

几种苏芸金杆菌晶体的毒力及形态结构

李荣森 陈 涛

(中国科学院武汉病毒研究所, 武汉)

研究了苏芸金杆菌 (*Bacillus thuringiensis*) 6 个变种的 7 个菌株的提纯晶体对家蚕 (*Bombyx mori*) 和棉铃虫 (*Heliothis armigera*) 的毒力及其在电镜下的形态与结构。证明 7 种晶体对两种昆虫的毒力大小有不同的顺序。方形晶体和具镶嵌形的菱形晶体对两种昆虫皆有较高毒力, 细小菱形晶体的毒力皆很低, 不规则的颗粒状晶体和六角形晶体不显示毒性或仅具很低毒性。不同晶体的表面结构亦有差异。并证明方形晶体和两种具镶嵌型构造的菱形晶体易受超声波破坏, 小菱形及其它两种非菱形晶体对超声波有较大抗性。认为苏芸金杆菌晶体的形态结构及其对超声波的抗性与它们对鳞翅目昆虫的毒力之间有一定关系。

已知苏芸金杆菌 (*Bacillus thuringiensis*) 的蛋白质晶体毒素是其主要杀虫因子。苏芸金杆菌不同变种或菌株的提纯晶体对昆虫毒力已有较多的报道^[1-7], 证明不同品系晶体的毒力可有很大差异。关于晶体的毒力与其形态结构之间的关系, 早期研究^[8]认为, 不同来源晶体的毒力差异与其光学显微镜下的形态有关; Grigorova 等^[9]在电镜下观察到两种形态结构不同的晶体, 推测此种结构上的不同会影响到它们对昆虫的毒力; 最近报道了镶嵌形晶体的存在^[10, 11], 具此种晶体的菌株有很高的杀虫活性^[12]。反之, Pendleton^[13]证明不同来源晶体的毒力差异是由于晶体抗原成分的不同而与它们在光学显微镜下的形态、大小无关。关于苏芸金杆菌晶体的精细结构曾有专门的研究^[13, 14]。Norris^[15]根据自己的和已有的有关晶体表面和内部精细结构的研究结果, 认为不同变种的晶体的基本结构相似。有人对两个苏芸金杆菌变种的无芽孢突变株和亲株的晶体进行电镜扫描, 指出其形态有异而毒力相同^[16]。这些结果则是直接或间接地支持晶体的毒力与

其形态结构无关的观点。但是, 迄今尚未见到以多种不同苏芸金杆菌品系的晶体进行毒力测定并结合电镜进行形态结构观察的报道。关于晶体的毒力与其形态结构之间的关系尚有进一步探索的必要。

材料与方法

(一) 菌株与培养

采用了以下 7 个菌株: T, (*B.t.* var. *thuringiensis*) 由法国苏芸金杆菌商品制剂中分离出的产方形晶体为主的菌株; 25 (*B.t.* var. *thuringiensis*) 云南省林科所分离; HD-1 (*B.t.* var. *kurstaki*) 引自中山大学; D, (*B.t.* var. *dendrolimus*) 原引自英国, 后自原种中分离出产晶能力较强的菌株; 140 (*B.t.* var. *wuhanensis*) 本组分离; 006 (*B.t.* var. *ostriniae*) 中国科学院北京动物研究所分离; 1897 (*B. t.* var. *israelensis*) 引自北京动物研究所。各菌皆经生化及血清试验证明与标准株相符。

各菌株接种于直径 11.5 厘米、高 2.5 厘米的双重皿中琼脂培养基上, $30 \pm 1^\circ\text{C}$ 下培养 8—12

本文于 1980 年 3 月 21 日收到。

本研究得到陈华癸教授的指导。电镜照片由本所电镜组协助拍摄, 供试昆虫由本所养虫室提供。

天,菌体充分成熟,芽孢、晶体绝大部分脱落。培养基成分(%):蛋白胨 1,牛肉膏 0.3,葡萄糖 0.5,琼脂 2, pH 7.0—7.2。

(二) 晶体的提纯

菌体培养成熟后,刮取菌苔,离心洗涤数次,然后按 Pendleton 与 Morrison^[11] 的双相法分离孢子和晶体以制备纯晶体。如第一次提纯的晶体纯度不够,再重复分离,直至符合要求。于显微镜下观察晶体悬液涂片,每种晶体(系指每个菌株的晶体,下同)做涂片 2 张,共检查 10 个视野,计数晶体与污染的芽孢及孢子囊,最后计算出晶体的纯度。各种晶体的纯度如下: T, 99.8%, 25 99.9%, HD-1 99.2%, D, 99.3—99.6%, 140 99.3—99.9%, 006 100%, 1897 97.7%。

