性最强的群体接种摇瓶, 置 30℃ 振荡培

养 8—10 小时。离心, 收集菌体, 悬浮于 0.4% 甲醛盐水中, 制成浓的 H 抗原悬液, 再于 30℃ 24 小时灭活后, 置 4℃ 冰箱中保存备用。

2. 抗血清的制备: 将制备的抗原经耳缘静脉注射家兔, 获得抗血清。第 1—2 次注射 0.5 毫升, 第 3—4 次注射 1 毫升, 第 5 次注射 1.5 毫升。除第 4—5 次间隔两天外, 其余每次间隔一天。最后一次注射后的第 5 天, 心脏采血, 分离抗血清, 置冰箱保存。

3. 凝集试验、凝集吸收试验: 按常规血清试验方法进行^[2-4]。

结 果

(一) 形态及培养特征

接种牛肉膏蛋白胨摇瓶培养 6—8 小



图 1 “7216” 鞭毛 (8,800×)

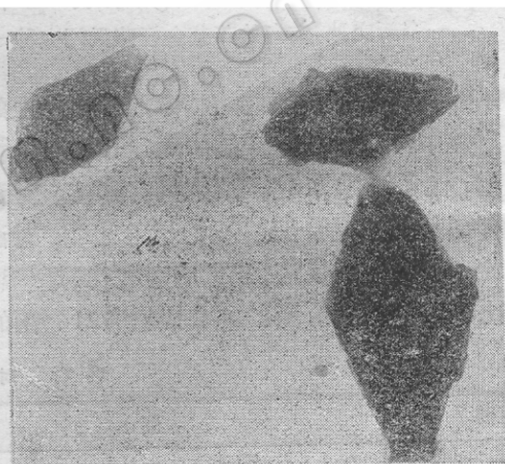


图 2 “7216” 伴孢晶体 (13,200×)



图 3 “7216” 芽孢 (17,600×)

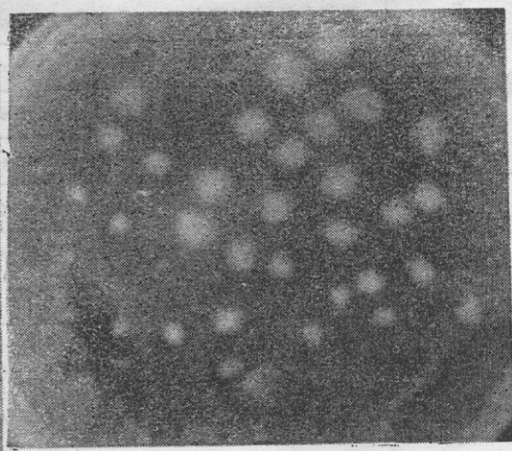


图 4 “7216” 菌落形态

时后观察,“7216”菌具苏芸金杆菌的典型特征:革兰氏染色阳性,营养细胞杆状,两端钝圆,具周身鞭毛(图1),能运动,通常2—4联,多为两联,大小为 1.0×2.4 — 4.4 微米,呈粗短杆状,孢子囊不膨胀,芽孢卵圆形(图2),伴孢晶体多呈短菱形(图3),大小为 0.8 — 1.4×1.5 — 2.6 微米。菌落圆形,表面粗糙,边缘不整齐(图4)。

“7216”菌在牛肉膏蛋白胨琼脂平板培养基上,菌落扩展快,30℃培养24小时,菌落直径可达6—8毫米,且表面常无皱纹。对照菌苏芸金变种、戈尔斯德变种等

通常具有明显的皱纹。

(二) 生化特性

对照菌株基本能重复其原始性状。血清型H₃中3株菌的生化反应结果见表2。

表2结果表明,“7216”菌V.P.反应阳性,卵磷脂酶反应阴性(对照菌阿莱变种、戈尔斯德变种HD₁为阳性),能利用水杨素,在卵黄培养基上不产生色素(对照菌阿莱变种能产生色素),尿酶和七叶灵呈弱阳性反应(对照菌戈尔斯德变种呈强阳性反应),水解淀粉和蛋白能力强,能利用纤维二糖,不能利用蔗糖和甘露糖。

表2 H₃型中3株菌的生化反应结果

项目 菌种	葡萄糖	水解蛋白	蔗糖	纤维二糖	色素	水杨苷	七叶灵	甘露糖	水解淀粉	尿酶	V.P. 试验	菌膜	卵磷脂酶
E ₃	+	++	—	—	+	—	+	—	+	—	+	—	+
HD ₁	+	+	—	+	±	+	++	—	+	++	+	—	+
“7216”	+	++	—	+	—	+	+	—	+	+	+	—	—

