

球形芽孢杆菌及其杀蚊原理和应用

张用梅 主编

科学出版社

2024年12月15日

2024年12月15日

2024年12月15日

球形芽孢杆菌及其杀蚊原理和应用

张用梅 主编

科学出版社

1995

(京)新登字 092 号

内 容 简 介

本书是一本全面论述球形芽孢杆菌的专著。它系统介绍了球形芽孢杆菌的生物学、伴孢体、杀蚊毒素及其致病作用,菌剂的生产工艺、产品质量检测、应用和效果,重点总结了国内外在这一技术领域的工作成绩和作者多年来从事本领域的研究、生产和应用中的经验和体会,并介绍了有关的技术和方法。

本书可供从事球形芽孢杆菌研究、生产和应用的工作人员和综合性大学、医学院校、卫生学校师生及卫生防疫部门的工作人员参考。

球形芽孢杆菌及其杀蚊原理和应用

张用梅 主 编

责任编辑 张国金

科 学 出 版 社 出 版

北京东黄城根北街 16 号

邮政编码: 100717

湖北省新生报印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

1995 年 6 月第 一 版 开本: 787×1092 1/16

1995 年 6 月第一次印刷 印张: 15 3/4

印数: 001—350 字数: 340 000

ISBN 7-03-004845-8/Q · 602

定 价: 40.00 元

编著人员名单

张用梅	研究员	中国科学院武汉病毒研究所
刘娥英	副研究员	中国科学院武汉病毒研究所
陈宗胜	副研究员	中国科学院武汉病毒研究所
袁志明	助理研究员	中国科学院武汉病毒研究所
庠 竹	助理研究员	旅美
王汉林	博士	旅美

CONTRIBUTORS

Chen Zongsheng	Wuhan Institute of Virology, Academia Sinica Wuhan(430071), P. R. China
Ku Zhu	Reside abroad(USA)
Liu Eying	Wuhan Institute of Virology, Academia Sinica Wuhan(430071), P. R. China
Wang Hanlin	Reside abroad(USA)
Yuan Zhiming	Wuhan Institute of Virology, Academia Sinica Wuhan(430071), P. R. China
Zhang Yongmei	Wuhan Institute of Virology, Academia Sinica Wuhan(430071), P. R. China

序

球形芽孢杆菌自 1904 年被鉴定为一个物种后的 60 年间,人们只是认识它在自然界的存在,并未对它给以重视。1965 年 W. R. Kellen 等发现球形芽孢杆菌 Kellen 菌株对蚊幼虫有杀灭作用,此后 20 多年来此菌始成为各国学者的一个活跃研究领域,在我国也相应地开展了多层次的基础和应用研究。

这本书是关于球形芽孢杆菌及其杀蚊原理和应用的第一本专著。全书 11 章,由 3 个部分组成,第一至第三章在简要地介绍了全球蚊媒疾病的危害状况和球形芽孢杆菌的杀蚊幼虫菌株防治媒介蚊虫的作用的基础上,论述了球形芽孢杆菌的生物学特性、分布状况、分类地位以及分离、筛选和鉴定方法;论述了这一物种内的多样性,对蚊幼虫的有毒菌株和无毒菌株在细胞结构和属性上的区别,菌株分型与病原性的关系,以及各种鉴定和分型方法之间的联系。

第四至第六章论述了球形芽孢杆菌的杀蚊毒素蛋白的研究进展:① 伴孢体的毒素蛋白是杀蚊毒素的主体,伴孢体的形态结构及其生物合成,毒素蛋白的性质及其杀蚊活性;② 毒素蛋白杀死蚊幼虫的致病作用;③ 毒素蛋白基因的结构、表达和调节。从分子生物学水平上阐明了这一菌种的杀蚊原理,展现构建具有实际应用价值的高效、广谱杀蚊工程菌成为可能。现已证明,球形芽孢杆菌的伴孢体中的毒素蛋白由 51 和 42kD 两种蛋白组成,杀蚊毒素是二元毒素,只有这两种蛋白共同参与才具有杀蚊活性。敏感的蚊幼虫吞食毒素蛋白后在中肠内经胰蛋白酶和糜蛋白酶降解、加工和激活过程而发病。球形芽孢杆菌的毒素蛋白基因和毒素蛋白不同于苏云金杆菌,因而在杀虫谱、活性水平和致病作用方面两种细菌都有明显区别。

第七至第十一章论述了球形芽孢杆菌在杀灭蚊幼虫、防治蚊媒疾病上的应用。重点阐述了:① 菌种和制剂的安全性、生产工艺和制剂剂型;② 菌剂的质量、检测和标准化;③ 杀蚊活性谱、室内外杀蚊效果及其影响因素;④ 在蚊体和环境中的再生循环和残存,介绍了有关的研究方法和技术。

