

## 苏芸金杆菌的一个新血清型

喻子牛 戴经元 周宏斌\* 董章仁\*

(华中农学院土化系, 武汉)

王婉瑜

(中国科学院昆明动物研究所, 昆明)

苏芸金杆菌云南变种 (*Bacillus thuringiensis* subsp. *yunnanensis*) 113 菌株的 H-抗原和 H-抗血清均与已知苏芸金杆菌 H-血清型 1 到 19 的所有参考标准菌株的 H-抗血清和 H-抗原不发生交叉凝集反应。113 菌株的生化反应结果与所有参考标准菌株也不相同。此外, 113 菌株对致倦库蚊 (*Culex pipiens* var. *quinquefasciatus*) (双翅目) 和家蚕 (*Bombyx mori*) (鳞翅目) 幼虫均无毒性。因此, 113 菌株是一个新血清型 20, 即苏芸金杆菌云南变种, 血清型 20 (*Bacillus thuringiensis* subsp. *yunnanensis* H<sub>20</sub>)。

**关键词** 苏芸金杆菌云南变种

根据苏芸金杆菌鞭毛抗原(H)的血清反应和生理生化特性的不同, 已将苏芸金杆菌区分为 19 个血清型 25 个变种。而苏芸金杆菌云南变种 113 菌株<sup>[1]</sup>仅与苏芸金杆菌的部分参考标准菌株进行了比较, 而未与血清型 10、11、12<sup>[2]</sup>、13<sup>[3]</sup>、14<sup>[4]</sup>、15、16<sup>[5]</sup>、17<sup>[6]</sup>、18 和 19<sup>[7]</sup> 的参考标准菌株进行试验比较, 其 H-血清型未能确定。现将 113 菌株的 H-血清型鉴定、生化反应结果和毒力测定结果报道如下。

### 材料和方法

#### (一) 菌种

1. 参考标准菌株的来源见表 1。

2. 113 菌株: 由王婉瑜等分离<sup>[1]</sup>并保存。

#### (二) H-抗原和 H-抗血清的制备及凝集反应

均按 Norris 的方法进行。

#### (三) 毒力测定

1. 感染液的制备: 将 113 菌株和库斯塔克变种 (subsp. *kurstaki*) 接种至牛肉膏蛋白胨斜面培养基上, 32℃ 培养 72 小时制成菌悬液, 用稀释法测定含菌数。

2. 感染: (1) 家蚕 (*Bombyx mori*): 在配成不同含菌量的菌悬液中加入 0.1% 洗衣粉, 搅匀后, 用毛笔涂于桑叶上, 使其表面完全湿润, 晾干后置罐头瓶内。每瓶放三龄家蚕幼虫 20 头, 用 0.1% 洗衣粉溶液作对照, 每种含菌量重复三次, 25—28℃ 饲养, 分别于 24、48、72 小时检查结果。(2) 致倦库蚊 (*Culex pipiens* var. *quinquefasciatus*): 将斜面菌苔刮下, 制成均匀的菌悬液, 用二倍法稀释后, 每个白糖瓷杯 (6×6cm) 内盛稀释液 50ml, 再接入二龄末幼虫 30 只, 重复四次, 置 26±1℃ 下感染 24、48、72 小时, 检查结果。

### 结 果

#### (一) 凝集反应

各参考标准菌株的 H-抗原和(或) H-抗血清与 113 菌株的 H-抗血清和(或) H-抗原的交叉凝集反应的结果均为负。各菌株的同源凝集效价与 113 菌株的凝集反应结果见表 2。