注: +发酵; —不发酵; ±弱发酵或结果不定。

表3 交叉凝集试验结果

效价 抗原 抗体	009	021	E ₃	016	023	087	010	096	012	013	“7216”
009	20480	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
021	0	20480	0	0	0	0	0	0	0	0	0
E ₃	0	0	20480	0	0	0	0	0	0	0	10240
016	0	0	0	20480	320	0	0	0	0	0	0
023	0	0	0	5120	20480	0	0	0	0	0	0
087	0	0	0	0	0	20480	0	0	0	0	0
010	0	0	0	0	0	0	20480	0	0	0	0
096	0	0	0	0	0	0	0	20480	0	0	0
012	0	0	0	0	0	0	0	0	20480	0	0
013	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20480	0
“7216”	0	0	10240	0	0	0	0	0	0	0	20480

表 4 交叉凝集吸收试验结果

抗血清	吸收抗原	试 验 菌		
		阿莱变种	戈尔斯德变种	"7216"
阿莱变种	—	10240	10240	10240
	戈尔斯德变种	80	—	—
	"7216"	40—80	—	—
戈尔斯德变种	—	10240	10240	10240
	阿莱变种	—	160—320	160—320
	"7216"	—	—	—
"7216"	—	10240	10240	10240
	阿莱变种	—	160—320	160—320
	戈尔斯德变种	—	—	—

(三) 血清反应

经鉴定, "7216" 菌属苏芸金杆菌血清型 H₃。交叉凝集试验结果见表 3。

为了证明 "7216" 菌与阿莱变种、戈尔斯德变种的抗原成份是否完全相同, 我们进行了交叉凝集吸收试验, 结果见表 4。

表 4 表明, 苏芸金杆菌阿莱变种、戈尔斯德变种和 "7216" 菌之间均能发生强烈的交叉凝集反应, 说明它们都具有一个共同的抗原成份 a; 阿莱变种的抗血清被戈尔斯德变种的抗原吸收后, 仍能以较低的效价与本抗原相凝集; 阿莱变种的抗血清被 "7216" 菌的抗原吸收后, 也能以较低的效价与本抗原相凝集; 戈尔斯德变种的抗血清被阿莱变种的抗原吸收后, 仍能以较高的效价与本抗原和 "7216" 菌的抗原相凝集; "7216" 菌的抗血清被阿莱变种的抗原吸收后, 也能以较高的效价与本抗原和戈尔斯德变种的抗原相凝集。由此说明, 戈尔斯德变种与 "7216" 菌均有一个第二抗原成份 b, 这是阿莱变种所缺少的。因此, 阿莱变种的血清型应为 3a, "7216" 菌与戈尔

斯德变种为同一血清型, 即 3a 3b。

综上所述, "7216" 菌的生化反应、血清抗原成份与阿莱变种不同。"7216" 菌的血清抗原成份虽与戈尔斯德变种相同, 但生化特性却不同, 其毒性也有差别, 故认为 "7216" 与戈尔斯德变种是两个不同的生物型。

参考 de Barjac 和 Bonnefoi 关于苏芸金杆菌分类的论述和检索表, 将 "7216" 菌定为新变种——苏芸金杆菌天门变种 *Bacillus thuringiensis* var. *tianmensis* (7216)。

参 考 文 献

- [1] 刘崇乐等: 《苏芸金杆菌研究的五十年》, 科学出版社, 北京, 1962。
- [2] 中国科学院动物研究所昆虫病理组: 昆虫学报, 16(1): 91—93, 1973。
- [3] 任改新等: 微生物学报, 15(4): 292—301, 1975。
- [4] 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等: 微生物学报, 15(1): 5—14, 1975。
- [5] 湖北省微生物研究所虫生菌组: 微生物学报, 16(1): 12—16, 1976。
- [6] 齐良才等: 《细菌血清学检验手册》, 人民卫生出版社, 北京, 1962。

A NEW VARIETY OF *BACILLUS THURINGIENSIS* BERLINER

Tianmen Institute of Microbiology, Hubei

(*Tianmen*)

Institute of Zoology, Academia Sinica

(*Beijing*)

Wuhan Institute of Virology, Academia Sinica

(*Wuhan*)

A parasporal crystal forming bacillus “7216” was isolated from dead *Pectinophora gossypiella* Saunders in 1972. This bacillus has the typical characteristics of *Bacillus thuringiensis*. Its serotype belongs to H₃, but it is distinguished from variety *alesti* and variety *kurstaki* in cultural characteristics and biochemical reactions. This bacillus is therefore, considered to be a new variety and the trinomial *Bacillus thuringiensis* var.

tianmensis (7216) is proposed.

Bacillus thuringiensis var. *tianmensis* (7216) is easy to cultivate by industrial fermentation and to be used as an insecticide. It is more effective in the control of *Pectinophora gossypiella* than any other microbial insecticides commonly used in this country.

Type culture of this new variety is deposited in Tianmen Institute of Microbiology, Hubei, China.