(三) 毒力测定

1. 家蚕的毒力试验: 家蚕品种系苏 12× 东 34, 采用 3 龄头天(8—10 日龄)幼虫。除 006 与 1897 外, 每种晶体用 6 个浓度, 以 0.1% 的吐温 80 无菌蒸馏水配制冻干晶体悬液, 每个浓度放幼虫 30 头, 空白对照为 60 头。先分别将一片足够 30 头家蚕幼虫 24 小时食用的桑叶浸泡于各浓度的晶体悬液中(对照的桑叶则浸泡于 0.1% 吐温 80 无菌蒸馏水中), 并以此悬液均匀涂布桑叶正反两面, 晾干, 每皿中放入一片。皿大小为直径 11.5 厘米, 高 2.5 厘米。玻璃皿置 $24 \pm 1^\circ\text{C}$ 和相对湿度 78% 的恒温恒湿箱中。每 24 小时检查死亡虫数并换新鲜桑叶, 直至 72 小时。006 菌株的晶体使用 3 个浓度, 1897 菌株的晶体用 1 个浓度。

2. 棉铃虫毒力试验: 棉铃虫原种系引自河北省植保土肥研究所, 于本所经人工饲养。毒力测定方法参考 Ignoffo 等^[12] 的饲料表面积法进行, 所用饲养器皿则参照 Ignoffo 等^[12] 所述而作了较大改动。采用 3 龄头天(7—10 日龄)幼虫。除 006 和 1897 的晶体用 3 个浓度外, 每种晶体冻干制品使用 6 个浓度。每个浓度放幼虫 30 头, 空白对照为 60 头。饲养器皿系特制的有 30 个小室的铝盒, 由一个浅盘, 一个有 30 个方形格室的框架和一玻璃盖板组成。铝盘底面积为 16.4×14.4 厘米, 深 2 厘米。把有 30 个格室的铝制框架(截面积与铝盘底面积相同), 上端磨平, 高 5 厘米。在无菌条件下预先于盘中注入约 200 毫升热的人

工合成饲料并使其表面平坦, 饲料厚度约 1 厘米。饲料凝固后, 于每盘的饲料表面加入各种浓度的晶体悬液 2 毫升, 并用玻璃刮铲涂匀, 使每平方厘米饲料表面积上含有一定量的晶体(毫微克/厘米²)。将框架嵌入盘内并用手将框架压进饲料中使其底部接触盘底面, 每盘便形成了 30 个底面积为 2.3×2.3 厘米的格室。每浓度一盘, 每个小格室中放虫 1 头, 每盘共 30 头。放虫后每个框架上面盖以一有垫布的玻璃板, 并用橡皮筋缚紧。将铝盒置 $26 \pm 2^\circ\text{C}$ 、相对湿度 75—80% 条件下培育。每 24 小时检查死亡虫数, 直至 168 小时。

棉铃虫幼虫人工合成饲料成分为: 黄豆粉 108 克, 玉米粉 108 克, 小麦粉 108 克, 酵母粉 27 克, 山梨酸 5.4 克, 尼泊金甲酯 2.7 克, 维生素 C (每片 100 毫克) 30 片, 维生素 B₁ (每片 10 毫克) 30 片, 硫酸链霉素 0.01 克, 琼脂 20 克, 水 2000 毫升。先将少量水加入黄豆粉中, 煮熟; 然后加入玉米粉、小麦粉和 500 毫升水, 煮熟; 再拌入酵母粉、维生素 C、B₁、山梨酸、尼泊金甲酯。另将琼脂融化于余下的水中。将二者趁热混合, 最后加入链霉素, 搅拌均匀即成。

(四) 致死中浓度(LC₅₀)的求出及统计分析

将各种晶体的每个浓度(微克/毫升或毫微克/厘米²)换算成对数值, 相应的死亡率换算成机率值, 按图解法作出剂量-死亡率曲线, 以卡方测定检验曲线的适合性, 最后求出各种供试晶体对两种昆虫的 LC₅₀、95% 可信限度及斜度(b 值)。

