

苏芸金杆菌血清型 1 中存在鞭毛抗原亚因子

王 瑛 温 洁
(中国科学院动物研究所, 北京)

王 玉 珍
(唐山市开平区农牧渔业局, 唐山)

近年来我们从四川、河北、吉林、云南、广西等地的土壤及死虫中分离到苏芸金杆菌百余株。用菌的鞭毛抗原与生化反应特性鉴定证明, 大部分菌株属于 H3 及 H4, 其中仅一个菌株 G 具有较特异的血清型, 它属于 H1, 但与标准 H1 不同。有关 G 菌株的研究结果报道如下。

材 料 和 方 法

(一) 菌种及来源

1. 标准菌株: H1—H22 见文献 [1]。H23 为日本 Michio Ohba 博士赠送^[2]。

2. G 菌株: 从唐山市开平区良种繁殖场玉米地上的死粘虫体内分离获得。

(二) 形态观察、生化反应及血清学试验

用光学、相差及电子扫描显微镜观察菌体形态。生化反应及血清学试验按常规方法进行^[3,4]。

(三) β -外毒素产生试验^[5]

(四) 双相免疫扩散试验^[6]

方法略。中心孔加入 G 菌株减溶晶体抗原 6 μ l, 周围孔分别加入 H1 及 HD-1 或以色列变种 1897 的晶体蛋白抗血清 10 μ l, 置 25℃ 进行反应, 24h 后记录结果, 用 0.1% 氨基黑染色。

(五) 杀虫活性测定

用六种昆虫: 鳞翅目: 粘虫 (*Leucania separata* Walker), 菜粉蝶 (*Pieris rapae* L.), 大蜡螟 (*Galleria mellonella*); 双翅目: 尖音库蚊淡色亚种 (*Culex pipiens* var. *pallens*); 鞘翅目: 黄粉甲 (*Tenebrio molitor* L.), 杂拟谷盗 (*Tribolium confusum* Duval)。

结 果

(一) 形态观察和生化反应

革兰氏反应阳性, 具苏芸金杆菌菌群共有的

形态特征: 营养体杆状, 两端钝圆, 大小为 1—1.2 $\times$ 2.5—4 μ m, 呈长链。游离前, 孢囊不膨大, 伴孢晶体为菱形, 芽孢椭圆形(图 1)。在肉汤中形成菌膜。在普通细菌琼脂平板上的菌落形状不规则, 扁平, 灰白色, 表面无明显皱褶, 有光泽。

生化反应结果: 卵磷脂酶(+), 水杨苷(+), 七叶灵(+), 脲酶(+), 蔗糖(+), 甘露糖(-), 上述结果除甘露糖是负反应与 H1 不同外, 其它均与 H1 相同。

(二) H 血清型鉴定

全部标准血清的效价均在 6,400—25,600 或更高。G 菌株的 H 抗原仅与标准血清型 1(H1)的抗血清有凝集反应, 效价为 6,400。在饱和试验中, 标准 H1 抗血清被 G 菌株的 H 抗原吸附完全后与本身 H 抗原仍产生凝集, 效价为 6,400。G 菌株的 H 抗血清被标准 H1 抗原吸附完全后与本身 H 抗原无凝集现象产生。从以上试验得出结果, 即原标准血清型 1 含有两个亚因子即 1a, 1b。而 G 菌株虽血清型也是 1, 但仅含一个亚因子即 1a。详细结果见表 1:

表 1 苏芸金杆菌血清型 1 的 H 抗原分析

抗血清	吸收抗原	鞭毛抗原	
		H1	G
H1	—	12,800	6,400
	G	6,400	—
G	—	12,800	12,800
	H1	—	—

本文于 1987 年 12 月 31 日收到。

本工作得到法国巴斯德研究所 de Barjac 博士的指导, 谢强江先生协助鞘翅目昆虫的生物测定, 在此一并致谢。

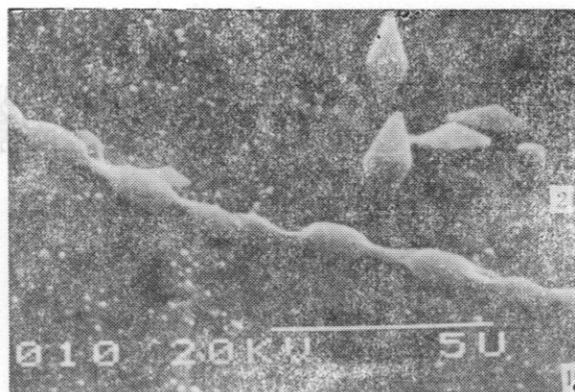


图 1 苏芸金杆菌河北变种的扫描电镜照片

1. 孢囊(晶体与芽孢分离前) 2. 晶体(放大倍数比图 1-1 增大一倍)

