

## 苏芸金杆菌的酯酶分析

张用梅 陈宗胜

(中国科学院武汉病毒所, 武汉)

用聚丙烯酰胺凝胶电泳分析了 *Bacillus thuringiensis* 20 个变种 21 个菌株的酯酶图型。试验证明, 酯酶的电泳图型与 H 抗原密切相关, 除了个别血清型外, 苏芸金杆菌的每一个血清型都表现出一个不同的酯酶图型。本试验采用的方法优于淀粉凝胶电泳方法, 因而分离的酯酶区带比国外报道的要多, 其图型也有变化。文中还首次报道了 *B. t. var. Kurstaki*、*B. t. var. Ostriniac*、*B. t. var. darmstadiensis*、*B. t. var. toumanoffi*、*B. t. var. thompsoni*、*B. t. var. pakistani*、*B. t. var. israelensis* 和 *B. t. var. yunnanensis* 的酯酶图型, 并将 20 个变种定为 17 个酯酶型。文中讨论了酯酶型与生化特征及血清型之间的关系。改进了的这一方法可用于苏芸金杆菌的快速鉴定中, 本试验得到的各种酯酶图型可为苏芸金杆菌的酯酶分析提供参考。

苏芸金杆菌 (*Bacillus thuringiensis*) 是昆虫病原体中生产规模最大, 使用最广并且研究得较为深入的一种产晶芽孢杆菌<sup>[1,2]</sup>。因此从五十年代末开始, 各国学者相继研究了苏芸金杆菌群的分类, 先后提出了该菌群的检索表<sup>[3,4]</sup>。Norris (1964) 提出用淀粉凝胶电泳分析营养细胞的酯酶图型作为该菌群分类鉴定的方法之一<sup>[5]</sup>。实验证明, 苏芸金杆菌的酯酶图型是该菌各变种的重要特性, 酯酶的电泳图型与 H 抗原之间密切相关, 除了极少数血清型外, 每一个血清型都表现出一个不同的酯酶区带图型, 因而酯酶的电泳分析是苏芸金杆菌分类鉴定的一个指标<sup>[4,5]</sup>。

虽然苏芸金杆菌的酯酶型作为区别该群各变种的指标之一为大家所承认<sup>[4,6,7,8]</sup>, 但在该菌群 16 个血清型 25 个变种中<sup>[5,12-14,17-20]</sup>, 只报道过其中的 12 个变种的酯酶型<sup>[5]</sup>。同时, 当我们采用淀粉凝胶电泳分析苏芸金杆菌酯酶时<sup>[6]</sup>, 发现此方法存在电泳过程烦琐, 实验重复性差及工作效率低等缺点。为了克服这些缺点, 全

面地查明各变种的酯酶图型, 作者采用聚丙烯酰胺凝胶电泳, 对苏芸金杆菌 20 个变种 21 个菌株的酯酶图型进行了分析, 目的在于探讨简便而快速的分类鉴定方法。

### 材料和方法

(一) 电泳装置: 电泳仪用 DYY-III (北京科学仪器修配厂); 和 WY75 型 (湖北省科委试验工厂)。

电泳玻璃管内径 4.4 毫米, 管长 90 毫米。

(二) 试验菌株: 本试验中分析的 21 个菌株号, 变种的名称及其来源列于表 1。

(三) 酯酶的提取: 用 0.3% 牛肉膏, 1% 蛋白胨及 2—2.5% 琼脂固体培养基活化菌种及倒平板。经活化了的菌种移接于上述营养平板中, 在 30—32℃ 下培养 16—17 小时, 收集菌苔加 600—1000 磨粉碾磨破碎菌体, 然后加少许无菌水搅拌均匀后, 以 3000 rpm 离心 30 分钟, 收集上清液置冰箱备用。

(四) 电泳: 凝胶及电泳槽缓冲液采用文献<sup>[9, 10]</sup>中的系统, 凝胶浓度为 10%, 交联度为 2%。点样后, 电泳开始 10 分钟以 1mA/管电流

