

苏云金杆菌以色列变种
防治蚊幼虫的研究

蒲蛰龙主编

中山大学出版社

Research Institute of Entomology of Zhongshan University

Bulletin No.3

Studies on the Utilization of
BACILLUS THURINGIENSIS VAR.
ISRAELENIS AGAINST MOSQUITO LARVAE

Edited by

Pu Zhelong, Ph. D.

Professor of Entomology, Zhongshan University

Zhongshan University Press

1 9 8 4

中山大学昆虫学研究所论文集(三)
苏云金杆菌以色列变种防治蚊幼虫的研究

蒲 蛰 龙 主 编

●
中山大学出版社出版发行
中山大学印刷厂印刷

●
787×1092毫米16开本 6印张 11万字
1983年1月第一版 1984年3月第一次印刷
书号 13339.002 定价 0.50元

序

苏云金杆菌以色列变种 (*Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* de Barjac, 以下均用*B.t.i*简称。)是Goldberg (1977)从以色列 Negev的蚊虫孳生塘泥里分离出来的新变种。经de Barjac(1978)鉴定,属苏云金杆菌血清型14(H₁₄),该菌能急速杀死多种蚊幼虫,是苏云金杆菌唯一已确知具有防治蚊虫显著活性菌株。自1977年发现以来,许多国家相继用以进行防治蚊幼虫试验,发现它对多种蚊幼虫有强烈的毒杀力,而对高等动物则无毒害。这就引起了各国卫生工作者及昆虫研究者的重视,他们相继开展了较大规模的室内及野外试验,以验证其优良效果。联合国卫生组织也建议世界各地开展*B.t.i*对蚊幼虫毒效的测定及对高等动物的安全性试验,并多次报道各国的试验成果。

中山大学昆虫学研究所、广州市微生物研究所与广州市海珠区卫生防疫站共同协作,从1980年开始研究并对*B.t.i*治蚊效能进行了多次的试验。结果证明,它毒杀蚊幼虫的效果胜于常用的化学杀虫剂;而对多种高等动物,包括鱼、蝌蚪、三鸟、小白鼠、兔子、水牛、猕猴等则无毒害;生产本杆菌的工作人员,一年多来接触该菌,并无异常感觉。1981年11月,在海珠区卫生防疫站召开现场会议,与会人员一致肯定*B.t.i*的治蚊效果。

我们认为,用*B.t.i*防治蚊幼虫这一项生物防治措施,完全可以用来代替过去单独使用的化学杀虫剂。它不仅高效、安全、经济,而且可以避免环境污染。必须指出:施用*B.t.i*,并不是防治蚊子的唯一有效措施,防治蚊子,还有许多有效方法。我们主张各种防治方法互相配合使用,使治蚊工作更富有成效。

我们通过一年多来通力协作、互相学习,做了一点工作,写了许多实验报告和研究论文,现将该科研成果汇集出版,以供有关方面参考。

由于我们水平所限,不足与舛误在所难免,请读者多加指正。

蒲蛰龙

1982年1月于中山大学

目 录

序

<i>B.t.i.</i> 毒杀蚊幼虫的初步研究	蒲蛰龙 刘 炬 庞 义 (1)
<i>B.t.i.</i> 的形态及生物学特性	刘 炬 龙紫新 (4)
<i>B.t.i.</i> 对蚊幼虫的毒效	仇序佳 龙紫新 刘 炬 梁永坚 (10)
<i>B.t.i.</i> 菌液制剂防治蚊幼虫的试验	仇序佳 龙紫新 刘 炬 梁永坚
	蔡习秋 骆握舜 刘耀泉 赵智慧 方菊英
	司徒强 潘爱琼 李 辛 张运玉 石佩莲 (21)
<i>B.t.i.</i> 对脊椎动物的安全试验	龙紫新 仇序佳 刘 炬 梁永坚
	潘爱琼 李 辛 张运玉 石佩莲 (29)
蚊幼虫中肠上皮细胞感染 <i>B.t.i.</i> 后的超微结构观察	吴秋雁 (42)
<i>B.t.i.</i> 感染致倦库蚊幼虫的细胞病理研究	李顺珍 (52)
<i>B.t.i.</i> 制剂的试产工艺	骆握舜 刘耀泉 蔡习秋 赵智慧 方菊英 (73)
用平板开放培养法生产 <i>B.t.i.</i> 菌剂的研究	龙紫新 梁永坚 (78)