(五) 电镜观察

电镜型号为日本 JM-100C 型。

1. 形态: 新鲜晶体样品先以蒸馏水洗涤离心 1 次, 以 5% 的丙酮洗涤离心 1 次, 然后以双蒸馏水洗涤离心 2—3 次。制片样品以钨铍合金或铂投影后于 80KV 下进行观察。如用冻干的晶体样品, 则先于 6000—8000rpm 的匀浆器中搅拌 2 分钟以使晶体分散。

2. 表面结构: 晶体样品除加 1 次 5% 丙酮洗涤外, 其余处理同上。

3. 超声波处理后的晶体形态结构: 将各菌株的新鲜晶体样品皆按湿重作成浓度为 10 毫克/毫升的悬液, 每取 15 毫升晶体悬液于国产 250CSF-76 型超声发生器的试杯中, 以 $21 \pm 1\text{KC}$ 的频率处理 6 分钟。处理后的样品以钨铍合金投影, 于电

镜下观察其形态结构。本试验共进行 2 次。

试验结果

(一) 毒力测定

1. 家蚕: 毒力测定结果见表 1。7 种晶体对家蚕的 LC_{50} (微克/毫升) 平均值分别为: T_2 3.34, 25 3.79, HD-1 3.58, D_2 56.74, 140 1.91; 006 在 135—150 微克/毫升和 1897 在 2×10^8 个晶体/毫升的浓度

下家蚕皆无死亡。各种晶体的毒力高低顺序: $140 > T_2 > HD-1 > 25 > D_2$, 006 与 1897 的晶体无毒力。

2. 棉铃虫: 毒力测定结果见表 2。 T_2 、25、HD-1、 D_2 及 140 的晶体的 LC_{50} (毫微克/厘米²) 分别为 661.2, 15922.5, 563.98, 14174.0, 2272.5; 006 的晶体于 2286.8—4573.6 毫微克/厘米² 的浓度下棉铃虫无死亡, 1897 的晶体在 207×10^5 个晶体/厘米²

表 1 7 个苏芸金杆菌菌株的晶体对家蚕幼虫的毒力

菌 株	试验序号	LC_{50} (微克/毫升)	95% 可信限度	斜 率 (b)	相对毒力指数
T_2	1	4.79	5.77—4.01	2.50	1598.80
	2	2.19	2.52—1.90	3.37	
	3	3.98	4.43—3.58	4.50	
	5	2.09	3.15—1.39	1.16	
	6	3.63	4.88—2.71	1.16	
	平均	3.34			
25	1	2.69	3.11—2.26	2.59	1497.10
	4	5.50	5.99—5.04	3.81	
	5	2.29	2.82—1.86	0.93	
	6	4.68	5.18—4.23	3.07	
	平均	3.79			
HD-1	1	2.63	3.15—2.19	2.81	1584.92
	2	2.88	3.40—2.45	2.41	
	3	5.76	6.25—5.30	3.97	
	4	3.16	3.68—2.72	3.55	
	5	3.47	3.98—3.02	1.32	
	平均	3.58			
D_2	4	23.44	23.88—22.97	2.52	100.00
	5	46.77	47.29—46.27	3.75	
	6	100.00	100.50—99.53	2.50	
	平均	56.74			
140	1	1.74	2.29—1.32	1.87	2970.68
	2	1.00	1.81—0.55	2.41	
	3	1.58	2.14—1.17	2.11	
	5	1.58	2.14—1.17	0.96	
	6	3.63	4.13—3.19	1.98	
	平均	1.91			
006	1	晶体浓度 67.5—135 微克/毫升, 72 小时无死虫			0
	2	晶体浓度 150 微克/毫升, 72 小时无死虫			
1897	1	晶体浓度 2×10^8 个晶体/毫升, 72 小时无死虫			0