本文于 1979 年 10 月 10 日收到。

表 1 试验菌株及其来源

菌株号	血清型	变种名称	来源
017	1	<i>thuringiensis</i>	
012	2	<i>finitimus</i>	武汉大学引自英国
011	3a	<i>alesti</i>	
HD-1	3a3b	<i>kurstaki</i>	动物所引自日本
7216	3a3b	<i>kurstaki</i>	天门县微生物站
AF <sub>101</sub>	4a4b	<i>sotto</i>	日本鲇泽启夫教授提供
010	4a4b	<i>dendrolimus</i>	
023	4a4c	<i>kenyae</i>	武汉大学引自英国
015	5a5b	<i>galleriae</i>	
140	0	<i>wuhanensis</i>	本实验室分离
014	6	<i>entomocidus</i>	武汉大学引自英国
Ay	7	<i>aizawai</i> ("Ay")	日本鲇泽启夫教授提供
006	8a	<i>ostrinae</i>	动物所昆虫病理组提供
016	8a8b	<i>morrisoni</i>	
013	9	<i>tolworthi</i>	武汉大学引自英国
H <sub>10</sub>	10	<i>darmstadiensis</i>	
H <sub>11</sub>	11	<i>soumanoffi</i>	
H <sub>12</sub>	12	<i>thompsoni</i>	动物所引自法国
H <sub>13</sub>	13	<i>pakistanii</i>	
1897	14	<i>israelensis</i>	动物所引自捷克
113	未定	<i>yunnanensis</i>	云南动物所提供

强度进行电泳,此时样品进入凝胶 10 毫米左右,然后电流强度增加 1 倍,在此恒定电流下,直至电泳完毕。电泳历时 32—42 分钟。

(五) 酶带检定: 电泳完毕后,取出凝胶,按文献[11, 12]介绍的方法染色,室温下染色 30—40 分钟,酯酶带呈玫瑰色。倾去染色液加入 7% 醋酸以固定和洗脱。

(六) 结果计算: 记录酯酶区带的迁移距离和溴酚蓝迁移距离后,按下列公式计算出区带的  $E_f$  值。即:

$$\text{区带的 } E_f \text{ 值} = \frac{\text{区带迁移距离}}{\text{溴酚蓝迁移距离}} \times 100$$

计算  $E_f$  值时,一般溴酚蓝的迁移距离为 68—70 毫米。同时将各变种的酯酶图型拍照纪录。

根据各菌株的酯酶区带数目、强弱带分布特征及区带的  $E_f$  值,比较酯酶图型的异同。

为了准确考察苏芸金杆菌各变种的酯酶图型,每个菌株的酶样提取 3—7 批,电泳重复次数一般达 40—70 管次。

## 结 果

在盘状电泳中,苏芸金杆菌各变种的酯酶均能分离出清晰的区带(图版 1, 图版 II-1) 并得到了各变种酯酶区带的  $E_f$  值。我们的这一结果与 Norris 用淀粉凝胶电泳所得的结果<sup>[5]</sup>有明显区别。除了酯酶型 *Dendrolimus* 及 *Alesti* 得到了与 Norris 大致相同的图型外,其余各酯酶型的区带均比 Norris 所分析的数目多,而且酯酶图型也不甚相同。

### (一) 苏芸金杆菌各血清型的酯酶图型

现将苏芸金杆菌各变种的酯酶特征分述如下:

血清型 1: 有 10 条酯酶区带,比淀粉凝胶电泳多分离出 3 个区带。

血清型 2: 有 11 条酯酶区带,比淀粉凝胶电泳多分离出 6 条区带。其图型特征

是, 在  $E_f$  30 处分分离出 1 区带, 强带不在  $E_f$  48 处和 64 处, 而在  $E_f$  74 处。

血清型 3a: 与 Norris 的结果大致相同, 但  $E_f$  值不同。

血清型 3a3b: 供试菌为 *B. t. var. kustaki* 和 “7216”, 两菌的酯酶图型完全相同。酯酶各区带的  $E_f$  值是 24, 48, 64, 70, 75, 81, 83 和 87。但  $E_f$  值为 81 的区带非常弱, 因而在电泳中有时检定不出来。