(三) 双向免疫扩散

从试验结果看出 G 的晶体蛋白抗原与 H1 及 HD-1 的晶体蛋白抗体有沉淀线产生, 说明这三个菌株的晶体蛋白有一定的共同成分。而 G 的晶体蛋白抗原与以色列亚种 1897 晶体蛋白抗体之间无沉淀线产生, 说明它们之间无共同蛋白成分。

(四) 杀虫活性测定

G 菌株产生 β -外毒素, 家蝇 (*Musca domestica*) 取食高压处理后的该菌培养物后全部死亡。对菜粉蝶、粘虫有较高毒性, 对大蜡螟、尖音库蚊、黄粉甲及拟杂谷盗均无毒杀作用。说明该菌株只对鳞翅目幼虫有毒。

根据以上全部试验结果, 证明 G 菌株属于苏芸金杆菌群, 是血清型 1, 但与原标准血清型 1 不同, 为 H1a, 而原标准血清型 1 存在两个亚因子即 1a, 1b。我们将 G 菌株定为新亚种——河北亚种 (*Bacillus thuringiensis* subsp. *hebeiensis*, H1a), 代表株为 G 菌株。

有关苏芸金杆菌血清型 1 的分类如下:

H1 { 1a, 1b: *Bacillus thuringiensis* subsp. *thuringiensis*
1a: *Bacillus thuringiensis* subsp. *hebeiensis*

讨 论

这是首次报道在苏芸金杆菌血清型 1 中存在

鞭毛抗原亚因子, 这样苏芸金杆菌共有七个血清型存在鞭毛抗原亚因子 (H1, 3, 4, 5, 6, 8, 11)。至今我国发现的苏芸金杆菌新亚种已有六个, 其中包括 H8a8c, 20, 22, 1a 及两个无鞭毛菌株 140 及 7805。另有国外有而国内后来发现的新记录 H1, 2, 3a3b, 4a4b, 4a4c, 5a5b, 5a5c, 7, 8, 9, 10, 13, 21 等总共近 20 个亚种。其中一些菌株对害虫具较高毒性并早已进行工业化生产, 用来防治农林害虫。

目前所获得的苏芸金杆菌菌株, 是自然界中存在的极少部分, 该菌在自然界有很大的开拓潜力, 发现高毒性或新杀虫谱的菌株是完全可能的。

参 考 文 献

- [1] 王 瑛等: 微生物学报, 26(1): 1—6, 1986.
- [2] Michio, O.: *J. Invert. Path.*, 48: 129—130, 1986.
- [3] Norris, J. R.: *J. Appl. Bact.*, 27(3): 439—447, 1964.
- [4] 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.
- [5] 王 瑛等: 微生物学通报, 9(5): 201—203, 1982.

PRESENCE OF FLAGELLAR ANTIGENIC SUBFACTORS IN SERO TYPE 1 OF *BACILLUS THURINGIENSIS*

Wang Ying Wen Jie

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

Wang Yuzhen

(*Agriculture Bureau, Kaipin, Tanshan*)

The strain G was isolated from a dead armyworm (*Leucania separata* Walker) in corn fields, at Hebei. It has the typical morphological characteristics of *Bacillus thuringiensis*.

The serological analysis showed that the flagellar suspensions of the strain G was agglutinated only by the antisera against the H1 antigen and not by the antisera against the other 22 known H-antigens. The agglutination titre was 1:6,400. The flagellar suspension of the serotype 1, subsp. *thuringiensis*, was agglutinated by the antiserum against the strain G, with a titre of 1:12,800. However, the cross-saturation of antisera showed that there were different fractions in the H1 antigen. The H antiserum against

subsp. *thuringiensis* still agglutinated with subsp. *thuringiensis*, having a titre of 1:6,400, even if it was fully saturated by strain G. When it was saturated by subsp. *thuringiensis* the H antiserum of strain G did not agglutinate by himself. Therefore, the H1 antigen (subsp. *thuringiensis*) must be divided into subfactors H1a1b and strain G antigen is H1a.

On the basis of this study, we propose the strain G represents the serotype H1a under the name of *Bacillus thuringiensis* subsp. **hebeiensis**.

Key words

Bacillus thuringiensis; *Bacillus thuringiensis* subsp. *hebeiensis*