CONTENTS

PREFACE

Preliminary Studies on the Control of Mosquito Larvae with <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i>	Pu Zhelong, Liu Ju and Pang Yi (1)
The Morphological and Biological Characteristics of <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i>	Liu Ju and Long Qingxin (4)
The Larvicidal Activity of <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i> Qui Xujia, Long Qingxin, Liu Ju and Liang Yongjian	(10)
Experimental Results on the Control of Mosquito Larvae with Liquid Formulation of <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i> de Barjac Qiu Xujia, Cai Xiqiu and Situ Qiang et al	(21)
Safety Tests of the <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i> for vertebrates	Long Qingxin, Qiu Xujia, Liu Ju, Liang Yongjian, Pan Aiqiong, Li Xin, Zhang Yunyu, and Shi Peilan (29)
Ultrastructural Observation on Midgut Cells in the Larvae of Mosquitoes <i>Aedes albopictus</i> Skuse and <i>Armigeres subalbatus</i> Walker Infected with <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i>	Wu Tsiuyan (42)
The Histo- and Cyto-pathology of Larvae of <i>Culex pipiens fatigans</i> Infected with <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i>	Li Shunzhen (52)
Preliminary Studies on Production Technology of the Preparation of <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i> Luo Wolin, Liu Yaoquan, Cai Xiqiu, Zhao Zhihui, and Fang Juying	(73)
Production of Preparation of <i>Bacillus thuringiensis</i> var. <i>israelensis</i> with Semi-solid Fermentation in Open Culture	Long Qingxin and Liang Yongjian (78)

B.t.i.毒杀蚊幼虫的初步研究*

蒲蛰龙 刘 炬 庞 义

(中山大学昆虫学研究所)

苏云金杆菌以色列变种自1977年发现以来,许多国家纷纷用于治蚊试验。我们于1979年开展 *B.t.i.* 菌灭蚊幼虫的研究工作,现已获得良好效果。

1、*B.t.i.*菌不论是摇瓶发酵液或是工业菌粉,对致倦库蚊(*Culex pipiens fatigans*)、白纹伊蚊(*Aedes albopictus*)、骚扰阿蚊(*Armigeres subalbatus*)的1—4龄幼虫,均具有很高的毒杀力。室内毒力测定:对致倦库蚊、白纹伊蚊、骚扰阿蚊三龄幼虫的致死中浓度(LC_{50})分别为 4×10^3 细菌/毫升、 2×10^3 细菌/毫升及 1×10^3 细菌/毫升(图1)。

2、野外小型试验表明,其毒效也好。就骚扰阿蚊而言,孳生地是大粪池的使用浓度为4ppm,效果达93.2%;孳生地是污水沟的使用浓度可低些,2ppm死亡率可达92.3%。

3、不同温度下*B.t.i.*菌对蚊幼虫的毒杀作用有一定的影响,死亡率随温度的升高而升高。我们曾将致倦库蚊置于自动控温调节箱中进行测定:19℃以下施药,效果稍差;22—28℃之间施药,其毒效差异不大。

4、*B.t.i.*菌对家白蚁(*Coptotermes formosanus*)、蓖麻蚕(*Philosamia cynthia ricini*)、菜青虫和一般蚂蚁均无毒效,表现出对蚊幼虫致病力的高度专一性。