血清型 4a4b: 在这个血清型中根据生化反应不同, 区分为两个变种, 即 *B. t. var. sotto* 和 *B. t. var. dendrolimus*。Norris 证明该二菌的酯酶型是不同的。在盘状电泳中, *B. t. var. dendrolimus* 得到了 Norris 大致相同的酯酶图型(为 8 条区带), 但  $E_f$  值不同; 而 *B. t. var. sotto* 在我们的试验中, 在两条强带中间分离出  $E_f$  值为 60 的 1 条区带。我们也证明了该两菌的酯酶型的区别较为明显。

血清型 4a4c: 我们新分离出了 3 条区带。酯酶图型的特征是在  $E_f$  值 48 处缺 1 强带, 两个强带的  $E_f$  值分别是 68 和 74, 并在两个强带中出现一条明显的  $E_f$  值为 71 的区带。

血清型 5a5b: *B. t. var. galleriae* 有 8 条酶带。其  $E_f$  值是 24, 48, 64, 70, 75, 80, 84, 87, 阳极端具有 5 条弱带。

血清型 6: *B. t. var. entomocidus* 在淀粉凝胶电泳中只有 4 条区带, 本实验分离出 7 条。在阳极端 ( $E_f$  88 处) 有一强带为其主要特征。

血清型 7: “Ay” 菌株的酯酶图型与 *B. t. var. kustaki* 和 *B. t. var. galleriae* 的图型极为相近。

血清型 8: 属于该血清型的 *B. t. var. morrisoni* ( $H_{8ab}$ ), 我们新分离出两条区带。它们的  $E_f$  值是 24, 48, 63 及 75。其中  $E_f$  值为 24 和 75 的两条酶带是在本实验

条件下新分离出来的区带。我国新发现的另一新变种 *B. t. var. ostriniac* ( $H_{8a}$ )<sup>[13]</sup>, 具有 7 条酶带, 其  $E_f$  值分别为 24, 40, 65, 68, 73, 78 和 88。其中  $E_f$  值 40 和 68 为特征带。

血清型 9: 该型分离出 8 条区带。我们分离出来的区带数比 Norris 增加 1 倍(原为 4 条)。 $E_f$  值 66 和 69 处一对弱带,  $E_f$  值 78, 81, 84 和 88 处具有 4 条弱带, 全部酶带没有强带为其主要特征。

血清型 10: 该型菌株有 7 条酶带。其特征是在  $E_f$  值 48 和 77 两带间有 4 条弱带。

血清型 11: *B. t. var. toumanoffi* 的 8 条区带  $E_f$  值是 22, 40, 47, 52, 59, 69, 73 和 76。其酯酶强带在  $E_f$  值 59 处, 并在此带前有 3 条弱带。

血清型 12: *B. t. var. thompsoni* 具有 11 条酯酶区带。其主要特征是在  $E_f$  70, 76, 80 处有 3 条强带, 并在  $E_f$  39 和 70 之间具有多条弱带。

血清型 13: 该型菌株具有 6 条酯酶带。最主要特征带是  $E_f$  55 处有一条强带, 而缺 48 和 64 两条强带。

血清型 14: 具有 4 条酶带。其图型与 *var. morrisoni* 的酯酶型的区别是具有  $E_f$  值 83 处的酶带, 而缺  $E_f$  75 的酶带。

无鞭毛抗原型 ( $H_0$ ): *B. t. var. wuhanensis* 是苏芸金杆菌中唯一的无鞭毛变种<sup>[6]</sup>。它具有与  $H_{5a5b}$  相同的酯酶图型。

*B. t. var. yunnanensis*: 该菌血清型未定, 但根据其生化特性较为特殊而定为一个新变种<sup>[14]</sup>。其酯酶型也具有特异性, 即为 4 条区带,  $E_f$  值分别为 24, 64, 78 和 90。它与其它 3 个具有 4 条区带的酯酶型 Alesti、Morrison 及 Israel 的图型均不相同。