本文于 1983 年 2 月 18 日收到。

本实验得到陈华英教授、周启副教授的指导; H<sub>10</sub> 和 H<sub>11</sub> 抗血清由林开春同志制备, 特此致谢。

\* 农业微生物专业 78 级学生。

表 1 苏芸金杆菌参考标准菌株的来源

Table 1 Sources of the reference standard strains of *Bacillus thuringiensis*

变 种 名 称	血 清 型 (H)	来 源
苏芸金变种 subsp. <i>thuringiensis</i>	H <sub>1</sub>	法国 H. de Barjac 提供
幕虫变种 subsp. <i>finitimus</i>	H <sub>2</sub>	法国 H. de Barjac 提供
阿莱变种 subsp. <i>alesti</i>	H <sub>3a</sub>	法国 H. de Barjac 提供
库斯塔克变种 subsp. <i>kurstaki</i>	H <sub>3a,3b</sub>	美国 H. T. Dulmage 提供
松蠹变种 subsp. <i>dendrolimatis</i>	H <sub>4a,4b</sub>	法国 H. de Barjac 提供
肯尼亚变种 subsp. <i>kenyae</i>	H <sub>4a,4c</sub>	日本 K. Aizawa 提供
蜡螟变种 subsp. <i>galleriae</i>	H <sub>5a,5b</sub>	法国 H. de Barjac 提供
加拿大变种 subsp. <i>canadensis</i>	H <sub>5a,5c</sub>	日本 K. Aizawa 提供
亚毒变种 subsp. <i>subtoricensis</i>	H <sub>6</sub>	法国 H. de Barjac 提供
鲇泽变种 subsp. <i>aizawai</i>	H <sub>7</sub>	法国 H. de Barjac 提供
莫里逊变种 subsp. <i>morrisoni</i>	H <sub>8a,8b</sub>	法国 H. de Barjac 提供
玉米螟变种 subsp. <i>ostriniae</i>	H <sub>8a,8c</sub>	南开大学任改新提供
多窝变种 subsp. <i>tolworthi</i>	H <sub>9</sub>	法国 H. de Barjac 提供
达姆斯达特变种 subsp. <i>darmstadtensis</i>	H <sub>10</sub>	法国 H. de Barjac 提供
图曼诺夫变种 subsp. <i>toumanoffi</i>	H <sub>11a,11b</sub>	法国 H. de Barjac 提供
九州变种 subsp. <i>kyushuensis</i>	H <sub>11a,11c</sub>	日本 K. Aizawa 提供
汤普逊变种 subsp. <i>thompsoni</i>	H <sub>12</sub>	法国 H. de Barjac 提供
巴基斯坦变种 subsp. <i>pakistani</i>	H <sub>13</sub>	法国 H. de Barjac 提供
以色列变种 subsp. <i>israelensis</i>	H <sub>14</sub>	法国 H. de Barjac 提供
达可达变种 subsp. <i>daikoda</i>	H <sub>15</sub>	美国 A. J. DeLucca 提供
印第安那变种 subsp. <i>indianae</i>	H <sub>16</sub>	美国 A. J. DeLucca 提供
东北变种 subsp. <i>tohokuensis</i>	H <sub>17</sub>	日本 M. Ohba 提供
熊本变种 subsp. <i>kumamotoensis</i>	H <sub>18</sub>	日本 M. Ohba 提供
肋木变种 subsp. <i>tochigiensis</i>	H <sub>19</sub>	日本 M. Ohba 提供

表 2 供试菌株的同源凝集效价和参考标准菌株与 113 菌株之间的同源凝集反应结果

Table 2 Homologous agglutination titres of all strains tested and the results of agglutination response among all reference standard strains and 113 strain

H-抗血清	H <sub>1</sub>	H <sub>2</sub>	H-抗原											
			H <sub>3a</sub>	H <sub>3a,3b</sub>	H <sub>4a,4b</sub>	H <sub>4a,4c</sub>	H <sub>5a,5b</sub>	H <sub>5a,5c</sub>	H <sub>6</sub>	H <sub>7</sub>	H <sub>8a,8b</sub>	H <sub>8a,8c</sub>	H <sub>9</sub>	H <sub>10</sub>
同源	40960	5120	5120	—	20480	—	40960	—	20480	40960	5120	—	5120	10240
113 菌株	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0

H-抗血清	H <sub>1</sub>	H <sub>2</sub>	H-抗原											
			H <sub>11a,11b</sub>	H <sub>11a,11c</sub>	H <sub>12</sub>	H <sub>13</sub>	H <sub>14</sub>	H <sub>15</sub>	H <sub>16</sub>	H <sub>17</sub>	H <sub>18</sub>	H <sub>19</sub>	113 菌株	
同源	40960	5120	5120	—	20480	40960	20480	—	40960	40960	1600	6400	20480	
113 菌株	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	20480	

表 3 113 菌株与苏芸金杆菌其他变种的生化特性

Table 3 The biochemical characteristics of strain 113 and other subspecies of *Bacillus thuringiensis*

变 种	V. P. 反应	卵磷酯酶	水杨苷	水解蛋白	色素	蔗糖	菌膜	尿酶	七叶灵	甘露糖	水解淀粉
库斯塔克变种 (subsp. <i>kurstaki</i> )	+	+	+	++	±	—	—	++	++	—	++
松蠹变种 (subsp. <i>dendrolimus</i> )	+	—	—	+++	—	—	—	—	+	—	+
加拿大变种 (subsp. <i>canadensis</i> )	+	+	+	++	±	+	—	—	+++	—	+
亚毒变种 (subsp. <i>subtoxicius</i> )	—	—	—	+	—	+	+	—	++	+	++
玉米螟变种 (subsp. <i>osirinae</i> )	+	—	+	+	—	—	+	—	—	+	±
九州变种 (subsp. <i>kyushuensis</i> )	+	+	+	++	—	—	—	—	+++	+	+
以色列变种 (subsp. <i>israelensis</i> )	+	+	—	++	+	—	+	—	—	—	+
印第安那变种 (subsp. <i>indianae</i> )	+	—	+	++	—	+	—	—	+	+	—
东北变种 (subsp. <i>tohokuensis</i> )	—	—	—	+	—	—	—	—	+	—	+
熊本变种 (subsp. <i>kumamotoensis</i> )	+	+	—	+	+	+	—	—	+	—	+
肋木变种 (subsp. <i>tochigiensis</i> )	+	+	—	+	—	—	—	—	+	—	+
113 菌株	+	—	—	+	+	++	+	+	+++	—	+