5、*B.t.i.*菌作用迅速。当施药15'~30'后,孑孓便出现中毒现象,表现为活动缓慢,全身痉挛、麻痹,大部份8—24小时内即死亡。当浓度提高到 10^8 细菌/毫升时,幼虫死亡极快,一小时便可见到。试验证明:蚊幼虫迅速死亡的主要原因,是由于晶体的内毒素起作用。我们对新变种是否存在热稳定外毒素,也进行了测定,结论是否定的。从病变过程可看到孑孓常贴附于平面而死,死亡时颜色成黑褐色,有的呈弓状,并迅速分解。病变组织切片镜检,在光学显微镜下,可明显地看到中肠上皮细胞膨胀,变成空泡,最后崩溃脱落,胃液可能因此渗漏到血腔里去,从而加速其死亡。这一组织病变与苏云金杆菌对感病的鳞翅目幼虫的病变相似。

*本校昆虫专业79届王志勇、陈金长、何光明同学参加了部份研究。本文曾在中山大学学报(自然科学版)1980年第4期上发表,现作若干补充。

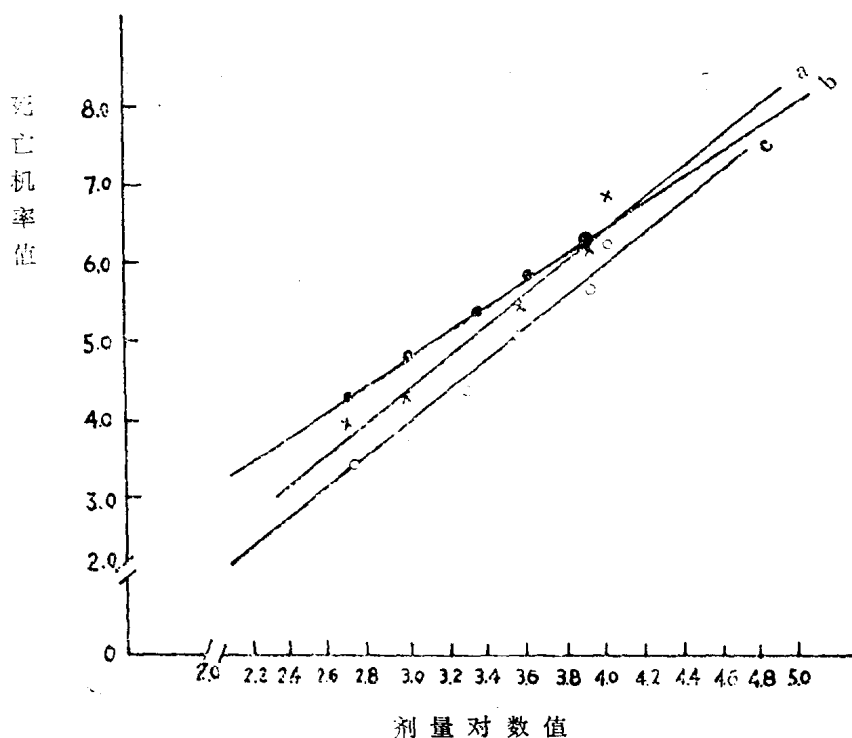


图1 苏云金杆菌以色列变种的剂量对数与三种蚊子幼虫(3龄)死亡机率值关系

a. 骚扰阿蚊 *Armigeres subalbatus* $y = -2.586 + 2.430x$

b. 白纹伊蚊 *Aedes albopictus* $y = -2.206 + 2.161x$

c. 致倦库蚊 *Culex pipiens fatigans* $y = -2.814 + 2.188x$

参 考 文 献

- (1) 蒲蛰龙主编, 1983, 害虫生物防治的原理和方法, 科学出版社。
- (2) de Barjac, H., 1978, Une nouvelle variété de *Bacillus thuringiensis* très toxique pour les moustiques: *B. thuringiensis* var. *israelensis* serotype 14, C.R.Acad. Sci., 286 (ser.D): 797-800.
- (3) Goldberg, L. J. and Margalit, J., 1977, Bacterial spore demonstrating rapid larvicidal activity against *Anopheles sergentii*, *Uranotaenia unguiculata*, *Culex univittatus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*, Mosquito News, 37: 355-358.