在分析的菌株中, 我们首次报道了 *B.*

表 2 不同凝胶浓度对分离酯酶区带数及其  $E_f$  值的影响

菌号	凝胶浓度	区带数	各区带的 $E_f$ 值
140	7.5%	5	54, 70, 88, 90, 96
	10%	8	24, 48, 64, 70, 75, 81, 84, 87
HD-1	7.5%	5	59, 66, 71, 78, 95
	10%	7	24, 48, 64, 70, 75, 81, 87
7216	7.5%	5	56, 67, 72, 77, 99
	10%	7	24, 48, 64, 70, 75, 81, 87
013	7.5%	6	48, 57, 76, 83, 87, 92
	10%	8	27, 44, 66, 69, 78, 81, 84, 88

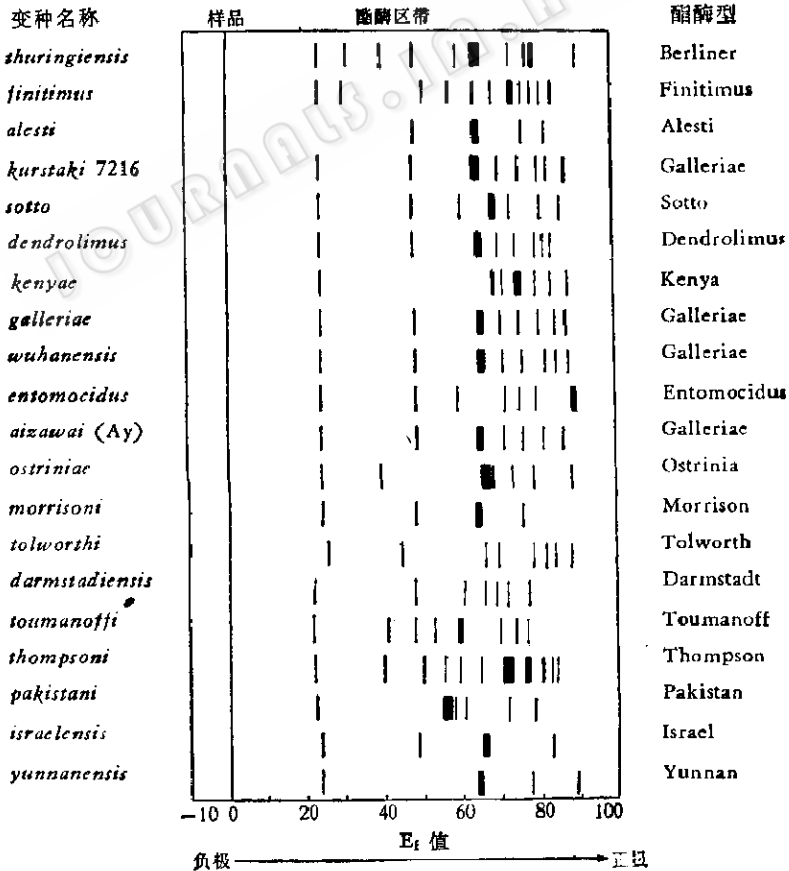


图 1 各变种的酯酶图型

*t. var. ostriniae*、*B. t. var. darmstadiensis*、*B. t. var. toumanoffi*、*B. t. var. thompsoni*、*B. t. var. pakistani*、*B. t. var. israelensis* 和 *B. t. var. yunnanensis* 的酯酶图型。这 7 个变种的酯酶图型均具有特异性。*B. t. var. wuhanensis* 和 7216 ( $H_{3a3b}$ ) 菌株我们曾分别用淀粉凝胶电泳和聚丙烯酰胺凝胶电泳方法报道过它们的酯酶图型<sup>[6,10]</sup>, 但它们的酯酶图型和血清型 1—9 中的各变种一样, 在本电泳系统中具有新的特征。

### (二) 不同凝胶浓度对酯酶图型的影响

不仅用盘状电泳和淀粉凝胶电泳<sup>[9]</sup>得

到了不同的酯酶图型, 而且在相同缓冲系统的盘状电泳中, 用 7.5% 和 10% 凝胶浓度所得到的酯酶图型也是不同的。如 140 菌 ( $H_0$ ) 在 7.5% 凝胶中常出现 5 条稳定区带 (图版 II-2), 而在 10% 中则为 8 条区带 (图版 I、图版 II-1, 图 1), 013 菌 ( $H_9$ ) 在 7.5% 凝胶中, 多出现 6 条区带 (图版 II-2), 但在 10% 凝胶中则为 8 条区带 (图版 I、图版 II-1, 图 1), 另外两个菌株 (HD-1 和 7216) 在这两种浓度中, 同样地不仅区带数不同, 而且相应的  $E_f$  值也有变化 (表 2)。