表 2 7个苏芸金杆菌菌株的晶体对棉铃虫幼虫的毒力

菌 株	试验序号	LC ₅₀ (毫克/厘米 ²)	95% 置信限度	斜 率 (b)	相对毒力指数
T ₂	1	380.2	596.6—242.2	1.18	2408.12
	2	871.0	1340.0—564.9	1.21	
	3	501.0	828.1—302.3	0.95	
	4	758.6	1137.0—566.0	1.32	
	5	795.1	1213.0—520.2	1.22	
	平均	661.2			
25*	1	4786.0	8145—2813	0.91	100.00
	2	2884.0	3885—1972	1.53	
	3	33110.0	60080—18250	0.81	
	4	22910.0	56250—9300	0.59	
	平均	15922.5			
HD-1	1	363.1	598.4—241.3	1.07	2823.24
	2	691.8	475.7—490.6	1.42	
	3	724.4	789.2—528.2	1.51	
	4	316.2	401.6—249.0	2.18	
	5	724.4	1233.0—425.7	0.98	
	平均	563.98			
D ₂ **	1	5495.0	9343—3232	1.02	112.34
	2	3631.0	4969—2653	1.56	
	3	33110.0	100100—10898	0.43	
	4	14460.0	31460—6641	0.67	
	平均	14174.0			
140	1	1514.0	2281—1001	1.33	700.66
	2	1950.0	2858—1390	1.35	
	3	1995.0	2811—1416	1.40	
	4	3631.0	4359—2888	2.42	
	平均	2272.5			
006	5	晶体浓度 2286.8—4573.6 毫克/厘米 ² , 144 小时无死亡			0
1897	6	晶体浓度 207×10 ³ 个晶体/厘米 ² , 144 小时死亡率 23.1%			

* 所用浓度范围下,死亡率皆低于 50%, LC₅₀ 系由外延法求出。
** 所用浓度范围下,仅试验 4 死亡率超过 50%, 其余的 LC₅₀ 由外延法求出。

的较高浓度下,死亡率仅 23.1%。各种晶体对棉铃虫幼虫的毒力高低顺序: HD-1 > T₂ > 140 > D₂ > 25, 006 的晶体无毒力, 1897 的晶体毒力很低。

(二) 晶体的形态结构

1. 形态: 7 种晶体的形态(图版 I) 可分为 5 种类型。第一类为 HD-1 和 140 菌

株的大而规则的菱形。其中 HD-1 的晶体明显大于其它菌株的菱形晶体, 除菱形外尚有镶嵌形晶体和少量方形晶体(图版 I-3, 箭头示镶嵌形晶体) HD-1 的菱形晶体的大小, 长轴平均为 1.57 微米, 短轴平均为 0.65 微米; 140 的晶体平均长 1.36 微米, 宽 0.57 微米。第二类为 D₂ 和 25 菌株的较细

小的规则菱形晶体, D_2 的晶体尤为细小且
在所有情况下皆显得轮廓清晰而完整。 D_2
的晶体平均长 0.90 微米, 宽 0.40 微米; 25
的晶体平均长 1.26 微米, 宽 0.51 微米。第
三类为 T_2 菌株的方形晶体, 其中少数近方
形和菱形。立方体底面边长平均为 0.70 微
米, 高平均 0.35 微米, 恰为边长的一半。第
四类为 1897 菌株的近六角形晶体, 按圆形
测量, 直径平均为 0.89 微米。第五类为
006 的无规则颗粒状或近圆形的晶体, 按
圆形测量, 直径平均为 0.67 微米。

2. 表面结构: 本研究中未采用负染色
法观察晶体的表面, 而是结合金属喷涂进
行表面结构的观察。菌株 25、HD-1、 D_2 及
140 的晶体表面(图版 II-1—3; 图版 III-4)
皆显示出隆起和下凹相间所形成的平行于
双锥体底面的条纹, 其中 D_2 及 140 晶体的
条纹比较清晰。 T_2 的方形晶体未显示出
典型的表面条纹构造, 但可看到因多次洗
涤后表面剥蚀而暴露出的层次(图版 III-
5)。006 与 1897 的晶体表面皆未见表面的
条纹构造, 但 006 的晶体在经多次洗涤后,
显示有一层厚厚的外被, 中间包围着一个
表面光滑而较透明的物体(图版 III-7), 这
是一种特殊的结构; 1897 的晶体有规则的
形状, 观察中亦未能看到晶体的典型表面
结构(图版 III-6)。

(三) 超声波处理对晶体形态结构的影响

经超声波处理后, 各种晶体的破坏程
度有明显的差异。 T_2 的方形晶体破损程度
最大(图版 IV-2a、2b), 几乎全部晶体的边
缘构造松离而呈波形边饰, 许多晶体残缺。
HD-1 与 140 的晶体破损程度也很大(图
版 II-3 及图版 III-4); 但二者破损的部位
似有不同, 前者主要从中部后者主要从顶
部破损。25 的晶体也有破损, 但程度较前
二者轻微。细小菱形的 D_2 菌株的晶体未