- [4] Garcia, R. and Desrochers, B., 1979, Toxicity of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis* to some California mosquitos under different conditions, Mosquito News, 39(3): 541-544.
- [5] Panbangred, W., et al., 1979, Toxicity of *Bacillus thuringiensis* toward *Aedes aegypti* larvae, J. Invertebr. Path., 33: 340-347.

Preliminary Studies on the Control of Mosquito Larvae with *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*

Pu Zhelong Liu Ju Pang Yi

(Research Institute of Entomology, Zhongshan University)

1. Both products, liquid fermentation produced in our lab. and industrial powder produced in Wuhan, possess the greater toxicity to the larvae of 1st-4th instar of *Culex pipiens fatigans*, *Aedes albopictus* and *Armigeres subalbatus*. The LC_{50} in 24 hours were about 4×10^3 bacteria/ml for *C. fatigans*, 2×10^3 bacteria/ml for *Ae. albopictus* and 1×10^3 bacteria/ml for *Ar. subalbatus*.

2. A small-scale field trial was carried out in the manure pits and polluted ditches containing *Ar. obturbans*. A 93.2% mortality within 1-3 days was brought about by a concentration of 4 ppm with respect to volume of water in the manure pits, and a 92.3% mortality was brought about by a concentration of 2 ppm with respect to the volume of water in the polluted ditches.

3. Water temperature exerted a moderate influence on the effectiveness of *B.t.i.*. The mortality increased as a rise in water temperature and somewhat decreased below 19°C, but no difference between 22-28°C.

4. *B.t.i.* did not demonstrate toxicity against the *Coptotermes formosanus*, *Philosamia cynthia ricini*, *Pieris rapae* and ants.

5. After spreading the *B.t.i.* powder for 15-30 minutes in the water, the infected larvae exhibited poisoning, spasm of the body, and most larvae died within 8-24 hours. When dose had been increased to 10^8 bacteria/ml, the test showed the greater toxicity to *C. fatigans* with 100% mortality in 60 minutes. Meanwhile, our test also demonstrated that the larvicidal activity of *B.t.i.* was associated with the endotoxin in the crystals and it did not produce the heat stable exotoxin. The dead larvae usually floated on the surface of water with darkened to black-brown body color and became shapeless and rapidly disintegrated. The histopathological study on the *C. pipiens fatigans* showed that it involved the loss of integrity of the midgut epithelium as a result of the swelling, vacuolating and final bursting of the cells.

*B.t.i.*的形态及生物学特性

刘 炬 龙 繁 新

(中山大学昆虫学研究所)

摘 要

本文对苏云金杆菌以色列变种 (*B.t.i.*) 的形态及生物学特性进行了观察和研究。该菌以生长周期较长、产生色素使菌苔呈淡紫色、菌体稍大而与其他血清型相区别。其生化特性,表现在产生乙酰甲基甲醇,有卵磷脂酶,水解牛乳、明胶能力强;发酵葡萄糖、甘露糖,但不利用蔗糖、水杨苷、七叶灵、纤维二糖;没有尿素,水解淀粉能力强;晶体形态除菱形、稀有立方形外,首次发现镶嵌形晶体的存在,因而提出该镶嵌体可能与该菌对蚊幼虫的高度专一致病性有关的假设。

自从1977年Goldberg首次报道对蚊幼虫有高度活性的*B.t.i.*以来,关于这种菌的生物学特性,国外曾作过一些报道(de Barjac, 1978; Tyrell等人, 1979)。本文仅就该种的生物学特性进行分析。