表 3 苏芸金杆菌各变种的血清型、酯酶型及生化反应

变种名称	菌株号	血清型	酯酶型	生化反应*										
				V·P	卵磷脂酶	水杨苷	水解蛋白	色素形成	蔗糖	菌膜	脲酶	七叶灵	甘露糖	水解淀粉
<i>wuhanensis</i>	140	$H_0$	Galleriae	+	-	+	+	-	-	-	++	+	-	+
<i>shuringiensis</i>	017	$H_1$	Berliner	+	+	+	+	-	+	+	-	+++	+	++
<i>finitimus</i>	012	$H_2$	Finitimus	+	+	+	+	-	+	+	-	+++	-	-
<i>alesti</i>	011	$H_{3a}$	Alesti	+	+	-	+++	-	-	-	-	+	-	++
<i>kurszaki</i>	018	$H_{3a3b}$	Galleriae	+	+	+	+++	±	-	-	++	+++	-	++
<i>kurszaki</i>	7216	$H_{3a3b}$	Galleriae	+	-	+	+	-	-	-	+	+++	-	++
<i>sozlo</i>	AF101	$H_{4a4b}$	Sotto	+	+	-	+++	-	+	-	-	+	-	+
<i>dendrolimus</i>	010	$H_{4a4b}$	Dendrolimus	+	+	-	+++	-	-	-	-	+	-	+
<i>kenyae</i>	023	$H_{4a4c}$	Kenya	+	+	+	+	-	-	-	++	±	-	±
<i>galleriae</i>	015	$H_{5a5b}$	Galleriae	+	-	+	+	-	-	-	+	+++	-	++
<i>entomocidus</i>	014	$H_6$	Entomocidus	-	-	-	+++	-	+	-	-	+	+	+
<i>aizawai</i>	Ay	$H_7$	Galleriae	+	+	+	+	-	-	-	++	+	-	8
<i>ostriniae</i>	006	$H_{8a}$	Ostrinia	+	+	+	+	-	-	+	-	++	+	+++
<i>morrisoni</i>	016	$H_{8a8b}$	Morrison	+	-	-	+	-	+	+	-	+	-	8
<i>tolworthi</i>	013	$H_9$	Tolworth	+	+	+	+	-	+	+	-	+	-	+
<i>darmstadiensis</i>	$H_{10}$	$H_{10}$	Darmstadt	+	-	-	+++	-	-	-	-	+++	-	++
<i>toumanoffi</i>	$H_{11}$	$H_{11}$	Toumanoff	+	+	-	+	-	-	-	++	+++	+	++
<i>thompsoni</i>	$H_{12}$	$H_{12}$	Thompson	+	+	+	+	-	+	-	++	+++	+	+
<i>pakistani</i>	$H_{13}$	$H_{13}$	Pakistan	+	+	+	+	-	+	+	+	+++	-	++
<i>israelensis</i>	1897	$H_{14}$	Israel	+	+	-		+	-	+	-	-	+	8
<i>yunnanensis</i>	113	**	Yunnan	+	-	-	+	+	++	+	+	+++	-	+

\* 有关数据引自文献 [4, 13, 14, 17, 18]。

"Ay" 生化反应未核定, 表中数据引自 *B. t. var. aizawai* 的生化特性<sup>[4]</sup>。

\*\* 血清型未定。

## 讨 论

1. 本实验采用的聚丙烯酰胺凝胶电泳系统, 能将苏芸金杆菌各变种的营养细胞酯酶分离出清晰的区带, 并且其区带数一般明显地多于淀粉凝胶电泳。表明聚丙烯酰胺凝胶电泳具有分辨率高, 重复性好, 操作简便及工作效率高等优点。除了极少数变种具有相同或相近的酯酶型外, 一般说来, 在得到未知菌纯培养物后, 采用此方法可以在 20 小时之内得到鉴定结果。即使是具相同或相近的酯酶型菌株, 也可先用此方法查出酯酶型所指示的变种范围, 进一步进行血清学分析, 可避免为鉴定一个未知菌打开所有变种的抗血清而造成的浪费和鉴定工序的烦琐。我们认为改进了的这一方法可用于苏芸金杆菌的快速鉴定, 本试验中得到的各变种的酯酶图型可为该类菌的酯酶分析提供参考。