显示有破损。006 与 1897 的晶体亦保持
完整。

经超声波处理后的 HD-1 与 140 的晶
体中皆可见到镶嵌型的构造, 其中有的镶
嵌形晶体的凹陷中的不规则形状的镶嵌体
也可看到(图版 IV-3、5)。

(四) 镶嵌形晶体的结构

在形态和表面结构的观察中, 可见到
HD-1 菌株有残缺形的晶体(图版 I-3; 图
版 V-1—3), 这并非不正常的破损, 而是
一种本来的构造, 即镶嵌型构造。有的研
究者报道 HD-1 的晶体有几种形态的镶嵌
体^[10, 11]。我们所见到 HD-1 菌株的镶嵌形
晶体是由晶体的本体和一种长椭圆形的镶
嵌体嵌合而成(图版 V-1), 镶嵌体的表面
没有规则的条纹构造。虽然在 HD-1 的晶
体中有少部分方形类型, 但并未发现菱形
的晶体同此方形物嵌合的情况, 我们尚不
能确定此方形物不是晶体而系镶嵌体。由
于镶嵌型的这种特殊的结构, 即使在超声
波破碎的晶体中仍可分辨出镶嵌形晶体来
(图版 IV-2—3, 箭头所示)。在本研究中,
HD-1 菌株的镶嵌形晶体较 140 菌株的更
常见。

超声波破碎的晶体和镶嵌形晶体在形
态结构上是不同的。前者的破损程度大、
范围广(图版 IV-2、3、5), 而后者由于镶
嵌体的脱出或在生物合成过程中未形成镶
嵌体所造成的凹陷有一定的部位, 而且晶
体本体与其镶嵌体的形态结构也不相同。

讨 论

上述结果表明, 苏芸金杆菌 6 个变种
的 7 个菌株的晶体, 由于其形态和表面结
构不同, 对家蚕和棉铃虫的毒力有明显
差异, 且在两种昆虫中的毒力高低顺序也
有不同: T_2 的方形晶体对二者皆有较高毒
力; HD-1 的具有镶嵌形的、大的菱形晶体

对棉铃虫毒力最高,对家蚕的毒力与方形晶体相近;140 的具有镶嵌形的、较大的菱形晶体对家蚕毒力最高,对棉铃虫的毒力低于前二种但高于其它 4 种晶体; D_2 和 25 的未见镶嵌形的细小菱形晶体对两种昆虫毒力皆很低(以上几种晶体皆显示有规则的表面结构);无规则形状和表面结构的 006 的晶体对两种昆虫皆无毒性;近六角形的、未见规则表面结构的 1897 的晶体对家蚕无毒,对棉铃虫毒力很低。但据报道^[7,20]1897 菌株对几种蚊子的幼虫是有很高毒力的。

各种晶体经超声波处理后与上述结果比较吻合。方形晶体和具镶嵌形的菱形晶体易受超声波的破坏;细小的菱形晶体、近六角形的及不规则颗粒状的晶体则不易被破坏。考虑到晶体是一种前毒素,需在敏感性昆虫肠道中经过溶解和蛋白酶的作用才能释放出活性毒素,推想晶体的物理结构是否易于崩解可能会影响到这一过程的进行。

综上,我们认为苏芸金杆菌不同品系的晶体,它们的形态结构及其对超声波作用的抵抗力同它们对鳞翅目的昆虫的毒力之间有一定关系。方形和具镶嵌型构造并易受超声波破坏的大菱形晶体看来是对鳞翅目的昆虫具高毒力的晶体类型,而细小菱形和非菱形的并对超声波有抗性的晶体则可能是低毒力的晶体类型。

值得提出的是,有人提到 HD-1 菌株的提纯的立方形物体(认为是镶嵌体)对昆虫无毒^[10],那么此种立方形体就不同于我们所研究的 T_2 菌株的立方晶体,尽管它们在形态上是很相似的。两种非菱形晶体的形态结构也很特殊,它们具有一层厚厚的外衣(006 菌株的)或一层较牢固的膜(1897 的),在我们最近的超薄切片观察中更是清楚地证实了这点(待发表),这种结