材 料 和 方 法

一、菌种 武汉微生物农药厂生产的孑孓灵制剂分离而得。

二、生化反应

糖发酵试验按常规方法进行。葡萄糖、蔗糖、甘露糖、纤维二糖、水杨苷,七叶灵浓度为0.5%,以1.6%溴甲酚紫为指示剂(七叶灵免加)制成糖发酵管。

胨分解试验包括明胶和牛乳两种蛋白质的分解。明胶试验按常规进行。牛乳如有分解能力,在菌落的周围有透明的水解圈,测量其宽度。

v.p试验按常规进行。试验菌培养2—3日后取出,分别加入半量的40% KOH (含0.3%肌酸)和6% α -萘酚。摇匀。出现红色者为阳性反应。

卵磷脂酶试验按McGaughey和Chu(1948)方法进行。试验菌培养48—72小时,卵黄平板四周有混浊圈及卵黄肉汤管上层出现乳白色混浊絮状物者为阳性反应。

β -外毒素的制备按Rosenberg和Carlberg(1971)方法,培养24、48、72小时后,将培养液调至pH4.5,离心取上清液118°C高压灭菌15分钟备用。

三、电镜观察

晶体和芽孢的分离提纯用双相分离法。提纯后的晶体及芽孢分别点滴于铜网上，干燥后用白金喷涂一分钟，置于扫描电镜下观察。

实验结果和讨论

一、形态特征

1.菌落：该菌能在多种培养基上生长，不同的培养基形成的菌落有所不同。在普通肉汁蛋白胨琼脂培养基上菌落表面粗糙且隆起，暗白色，边缘稍薄，不整齐，呈绒毛状。在斜面上菌苔边缘呈假根状。菌种斜面放置数天，培养基呈淡紫色，表明该菌产生色素。在肉汤培养基中，形成薄膜，易摇碎成片状下沉。

2.营养体：呈杆状，两端圆角，菌体有坚实的膜。比其他变种稍大，为 $4.2-5.8 \times 1.2-1.3$ 微米。周生鞭毛，微动或不动，单个存在或两个以上在一起成短链状，格兰氏染色为阳性反应。（见图1、2）

3.孢子囊：长卵圆形，一端形成卵形芽孢，另一端产生伴孢晶体。用石炭酸复红染色时，营养体红色，晶体深红色，芽孢不着色。孢子囊到一定时间后破裂。放出游离的伴孢晶体和孢子。大小为 $3.5-4.5 \times 1.2-1.6$ 微米。（图3、4）

4.芽孢：卵圆形，有光泽，大小为 $1.9-2.0 \times 0.9-1.2$ 微米。（图6）

5.伴孢晶体：简称晶体，呈菱形，稀有立方形和镶嵌形。（图5）

二、生化特性

我们曾将 *B.t.i.* 与其他变种的生化特性进行测定与比较，发现该菌有其独特的地方。表现为：产生乙酰甲基甲醇，有卵磷脂酶，水解牛乳能力强，为+++，明胶水解为++；发酵葡萄糖、甘露糖，但对蔗糖、水杨苷、七叶灵、纤维二糖不产酸；没有尿酶，水解淀粉能力强；有菌膜和淡紫色素，不存在热稳定外毒素。（图7、8）

三、培养特征

该菌对营养条件要求不高，在普通细菌培养基上生长良好，为兼性厌氧菌。12—40℃均能生长，但以28—32℃为适宜。20℃以下生长缓慢，35℃以上生长很快，但易衰老。pH以7.0为最适宜，pH5.0以下不能形成芽孢。

发育过程，生长周期较其他变种慢。在营养琼脂培养基上，置于28℃下培养。接种后2—4小时，芽孢萌发成营养体；4—6小时，开始分裂繁殖；6—10小时，分裂最旺盛；16小时，大部分菌体原生质浓缩，开始形成孢子囊；24小时，大部分形成孢子囊，孢子囊开始破裂，释放出芽孢和晶体；42—48小时，大部分芽孢晶体脱落，即可收获。