2. 本试验中分析的 21 个菌株, 根据其酯酶图型的特征, 参考 Norris<sup>[5]</sup> 决定酯酶型的方法, 我们将这 21 个菌株定为 17 个酯酶型(图版 I、图版 II-1, 图 1) 其中血清型 1—9 中的 12 个变种, Norris 定为 10 个酯酶型。在 10% 聚丙烯酰胺凝胶电泳中, 虽然酯酶图型与淀粉凝胶电泳不大相同, 而且区带数大为增多, 但是这 10 个酯酶型之间, 在聚丙烯酰胺凝胶电泳中均各自具有其特异性。因此, 仍应保留这 10 个酯酶型的名称; 另外, 当我们考察 *B. t. var. galleriae*, *B. t. var. wuhanensis*, *B. t. var. kurstaki*, “7216” 和 *B. t. var. aizawai* (Ay) 的酯酶型时, 发现前 4 个菌株靠阳极端第 3 条区带极弱, 其电泳行为很不稳定; *B. t. var. aizawai* (Ay) 与上述 4 个菌比较, 该带更加微弱, 一般检定不出来(图 1)。因此, 我们将此 5 个菌株的酯酶型都归并为同一个酯酶型——*Galleriae*; *B. t. var. den-*

*drolimus* 的酯酶图型与酯酶型 *Galleriae* 的区别在于阳极端几条弱带略强, 而且其  $E_r$  值较低; *B. t. var. ostrinia*, *B. t. var. darmstadiensis*, *B. t. var. toumanoffi*, *B. t. var. thompsoni*, *B. t. var. pakistani*, *B. t. var. israelensis* 和 *B. t. var. yunnanensis* 的酯酶图型均与上述 10 个酯酶型不同, 因而我们将它们定为新的酯酶型, 分别命名为酯酶型 *Ostrinia*, *Darmstadt*, *Toumanoff*, *Thompson*, *Pakistan*, *Israel* 和 *Yunnan*。

3. 除了 *B. t. var. kurstaki*、*B. t. var. aizawai* (“Ay”)、*B. t. var. galleriae* 和 *B. t. var. wuhanensis* 的酯酶图型相同或相近外, 各变种的酯酶型是与血清型密切相关的, 即每一个不同的血清型具有一个不同酯酶型。酯酶型与部分变种的生化特征相关, 如 *B. t. var. kurstaki* 和 *B. t. var. aizawai*, *B. t. var. galleriae* 和 *B. t. var. wuhanensis* 这两对生化特征相同的变种具有相同的酯酶型。然而酯酶分析比生化反应更灵敏, 即使生化特征相同或相近的变种(如 *B. t. var. alesti* 和 *B. t. var. dendrolimus*, *B. t. var. Kurstaki* 和 *B. t. var. kenyac*), 其酯酶型各异。此外, 血清型相同的变种 (*B. t. var. sotto* 和 *B. t. var. dendrolimus*) 也具有不同酯酶型和不同生化特性的例子(表 3)。上述结果表明, 生化特征、血清型和酯酶型三项鉴定指标, 是互为相关而又互为补充的。

4. 在本电泳系统中, 10% 凝胶浓度比 7.5% 的分辨率高(表 2)。但样品的分离效果及区带的  $E_r$  值还受缓冲系统的离子强度、pH、加速剂和催化剂的量、聚合及电泳温度和样品的浓度的影响, 因而必须稳定上述条件, 才能得到稳定的结果。

