

· 综述 · 评论 · 争鸣 ·

# 苏云金芽孢杆菌的杀虫毒素及其增效方略

祁红兵, 刘 铭

(信阳师范学院 生物系, 河南 信阳 464000)

**摘 要:** 苏云金芽孢杆菌由于其杀虫的特异性、低成本和环境可降解性而被广泛应用。其作用机制和毒力的增效已经进行了大量研究。本文简介了苏云金杆菌的杀虫毒素的类型和作用机理。为了提高毒素的效力, 很多因素包括物理的、化学的方法已经用于毒素的溶解、降解及与昆虫中肠的作用方面; 筛选高毒力的新菌株、使用昆虫取食刺激剂和其他生物共同作用等都能提高苏云金杆菌的杀虫效果。

**关键词:** 苏云金杆菌; 杀虫毒素; 增效途径

**中图分类号:** Q 935 **文献标识码:** A **文章编号:** 1003-0972(2003)04-0485-07

苏云金杆菌(*B. acillius thuringiensis*, *B. t*)是从自然界分离出来的昆虫病原细菌, 革兰氏染色阳性, 在芽孢形成期间能产生伴胞晶体。它最早在日本发现于家蚕的猝倒病<sup>[1]</sup>, 1915年Berline再次发现并定名, 1938年在法国首次成为商品<sup>[2]</sup>。*B. t*真正实用化始于20世纪70年代高效菌株HD-1的发现, 特别是1992年联合国在巴西召开的“世界环境和发展大会”, 既促进了全球生物防治的发展, 同时又推进了*B. t*制剂产业化的进程。自商品化以来, *B. t*产品就以其高效安全、对目标害虫的特异性而倍受青睐, 并逐渐成为研究最深入、应用最广泛的生物杀虫剂。*B. t*的毒素成分对包括大量农林害虫及卫生害虫在内的无脊椎动物的4个门和节肢动物门中9个目, 计522种昆虫具有不同程度的致病力, 被广泛应用于100余种常发生在农业、林业、果树、蔬菜和环境卫生害虫的防治<sup>[3]</sup>, 对20余种重要害虫防效显著, 在害虫的综合防治中占有极其重要的地位。有关*B. t*增效剂的研究已有多种论述<sup>[4-6]</sup>, 本文主要结合晶体毒素的致毒过程来探讨提高*B. t*杀虫效果的可能途径。

## 1 苏云金杆菌的杀虫毒素

*B. t*的毒素成分是多种多样的, 不同亚种菌株产生的毒素种类和性质亦不相同, 表现出不同的杀虫活性。总的说来, 伴胞晶体蛋白 $\delta$ 内毒素是其杀

虫活性的主要来源。除此之外还有 $\alpha$ -外毒素、 $\beta$ -外毒素、 $\gamma$ -外毒素、不稳定外毒素以及水溶性毒素等, 芽孢在杀虫过程中也起一定的作用。

### 1.1 $\delta$ 内毒素及其作用方式

$\delta$ 内毒素即伴胞晶体, 它是*B. t*杀虫的主要毒素成分。其形态发生是在前芽孢形成的第III阶段, 即前芽孢内卷时靠近芽孢外膜处, 开始形成伴胞晶体。其形态及大小有多种多样, 有菱形、方形和不规则形等。1989年, Hofte和Whiteley根据伴胞晶体的杀虫范围及基因序列的同源性将其分为两类: 一类为Cry, 在活体和离体条件下只对鳞翅目、双翅目或鞘翅目幼虫有毒。这是主要的一类<sup>[7]</sup>; 另一类是Cyt, 只对双翅目有毒。Cry毒素又分为如下类型: Cry I对鳞翅目幼虫有毒<sup>[8]</sup>; Cry II对鳞翅目及双翅目均有毒<sup>[9]</sup>; Cry III对鞘翅目有毒<sup>[10]</sup>; Cry IV对双翅目有毒<sup>[11]</sup>; Feitelson等(1992)报道了新增的Cry V和Cry VI两类, 其产物都是对动植物寄生线虫有活性。但随着新基因的不断发现, 在序列相似性和杀虫谱之间出现了越来越多的不一致现象, 1995年, Crickmore等在第28界国际无脊椎动物病理学年会(SIP)上提出了只根据ICP氨基酸序列的同源性差异作为ICPs基因分类的原则, 按其差异将杀虫晶体蛋白分成小于45%, 45%~75%之间, 75%~95%之间和95%以上4个等级, 并绘制了苏云金杆菌73个杀虫晶体蛋白之间的同

收稿日期: 2002-10-20; 修订日期: 2003-06-10

基金项目: 河南省科技攻关项目(0124020216)