显然，这种对蚊子幼虫有特异致病性的 *B.t.i.*，与其他血清型有着许多区别。我们对使用菌的生化特性测定，基本与编号为1897和ONR—60A菌株所描述的相符(de Barjac, 1978)。晶体的形态，通过扫描电镜的观察，除了菱形和稀有的

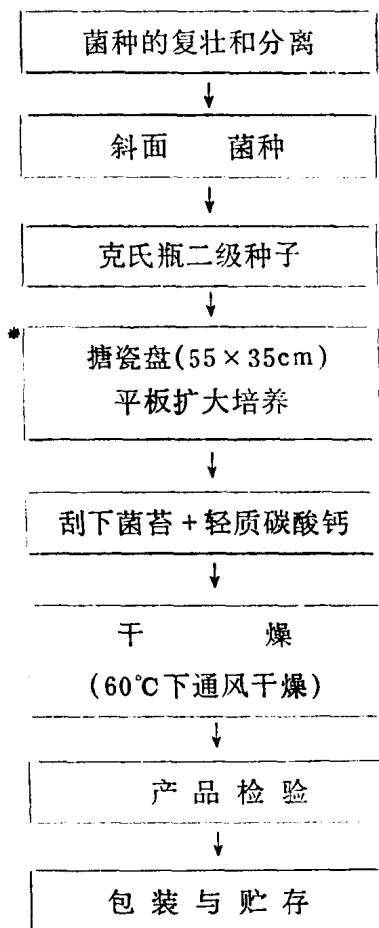
立方形外，还有一种镶嵌形晶体，国内曾报道1897菌的晶体呈现六角形(李荣森、陈涛，1981)，这可能与菌株来源不同有关。镶嵌体的存在，是Sharpe和Baker 1979年首次在HD—1菌株中发现并命名的。我们推测，这种镶嵌体可能与杀虫活性有关。*B.t.i.*是迄今已知苏云金杆菌对双翅目昆虫唯一有显著活性的菌株。并表现出对蚊虫致病的专一性。其晶体的结构与功能值得进一步研究。

四、以色列菌制剂的实验室生产

我们曾于实验室条件下，用开放的平板扩大培养法，生产 *B.t.i.* 菌粉制剂，提供野外防治蚊虫试验，取得良好的效果。

1.培养基配方 蛋白胨1%、葡萄糖0.3%、牛肉膏0.3%，NaCl 0.2%， K_2HPO_4 0.1%，琼脂2%，pH7.0。

2.实验室生产工艺流程



• 搪瓷盘用酒精棉球消毒，培养基厚度3—5毫米，接种后置于温室下培养。

参 考 文 献

- [1] 李荣森 陈涛, 1981, 几种苏云金杆菌晶体的毒力及形态结构, 微生物学报, 21(3): 311—317.
- [2] de Barjac, H., 1978, Une nouvelle variété de *Bacillus thuringiensis* très toxique pour les moustiques: *B. thuringiensis* var. *israelensis* Sérotype 14, C. R. Acad. Sci. 286 (ser. D): 797—800.
- [3] Mcgaughey, G. H. and chu, P.H., 1948, The egg-yolk reaction of aerobic sporing Bacilli, J. Gen. Microbiol., 2: 334-340.
- [4] Rosenberg, G., Carlberg, G. and Gyllenberg, H. G., 1971, Microbiological assay of the β -exotoxin of *Bacillus thuringiensis*, J. Appl. Bact., 34: 419—423.
- [5] Sharpe, E. S. and Baker, F. L., 1979, Ultrastructure of the unusual crystal of the HD—1 isolate of *Bacillus thuringiensis* var. *kurstaki*, J. Invertebr. Path., 34, (3): 320—322.
- [6] Tyrell, D. J. et al., 1979, Toxicity of parasporal crystal of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* to mosquitoes. Appl. Environ. Microbiol., 38(4): 656—658.