本书全面地总结了科学技术领域的成就,反映了当前的科技水平和发展趋势。收集的文献丰富,内容也较充实。

本书各章的编写人,包括主编张用梅研究员和在他领导下的研究集体,在本书所涉及的多个方面进行了长时期的研究工作,卓有成绩。他们自己的研究成果在本书中也有较充分的反映。

陈华癸

1993 年 12 月

BACILLUS SPHAERICUS

MECHANISM AND APPLICATION AS A MOSQUITOLARVICIDE

Edited by
Zhang Yongmei

目 录

序	陈华癸 (i)
第一章 蚊媒疾病及蚊虫的防治	张用梅 (1)
一、蚊(蚋)媒疾病的危害与分布	(1)
(一) 疟疾	(1)
(二) 丝虫病(淋巴丝虫病和盘尾丝虫病)	(3)
(三) 登革热	(6)
(四) 黄热病	(7)
(五) 脑炎	(8)
二、蚊虫与疾病的关系	(8)
三、主要媒介蚊种的生态习性	(9)
(一) 中华按蚊	(9)
(二) 嗜人按蚊	(10)
(三) 微小按蚊	(10)
(四) 大劣按蚊	(11)
(五) 三带喙库蚊	(11)
(六) 淡色库蚊和致倦库蚊	(12)
(七) 埃及伊蚊和白纹伊蚊	(12)
(八) 蚋	(13)
四、蚊虫的防治	(14)
(一) 蚊虫防治状况	(14)
(二) 微生物防治的提出和进展	(15)
第二章 球形芽孢杆菌的生物学特性	刘娥英 (17)
一、球形芽孢杆菌的形态结构	(17)
(一) 营养细胞	(17)
(二) 孢子囊	(22)
(三) 芽孢和伴孢晶体	(22)
(四) 菌落形态	(24)
二、生理生化特性	(25)
三、生长和营养	(27)
(一) 氮素营养	(27)
(二) 碳素营养	(28)
(三) 矿质元素	(30)
(四) 生长素	(31)
四、环境因素对生长的影响	(32)
(一) 温度	(32)
(二) pH 值	(33)
(三) 氧	(34)
(四) 抗生素和化学药物	(35)

第三章 分类鉴定和分布	刘娥英 (40)
一、球形芽孢杆菌定种依据	(40)
二、分类鉴定	(40)
(一) 血清学分型	(44)
(二) DNA 分型	(45)
(三) 噬菌体分型	(47)
(四) 其他类群的划分	(47)
三、分类类群与病原性的关系	(50)
四、分类鉴定方法	(52)
(一) 生理生化试验	(52)
(二) DNA 同源性试验	(56)
(三) 噬菌体分型方法	(57)
(四) 血清学反应	(58)
(五) 酯酶分析	(60)
五、球形芽孢杆菌的分离、筛选和分布	(62)
(一) 样品的采集、菌株的分离和筛选	(62)
(二) 分布	(64)
第四章 杀蚊毒素	张用梅 (69)
一、杀蚊活性物质的分析和定位	(69)
二、伴孢晶体	(71)
(一) 伴孢晶体与杀蚊活性的关系	(71)
(二) 伴孢晶体的形态结构	(72)
(三) 伴孢晶体的生物合成	(74)
三、毒素的特性	(78)
(一) 毒素成分及氨基酸组成	(78)
(二) 毒素的同源性	(79)
(三) 毒素蛋白的序列分析	(80)
(四) 二元毒素	(82)
(五) 毒素的加工与活化	(84)
(六) 毒素的稳定性	(86)
四、毒素的杀蚊活性	(87)
(一) 对蚊幼虫的毒性	(87)
(二) 对组织培养细胞的毒性	(87)
五、毒素的提取、纯化和测定方法	(90)
(一) 从提纯晶体中提取和纯化毒素	(90)
(二) 从芽孢和晶体复合物中提取和纯化毒素	(92)
第五章 致病作用	张用梅 (97)
一、发病过程和病征	(97)
二、蚊幼虫的组织病变	(97)
(一) 致倦库蚊幼虫的病变	(97)
(二) 尖音库蚊幼虫的病变	(102)
(三) 斯氏按蚊幼虫的病变	(103)