注：— 负反应；+ 正反应；++ 较强正反应；+++ 强正反应；± 反应不稳定；± 微弱反应。

(二) 毒力测定

当库斯塔克变种菌悬液的浓度为15×10<sup>8</sup>个/ml时，家蚕三龄幼虫感染 24 小时后 100% 死亡，而 113 菌株菌悬液浓度在

0.023—22.7×10<sup>8</sup> 个/ml 范围内，感染的家蚕三龄幼虫，24、48 和 72 小时均未见死亡，对照亦无死亡。

113 菌株菌悬液浓度为 4.5×10<sup>3</sup>—4.5

$\times 10^7$  个/ml 时, 致倦库蚊二龄幼虫感染 24、48 和 72 小时均未见死亡, 对照也未见死亡。

### (三) 生理生化特性

113 菌株的生理生化特性除与比较过的 14 个变种不同<sup>[1]</sup>外, 与未比较过的 11 个变种也不相同。详见表 3。

## 讨 论

苏芸金杆菌云南变种 113 菌株与苏芸金杆菌已有的 19 个血清型 24 个变种的参考标准菌株不仅生化特性和毒力不同, 而且在供试菌株同源凝集效价达 1,600—40,960 的情况下, 113 菌株的 H-抗原和 H-抗血清, 与所有参考标准菌株的 H-抗血清和 H-抗原均不起交叉凝集反应, 说明它们之间没有共同的抗原成分。因此, 113 菌株是苏芸金杆菌的一个新血清型。

由于达可达变种有的株系未发现伴孢晶体, 曾被一些研究者<sup>[9,10]</sup>把它从苏芸金杆菌中取消, 造成了血清型编号的混乱。最近, 由 DeLucca 博士寄来的达可达变种, 能够产生小的伴孢晶体。因此, 应该保留它在苏芸金杆菌中的分类地位和血清型编号。

为了避免苏芸金杆菌血清型编号的混乱, Burges 等建议<sup>[11]</sup>, 新血清型的确定应征得 H. de Barjac 的同意。云南变种的血清型编号经与 Barjac 商定为 20, 即苏芸金杆菌云南变种, 血清型 20 (*Bacillus thuringiensis* subsp. *yunnanensis* H<sub>20</sub>)。

## 参 考 文 献

- [1] 王婉瑜等: 微生物学报, 19 (2): 117—121, 1979.
- [2] de Barjac, H. and A. Bonnefoi: *Entomophaga*, 18 (1): 5—17, 1973.
- [3] de Barjac, H.: C. R. Acad. Sci. Paris, t284, serie D-2051, 1977.
- [4] de Barjac, H.: C. R. Acad. Sci. Paris, t284, serie D286 (10): 279—180, 1978.
- [5] DeLucca II. A. J. et al.: *J. Invertebr. Pathol.*, 34 (3): 323—324, 1979.
- [6] Ohba, M. et al.: *J. Invertebr. Pathol.*, 38: 307—309, 1981.
- [7] Ohba, M. et al.: *J. Invertebr. Pathol.*, 38: 184—190, 1981.
- [8] Norris, J. R.: *J. Appl. Bact.*, 27: 439—447, 1964.
- [9] de Barjac, H.: In "Microbial Control of Pests and plant diseases 1970—1980" (ed. by H. D. Burges), Academic Press, London, pp. 35—43, 1981.
- [10] 喻子牛等: 华中农学院学报, 2 (3): 28—34, 1983.
- [11] Burges, H. D. et al.: *J. Invertebr. Pathol.*, 40: 419, 1982.

## A NEW SEROTYPE OF *BACILLUS THURINGIENSIS*

Yu Ziniu Dai Jinyan Zhou Hongbin Dong Zhangren

(Department of Soils and Agrochemistry, Huazhong Agricultural College, Wuhan)

Wang Wanyu

(Kunming Institute of Zoology, Academia Sinica, Kunming)

This test showed that the H-antigen and H-antisera of *Bacillus thuringiensis* subsp. *yunnanensis* (strain 113) did not agglutinate the H-antisera and H-antigen of all reference standard strains of *Bacillus thuringiensis* serotype 1 to serotype 19. The biochemical characteristics of strain 113 are different from all reference standard strains. At the same time, strain 113 is not toxic to the

larvae of *Bombyx mori* (Lepidoptera) and *Culex pipiens* var. *quinquefasciatus* (Diptera). Thus the strain 113 is a new serotype 20 i.e., *Bacillus thuringiensis* subsp. *yunnanensis*, serotype 20.

### Key word

*Bacillus thuringiensis* subsp. *yunnanensis*