The Morphological and Biological Characteristics of *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*

Liu Ju Long Qingxin

(Research Institute of Entomology, Zhongshan University)

The purpose of our test is to determine the general biological characteristics of this bacterium.

It can be easily distinguished from other serotypes of *B.t.* as its growth cycle is longer, a little bigger in size and pigment is produced. The biochemical tests showed that the acetylmethylcarbinol and lecithinase were produced. Proteolysis is strong in gelatin (++) and in milk (+++) after 24 hr. Either pigment or pellicle was produced. Acid was formed from glucose and mannose but not from sucrose, cellobiose, aesculin and salicin. The hydrolysis of starch was positive. Neither urease nor β -exotoxin was produced.

Most parasporal crystals of *B.t.i.* are rhomboid and a few cuboid in outline and some crystals with embedded body were present but their nature and function are still unknown.



附 图 说 明

图1. *B.t.i.* 营养体。9,600×

图2. *B.t.i.* 菌体生长中期。(菌体呈浓缩状)9,600×

图3. *B.t.i.* 菌体生长中后期。(菌体呈孢子囊状)9,600×

图4. *B.t.i.* 菌体生长后期。(晶体、芽孢分别脱落)9,600×

图5. *B.t.i.* 晶体的电镜扫描。(示方形镶嵌小体)40,000×

图6. *B.t.i.* 芽孢的电镜扫描。40,000×

图7. 四个苏云金杆菌变种的生化反应

一一四为牛乳水解反应；五一八为卵磷脂酶反应；

九一十二为明胶水解反应。

其中编号一、五、九为7911菌株；二、六、十为 *B.t.i.* 菌株；

三、七、十一为8182菌株；四、八、十二为8181菌株。

图8. 四个苏云金杆菌变种的淀粉水解反应

编号A为8182菌株；B为 *B.t.i.* 菌株；C为7911菌株；D为8181菌株。

B.t.i.对蚊幼虫的毒效*

仇序佳 龙肇新 刘 炬 梁永坚

(中山大学昆虫学研究所)

摘 要

从武汉微生物农药厂的孢子灵制剂分离培养制备的*B.t.i.*菌粉, 每克含孢子数42亿。根据室内毒力测定结果: 1 ppm的菌液浓度经24小时, 致倦库蚊(*Culex pipiens fatigans* Wiedemann)、白蚊伊蚊(*Aedes albopictus* (Skuse))和骚扰阿蚊(*Armigeres subalbatus* Coquillett) 3龄幼虫死亡率达88—98%。致倦库蚊各龄幼虫的致死中浓度(LC₅₀)分别为: 1龄, 0.1325 ppm, 2龄, 0.1911 ppm, 3龄, 0.2780 ppm, 4龄, 0.4385 ppm。野外毒力测定结果: 5ppm的菌液浓度效果较好, 喷洒后24小时, 致倦库蚊幼虫虫口下降率达90%左右, 72小时虫口下降率可达100%。

*B.t.i.*毒杀蚊幼虫的使用浓度低, 作用快, 效果比80%敌敌畏乳剂好, 专一性强, 对人、畜、禽、鱼等均无毒害, 可作为蚊虫孳生基地的灭蚊剂。

前 言

苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis* Berliner)在国内外早已作为一种微生物杀虫剂广泛应用于多种鳞翅目害虫的防治。但应用于蚊虫, 虽然有一些试验报道(Liles 1959, Kellen 1960, Smith 1973), 但毒性低, 效果不理想。1977年Goldberg在以色列蚊虫孳生的水塘泥中分离出对按蚊、伊蚊和库蚊毒性较高的苏云金杆菌菌株ONR—60A, 才引起了人们极大的注意。该菌对尖音库蚊(*Culex pipiens* L.)的毒力比球状芽孢杆菌(*Bacillus sphaericus*)菌株SSII—1大30—100倍。后经de Barjac(1978a)鉴定为苏云金杆菌以色列变种。** de Barjac(1978b)用*B.t.i.*对伊蚊、按蚊进行试验, 效果很好。自此, 有关*B.t.i.*对蚊幼虫的试验报

●何敏儿、陈静琴同志参加部分试验工作, 得到广州市微生物研究所及广州市海珠区卫生防疫站给予大力支持, 谨表谢意。

●●世界卫生组织编号为ONR60A/WHO CCBC 1897.