作者简介: 祁红兵(1971-), 男, 河南潢川人, 硕士, 信阳师范学院生物系讲师。

源性关系图<sup>[12]</sup>。这一分类系统现已得到公认。到 2001 年 4 月 30 日,通过 Internet 检索 GenBank 和 EMBL 数据库,ICPs 可分为 Cry1~Cry32 和 Cyt1~Cyt2 共 34 大组(primary ranks),又可细分为 63 个小组(secondary ranks),94 类(tertiary ranks),206 亚类(quaternary ranks)。其中,各亚类编号为阿拉伯数字 1 的作为模式毒素(Holotype Toxins),其编码基因就是模式基因,共 94 类。尽管如此,老的分类系统因其简单明了,仍在很多场合被使用。

一般认为  $\delta$  内毒素的作用方式为:溶解、酶解活化、与受体结合、插入和孔洞或离子通道形成 5 个环节。具体说来,就是  $\delta$  内毒素被昆虫取食后,在昆虫中肠内溶解为前毒素,经中肠蛋白酶水解,释放出的活性成分与中肠上皮细胞刷状缘膜的受体结合,进一步插入膜内形成孔洞或通道,引起一系列的病理过程,导致细胞膨胀裂解<sup>[13-15]</sup>。

## 1.2 $\beta$ 外毒素

$\beta$  外毒素又叫热稳定外毒素或苏云金素(*thuringiensin*),在苏云金杆菌的营养生长阶段产生。该毒素只在部分 *B. t* 菌株中产生<sup>[16]</sup>。它是一种 ATP 类物质<sup>[17]</sup>,对多种昆虫有杀虫活性,但其作用机制尚不清楚。张用梅等(1987)认为  $\beta$  外毒素能损伤寄主昆虫的 ATP 代谢作用,阻碍小鼠肝脏新生 RNA 的合成,并抑制大肠杆菌依赖 DNA 的 RNA 聚合酶活性,此外,核苷酶、己糖激酶也会受到这种毒素的抑制。当  $\beta$  外毒素处于一定浓度时,又是一种促细胞分裂素。前苏联曾长期生产含苏云金素的产品 *B. itoxibacillin* 杀虫剂,用于防治小地老鼠(*A. orotic segetun*)、棉铃虫(*H. eliothis obsoleta*)和甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua*),对马铃薯甲虫和棉叶螨也有效果。由于近年来发现苏云金素对人、畜的安全性较差,因而其应用受较大限制。

## 1.3 其他外毒素

除  $\beta$  外毒素外,苏云金芽孢杆菌产生的外毒素还有  $\alpha$  外毒素、 $\gamma$  外毒素、不稳定外毒素、水溶性外毒素等。 $\alpha$  外毒素即卵磷脂酶 C(*phospholipase C*),它具有水溶性、热敏感性,对昆虫有毒性,其作用方式是破坏细胞的磷脂膜,引起败血症。 $\gamma$  外毒素是一种尚不确定的酶类,Heimpel 曾指出血清 H<sub>6</sub> 型的杀虫亚种、亚毒亚种不产生  $\alpha$  外毒素,但能产生与磷脂发生作用的物质,对虫体的作用尚不清楚。水溶性毒素是 Fast(1971)从 *B. t subsp alesi*

制剂中分离得到的,感染家蚕后引起类似于伴胞晶体毒素的症状,进一步的研究未见报道。

## 1.4 VIPs 一类新的杀虫毒素

除以上毒素外,1996 年 Estruch 等还发现了一种在营养生长期表达的分泌型外毒素 VIPs。VIP 曾一度被认为与 Cry5 相同,但有证据显示它编码一种分泌型蛋白,它的表达不与 Cry 基因冲突,且不同于 Cry5 在基因组中的静默状态(缺少启动子)。VIPs 代表一类新发现的杀虫蛋白,对谷物的几种主要害虫具有很强的毒杀力。1996 年泰国国际会议上,Kostichka 等就 VIPs 的鉴定、类别、纯化以及编码区的克隆作了报告。

## 1.5 芽孢在致毒过程中的作用

苏云金杆菌的芽孢,含有多种芽孢衣蛋白,部分蛋白具有类似晶体毒素的作用。除此之外,芽孢的萌发还可穿透昆虫肠壁的能力。Burgs 等(1976)、Yogn-Biao Liu 等(1998)的研究均表明,芽孢和晶体以一定的比例混合才能达到最大毒效<sup>[18,19]</sup>,而单用芽孢和晶体时毒力却很低,表明了芽孢在 *B. t* 对昆虫致病中的作用<sup>[20]</sup>。

## 2 苏云金杆菌的增效措施

尽管 *B. t* 有诸多优点,但它在田间应用时也存在不够理想、防效不稳定、残效期短、杀虫速度慢、对某些目标害虫不敏感等问题。解决这一问题的途径有二:一是大量分离鉴定更有效的 *B. t* 株系,如 *B. t* 杀虫变种(*B. t subsp entanocidus*)和美国分离的 NDR-12 株系(商品名 *Javelin*)对 *Spodoptera* 属的活性较高;二是大力发展各种增效剂和增效因子,提高现有菌株的杀虫活性。有关 *B. t* 增效剂的研究近年来取得了较大发展,主要集中在加快伴胞晶体毒素的活化及与目标害虫的作用过程;保护制剂免受各种损伤,延长残效期;改进剂型加工;构建转基因工程菌;使用取食刺激剂及昆虫诱剂等。