构也许与它们对昆虫的毒力有重要关系。

在 *B. t. var. wuhanensis* 140 菌株中也发现有镶嵌形晶体,说明晶体的镶嵌型结构不是罕有的现象,除了 *B. t. var. kurstaki* 和 *B. t. var. wuhanensis* 的菌株以外,其它苏芸金杆菌的菌株中也可能存在这种晶体。镶嵌形晶体与其对昆虫的毒力之间的关系以及在其它苏芸金杆菌品系中镶嵌形晶体存在的情况尚需进一步研究。

目前高毒力苏芸金杆菌菌株的筛选主要依靠繁重而费时的毒力生物测定。虽然晶体蛋白质中毒性抗原的测定或毒性组分的分析都是可以考虑的方法,但根据晶体的形态结构及其对超声波的抗性来选择高毒力菌株,可能是一种比较简便的方法。

参 考 文 献

- [1] Angus, T. A.: *J. Invertebr. Path.*, 9(2): 256—260, 1967.
- [2] Pendleton, I. R.: *J. Invertebr. Path.*, 13(3): 423—428, 1969.
- [3] Yamvrias, C. and T. A. Angus. *J. Invertebr. Path.*, 15(1): 92—99, 1970.
- [4] Dulmage, H. T.: *J. Invertebr. Path.*, 18(3): 353—358, 1971.
- [5] Galowalia, M. M. S. et al.: *J. Invertebr. Path.*, 21(3): 301—308, 1973.
- [6] 中国科学院动物研究所苏芸金杆菌组: 微生物学报, 18(4): 352—354, 1978.
- [7] 徐啓丰等: 微生物学通报, 7(5): 199—201, 1980.
- [8] Евлахова, А. А. и О. И. Швецова; В «Ми. кробиологические Методы Борьбы с Вред. ми Насекомыми» (Ответственный реактор профессор Полтев, В. И.) Изд. АН СССР, Москва, 1963, стр. 24—34.
- [9] Grigorova, I. M. et al.: *J. Invertebr. Path.*, 9(4): 503—509, 1967.
- [10] Sharp, E. S. and F. L. Baker: *J. Invertebr. Path.*, 34(3): 320—322, 1979.
- [11] Johnson, D. E. et al.: *Can. J. Microbiol.*, 26(4): 486—491, 1980.
- [12] Dulmage, H. T.: *J. Invertebr. Path.*, 15(2): 232—239, 1970.
- [13] Labow, L. W.: *J. Ultrastruct. Res.*, 10: 66—75, 1964.
- [14] Holmes, K. C. et al.: *J. Molec. Biol.*, 14: 572—581, 1965.

- [15] Norris, J. R.: *Microbial Control of Insects and Mites* (ed. by Burges, H. D. and N. W. Hussey) Academic Press London and New York, 1971, 229—246.
- [16] Junko Nishiitsutsuji-Uwo et al.: *J. Invertebr. Path.*, 25(3): 355—361, 1975.
- [17] Pentleton, I. R. and R. B. Morrison: *Nature*, 212(5063): 728—729, 1968.
- [18] Ignoffo, C. M. et al.: *J. Econ. Ent.*, 70(1): 60—63, 1977.
- [19] Ignoffo, C. M. and O. P. Boening: *J. Econ. Ent.*, 63(5): 1696—1697, 1970.
- [20] de Barjac, H.: *C. R. Acad. Sc.*, 286(10): 797—800, 1978.

THE TOXICITY AND MORPHOLOGY OF THE CRYSTAL FROM SEVERAL STRAINS OF *BACILLUS THURINGIENSIS*

Li Rongsen Chen Tao

(*Wuhan Institute of Virology, Academia Sinica, Wuhan*)

The toxicity of seven strains of *Bacillus thuringiensis* (below six varieties) to the *Bombyx mori* and *Heliothis armigera* and the morphology under the electronmicroscope was studied. The seven types of the crystal showed different orders of toxicity to the two insects. The square crystal and the diparamidal crystal contained the embedded form showed higher toxicity to the two insects. All of the small diparamidal crystals showed very low toxicity. The crystals of irregular shape and of sexangle showed low or no

toxicity. The surface structures of various crystals were different. And it was demonstrated that the square and the dipyramidal crystals with embedded form were very susceptible to supersonic waves, but the smaller dipyramidal form and the other two indipyramidal forms had stronger resistance. This paper indicates that there is a certain relationship between the morphology of the crystal as well as its resistance to supersonic waves and their toxicity to the Lepidopterous insects.