道(de Barjac与Coz 1979, Garcia和Desrochers 1979, Hembree 1980) 逐渐增多。因此,联合国卫生组织发起了对*B.t.i.*的安全性、标准化及对蚊幼虫效果的试验的建议。我国于1979年从捷克和美国引进*B.t.i.*菌株,并由武汉市微生物农药厂生产出菌粉制剂(孑孓灵), 在开展对蚊幼虫的试验研究中取得了初步效果, 主要着重于对蚊幼虫的毒力方面。本文论证了对蚊幼虫的室内毒力测定, 野外不同孳生地类型的试验, 并与常用化学农药80%敌敌畏乳剂作比较, 以及对动物的安全性等试验结果, 为今后应用*B.t.i.*灭蚊提供依据。

材 料 与 方 法

*B.t.i.*菌种系1980年下半年从武汉市微生物农药厂的孑孓灵制剂中分离得到的。培养基成份为: 旦白胨1%, 牛肉膏0.3%, NaCl 0.2%, K_2HPO_4 0.1%, 葡萄糖0.3%, 琼脂2.0%。pH7.2左右。试验用的菌粉制备方法如下: 试管斜面菌种培养, 28℃, 72小时, 茄瓶扩大培养, 30±1℃, 24小时, 瓷盘琼脂平板培养, 室温26—32℃, 96小时, 最后收集菌苔, 按菌液量加10%轻质碳酸钙吸附, 60℃烘干6小时即成。用平碟菌落计数法算出菌粉含菌量为42亿孢子/克。

室内测定的蚊幼虫有致倦库蚊(*Culex pipiens fatigans* Wiedemann)、白纹伊蚊***(*Aedes albopictus* Skuse)和骚扰阿蚊(*Armigeres subalbatus* Coquillett), 均为室内饲养。饲料配方为: 面粉93%, 酵母粉5%, 猪肝粉2%。每烧杯放入试验菌液400毫升, 幼虫30条, 置28±0.5℃恒温箱中, 分别在3小时和24小时检查幼虫死亡数, 试验重复2—4次。

野外试验是在广州市海珠区进行。根据水体积计算施用菌粉量, 菌粉用水配制成不同浓度的悬浮液, 以家用小喷雾器或背负式喷雾器均匀喷洒, 然后分别在24、48、72和96小时用饭勺取样, 计算幼虫密度, 与施菌前作比较, 算出虫口下降率。

试 验 结 果

(一) 室内毒力测定

(1) 对三种蚊幼虫的毒效: *B.t.i.*菌粉对致倦库蚊、白纹伊蚊和骚扰阿蚊3龄幼虫的毒力测定结果表明(表1): 菌液浓度为1 ppm, 经24小时, 幼虫死亡率分别为98.2%、88.3%、97.5%; 浓度为1.5 ppm, 前两种幼虫死亡率达100%。用0.5或1 ppm处理后24小时死亡的致倦库蚊或骚扰阿蚊10条幼虫, 经骚扰阿蚊幼虫咬食后, 24小时全部死亡。通过幼虫残食而感染中毒死亡, 对增加*B.t.i.*的毒杀效果是很有意义的。试验中曾用冰箱(4℃)保存12天的*B.t.i.*菌粉稀释液, 毒效也没有减低。

● ● ● 白纹伊蚊系由中山医学院寄生虫教研组崔可伦同志供给。