(二) 影响制剂效果的因素	(162)
(三) 制剂的种类	(163)
(四) 环境考虑	(166)
(五) 贮藏	(167)
(六) 质量检测及标准化	(167)
四、展望	(169)
(一) 扩大杀虫谱	(169)
(二) 改善剂型	(169)
(三) 降低价格	(170)
第九章 杀蚊效果	陈宗胜 (174)
一、活性范围与 H-血清型	(174)
二、对蚊幼虫的室内毒效	(175)
(一) 对库蚊幼虫的毒效	(176)
(二) 对各种按蚊的毒效	(177)
(三) 对伊蚊的室内毒效	(179)
(四) 对其他蚊种的毒效	(179)
三、对现场蚊幼虫的防治效果	(181)
(一) 初期的现场防效试验	(181)
(二) 近期的现场防治蚊幼虫效果	(182)
四、持效作用	(190)
(一) 持效时间	(190)
(二) 延续致死与损伤	(191)
五、影响灭蚊效果的因素	(194)
(一) 温度	(194)
(二) 水的污染与 pH 值	(195)
(三) 紫外线	(196)
(四) 其他因素	(197)
第十章 杀蚊效果的室内外评价原理与方法	陈宗胜 (202)
一、室内效果的评价方法——生物测定	(202)
(一) 定性测定	(203)
(二) LC_{50} 值的测定	(203)
(三) 效价的意义与换算	(205)
(四) 结果准确性的判断方法	(206)
二、野外效果的评价方法	(207)
(一) 模拟野外条件试验	(207)
(二) 小型野外试验	(208)
(三) 大面积现场试验	(209)
三、小结	(209)
第十一章 再循环和残存	袁志明 (212)
一、环境中的再循环	(212)
(一) 在蚊幼虫体内的再循环	(212)
(二) 再循环的意义及评价	(219)

(四) 埃及伊蚊幼虫的病变	(104)
三、离体细胞的病变	(105)
(一) 病变状况和病征	(105)
(二) 离体细胞的超微结构变化	(106)
四、作用方式	(110)
(一) 幼虫体内晶体的溶解和芽孢的变化	(110)
(二) 毒素的作用部位	(111)
第六章 遗传学	库竹 王汉林 (114)
一、毒素蛋白基因的克隆和结构	(114)
(一) 毒素蛋白基因的确定和克隆	(115)
(二) 毒素蛋白基因的结构	(115)
二、毒素基因的表达和调节	(121)
(一) 毒素基因表达概况	(121)
(二) 宿主对毒素基因表达的影响	(127)
(三) <i>B. s.</i> 和 <i>B. t. i.</i> 蛋白毒素基因的协同表达	(128)
三、采用分子遗传学方法研究毒素蛋白的激活及协调作用	(129)
(一) 毒素蛋白的激活	(129)
(二) 51.4kD 和 41.9kD 毒素蛋白的杀蚊协同作用	(131)
四、展望	(133)
第七章 安全性	张用梅 (136)
一、对共栖的无脊椎动物的安全性	(136)
二、对蜜蜂的安全性	(137)
三、对蝶幼虫、蜗牛和牡蛎的安全性	(137)
四、对脊椎动物的安全性	(138)
(一) 对鱼的安全试验	(138)
(二) 对鸡、鸭的安全试验	(138)
(三) 对哺乳动物的安全试验	(138)
第八章 生产	袁志明 (144)
一、液体深层发酵	(144)
(一) 生产工艺	(144)
(二) 培养基	(147)
(三) 发酵条件	(153)
(四) 发酵检测	(156)
(五) 发酵周期	(157)
(六) 噬菌体的危害及防治	(158)
二、半固体发酵	(158)
(一) 培养基	(159)
(二) 种子制备	(159)
(三) 通气	(160)
(四) 发酵检测和控制	(160)
三、制剂	(161)
(一) 制剂的要求	(161)

二、环境中的残存	(220)
(一) 在土壤中的残存	(221)
(二) 在水体中残存	(222)
(三) 在其他环境中残存	(223)
三、球形芽孢杆菌的特异性检测	(225)
(一) 免疫荧光测定	(225)
(二) 放射性同位素测定	(227)
(三) 抗药性标记测定	(228)
编后记	张用梅 (231)