5. 酯酶提取后应立即进行电泳分析, 最好当日分析完毕。否则低活性组分易于失活。

6. “7216”菌株和 HD-1 的酯酶型和血清型完全相同, 生化特征除了卵磷脂酶一项 HD-1 为“+”、“7216”为“-”以外, 其它生化反应也相同。在 *B. t. var. galleriae* 中, 同时存在着卵磷脂酶“+”和“-”反应的血清型完全相同的菌株<sup>[13]</sup>, 故仅凭卵磷脂酶一项差异将“7216”定为一个新变种是欠妥的<sup>[14]</sup>, 笔者认为“7216”仍属 *B. t. var. kurstaki*。同样, 血清型 6 中两个变种 (*B. t. var. subtoxicus* 和 *B. t. var. entomocidus*) 仅根据有无菌膜和对同一昆虫具有不同致病力来区分也是不严格的, 该两菌也应并作为一个变种 *B. t. var. entomocidus*, 取消 *B. t. var. subtoxicus*。因为菌膜是个微小的差异, 致病力并不能作为分类的依据, 即使是同一个变种的不同分离物其致病力相差很大<sup>[16]</sup>。

### 参 考 文 献

- [1] 湖北省微生物研究所虫生菌组: 微生物学报, 16(1):75—81, 1976年。  
 [2] Burges, H. D. and N. W. Hussey: Microbial Control of Insects and Mites, 广东农林学院林学系等译: 《昆虫和螨类的微生物防治》, 科学出版社, 北京, 1977年, 第45—65页。  
 [3] Heimpel, A. M.: Ann. Rev. Ent., 12: 287,

1967.

- [4] De Barjac, H. and A. Bonnefoi: Entomophaga, 18(1): 5—17, 1973.  
 [5] Norris, J. R.: J. Appl. Bact., 27(3): 439—447, 1964.  
 [6] 湖北省微生物所虫生菌组: 微生物学报, 16(1): 12—16, 1976年。  
 [7] 鮎沢启夫: 化学と生物, 14(4): 214—221, 1976。  
 [8] 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年。  
 [9] 兰州生物制品研究所生化组: 生物化学与生物物理进展, 1978年第4期, 45—48页。  
 [10] 张用梅等: 微生物学通报, 6(1): 6—9, 1979年。  
 [11] Norris, J. R. and H. D. Burges: J. Insect Pathol., 5: 460—472, 1963.  
 [12] Baillie, A. and J. R. Norris: J. Appl. Bact., 26(1): 102—106, 1963.  
 [13] 任改新等: 微生物学报, 15(4): 292—301, 1975年。  
 [14] 王婉瑜等: 微生物学报, 19(2): 117—121, 1979年。  
 [15] 邹家兴, 文昌明: 微生物学通报, 6(2): 45—46, 1979年。  
 [16] Burges, H. D. and N. W. Hussey: Microbial Control of Insects and Mites 广东农林学院林学系等译: 《昆虫和螨类的微生物防治》, 科学出版社, 北京, 1977年, 第433页。  
 [17] De Barjac, H. et al.: C. R. Acad. So. T., 284: 2051—2053, 1977.  
 [18] De Barjac, H.: C. R. Acad. So. T. 286: 797—800, 1978.  
 [19] Delucca II, A. J. et al.: J. Invert. Pathol., 34(3): 323—324, 1979.  
 [20] Michio Ohba and Keio Aizawa: J. Invert. Pathol., 33: 387—388, 1979.

## ANALYSIS OF ESTERASE PATTERNS OF *BACILLUS THURINGIENSIS*

Zhang Yongmei and Chen Zongsheng

(Wuhan Institute of Virology Academia Sinica, Wuhan)

We have used the technique of polyacrylamide gel electrophoresis to study the esterase patterns of 21 strains belonged to 20 varieties of *Bacillus thuringiensis* and have shown that the feature of esterase bands obtained by this method differ from that by starch gel electrophoresis.

In the present work the esterase patterns of *B. t. var. Ostriniae*, *B. t. darms-*

*tadiensis*, *B. t. var. toumanoffi*, *B. t. var. thompsoni*, *B. t. var. pakistani*, *B. t. var. israelensis* and *B. t. var. yunnanensis* are first reported and considered as new esterase patterns.

In the present paper a simple and rapid method of esterase analysis is described. Which may be used for the classification of *Bacillus thuringiensis*.