CONTENTS

Chapter I	MOSQUITO-BORN DISEASES AND MOSQUITO CONTROL	
		Zhang Yongmei (1)
1.	Status and distribution of vector-born diseases	(1)
a.	Malaria	(1)
b.	Filariasis (Lymphatic filariasis and onchocerciasis)	(3)
c.	Dengue	(6)
d.	Yellow fever	(7)
e.	Encephalitis	(8)
2.	Correlation between mosquito and disease	(8)
3.	Habits and characteristics of major mosquitoes	(9)
a.	<i>Anopheles sinensis</i>	(9)
b.	<i>Anopheles anthropophagus</i>	(10)
c.	<i>Anopheles minimus</i>	(10)
d.	<i>Anopheles dirus</i>	(11)
e.	<i>Culex tritaeniorhynchus</i>	(11)
f.	<i>Culex pipiens pallens</i> and <i>C. quinquefasciatus</i>	(12)
g.	<i>Aedes aegypti</i>	(12)
h.	Black fly (<i>Simulium</i>)	(13)
4.	Control of mosquito	(14)
a.	Present status in control of mosquito	(14)
b.	Advance of microbial control	(15)
Chapter II	BIOLOGICAL CHARACTERISTICS OF <i>Bacillus sphaericus</i>	
		Liu Eying (17)
1.	Morphology of <i>Bacillus sphaericus</i>	(17)
a.	Vegetative cell	(17)
b.	Sporangium	(22)
c.	Spore and parasporal crystal body	(22)
d.	Morphology of colony	(24)
2.	Biophysical and biochemical reactions	(25)
3.	Nutritional requirements for growth	(27)
a.	Nitrogen	(27)
b.	Carbohydrate	(28)
c.	Minerals	(30)
d.	Biotins	(31)
4.	Environmental factors	(32)

a. Extraction and purification of toxin from purified crystal	(90)
b. Extraction and purification of toxin from spore—crystal complex	(92)
Chapter V PATHOLOGY	Zhang Yongmei (97)
1. Symptoms	(97)
2. Histopathological changes in larvae	(97)
a. <i>Culex quinquefasciatus</i>	(97)
b. <i>Culex pipiens pallens</i>	(102)
c. <i>Anopheles stephensis</i>	(103)
d. <i>Aedes aegypti</i>	(104)
3. Pathological changes in cultured mosquito cells	(105)
a. Symptoms	(105)
b. Ultrastructure changes	(106)
4. Mode of action	(110)
a. Solubilization of crystal and fate of spores in larvae	(110)
b. Target organ of toxin action	(111)
Chapter VI GENETICS	Ku Zhu Wang Hanlin (114)
1. Clone and structure of toxic protein genes	(114)
a. Location and clone of toxic protein genes	(115)
b. Structure of toxic protein genes	(115)
2. Expression and regulation of toxin genes	(121)
a. Expression of toxin genes	(121)
b. Effect of hosts on expression of toxin genes	(127)
3. Toxin activation and coordination	(128)
a. Toxin activation	(129)
b. Coordination of toxicity between 51 and 42 kD toxic proteins	(129)
4. Prospect	(131)
Chapter VII SAFETY	Zhang Yongmei (133)
1. Safety to co-habitated invertebrates	(136)
2. Safety to honey bee	(136)
3. Safety to midge, snail and osyters	(137)
4. Safety to vertebrates	(137)
a. Fish	(138)
b. Chicken and duck	(138)
c. Mammal	(138)
Chapter VIII PRODUCTION	Yuan Zhiming (144)
1. Deep-tank fermentation	(144)
a. Production procedure	(144)
b. Media	(147)
c. Fermentation conditions	(153)

d. Fermentation cycle	(156)
e. Fermentation monitoring	(157)
f. Bacterial phage and its control	(158)
2. Semi-solid fermentation	(158)
a. Media	(159)
b. Seed preparation	(159)
c. Aeration	(160)
d. Monitoring of fermentation	(160)
3. Formulation	(161)
a. Aims and requirements of formulation	(161)
b. Factors affecting quality of formulation	(162)
c. Types of formulations	(163)
d. Consideration of environment	(166)
e. Storage	(167)
f. Quality control and standardization	(167)
4. Prospect	(169)
a. Enlarging the insecticidal spectrum	(169)
b. Improving the formulation	(169)
c. Reducing the production cost	(170)

Chapter X EFFICACY OF *Bacillus sphaericus* AGAINST MOSQUITO LARVAE

.....	Chen Zongsheng (174)
1. Relationship between active spectrum and H-serotypes	(174)
2. Evaluation of larvicidal activity in laboratory	(175)
a. <i>Culex</i> spp.	(176)
b. <i>Anopheles</i> spp.	(177)
c. <i>Aedes</i> spp.	(179)
d. Other mosquito species	(179)
3. Control of mosquito larvae in fields	(181)
a. Field trials in the early stage	(181)
b. Results from recent field trials and applications	(182)
4. Long-term control	(190)
a. Lasting-control in field	(190)
b. Delayed lethal and lesion	(191)
5. Factors affecting the larvicidal activity	(194)
a. Temperature	(194)
b. Water pollution and PH	(195)
c. UV light	(196)
d. Others	(197)

Chapter X PRINCIPLES AND METHODS FOR EVALUATION OF