### 2.1 筛选、培育高效菌株及构建高效转基因工程菌

*B. t* 在自然界广泛存在,可从土壤、昆虫、植物等多种环境中分离得到。对高效菌株的筛选一直受到人们的重视。尤其是自 1980 年 Goldberg 等分离到一株对双翅目——即蚊幼虫有特异敏感性的 ONR-60A 4987 菌株(*B. t subsp israelensis*)以来,改变了许多学者长期以来认为 *B. t* 仅对鳞翅目幼虫有毒的观点,更激发了研究者们对发掘具有特异杀虫活性或更为广谱的 *B. t* 资源的兴趣。随着

新资源的日益开发, 加之新品系的发现需要经过大规模的筛选, 新的高毒株的筛选越来越困难. 与之相比, 构建高效转基因工程菌则相对简单、快速. 转基因工程菌的构建有两个方面: 一是将现有伴胞晶体毒素基因进行改良, 提高杀虫活性<sup>[21]</sup>. Francis Rajamohan 等(1996)对 CryIA b 环区的两个氨基酸进行了改进, 从而提高了它对 *lymantria dispar* 的毒力<sup>[22]</sup>. 二是将其他的杀虫基因转入 *B. t* 菌, 使之与 Cry 基因协同表达, 提高杀虫效率<sup>[22, 23]</sup>. Mark N Sampson 等(1998)曾进行了将假单胞菌的几丁质酶基因转入 *B. t* 以提高其杀虫活性的尝试; Tantinavanich 等(1996)将几丁质酶基因克隆入 *B. t* 并获得了表达; 菲律宾的 Bt Rice 在表达几丁质酶的同时, 也进行了 Cry 基因与几丁质酶基因的组合. Li Tian yong 等将 *B. s* 的 CrtI Ab1 基因转入 *B. t* 中, 从而提高了后者对抗性蚊虫的杀虫活性<sup>[24]</sup>. 还有一些其他对害虫生命活动有影响的基因, 如 NPV 的病毒增效蛋白基因与 Cry 基因的共表达也受到人们的重视. Abbott 等发现, 一种 20KD 的伴侣蛋白——Chaperone 基因与 *B. t* 毒素基因共表达, 其增效作用可达 50% ~ 300% 不等.

## 2.2 保护 *B. t* 免受紫外线损伤及雨水冲洗, 延长残效期

紫外光(UV)对 *B. t* 芽孢和晶体都有损伤作用, 是 *B. t* 制剂在田间条件下药效迅速丧失的主要原因之一, 但 UV 对 *B. t* 芽孢和晶体的损伤的机理研究还较少. 研究表明, 损伤原因可能是与 UV 照射氨基酸后产生的过氧化物或自由基有关, 也可能是长时间照射引起晶体蛋白一级结构或立体结构的变化, 导致晶体蛋白难以活化<sup>[25]</sup>. 有研究表明, 阳光对伴胞晶体的钝化作用与晶体蛋白的酪氨酸残基受损伤有关. 近年来, 随着环境污染的加剧, 大气中紫外线含量大大增加, 保护 *B. t* 制剂免受损伤尤为必要. Jones 等(1991)曾采用紫外线辐射技术诱变得到了抗 UV 的 *B. t* 菌株. Cohen 等(1991)的研究表明, 丫啶黄素等一些化学染料可以吸收紫外线以减轻对 *B. t* 戈尔斯得亚种的损伤. Salama 等(1991)、Petel KR 等(1996)都进行了诱变抗紫外线 *B. t* 菌的工作. Liu Y-T 等(1993)使用 *B. t* 中具有杀蚊活性的黑色素作为紫外线屏蔽剂来延长其残效期. 采用紫外吸收剂, 如 Uvinul Ds49, Eriol Acid Red, 叶酸对氨基苯甲酸等对延长制剂的残效期效果也很好. Vincent Sanchis 等通过重组构建了一个新菌株, 不但提高

了其杀虫谱, 还使其晶体蛋白产生在包涵体内, 从而延长了残效期.

除紫外线损伤外, 田间应用时雨水的冲洗也是 *B. t* 制剂迅速失效的原因之一. R. W. Behle 等(1997)用麦麸作为添加剂来防止雨水的冲洗收到了良好的效果. Michael R M cguire 等(1996)筛选的以淀粉和面粉为基础的 *B. t* 配方对防止雨水的冲洗以及 UV 稳定性也有较好的效果. 为提高 *B. t* 毒素蛋白的持久性, Mycogen 公司还研制了一种 Cellcap 包囊系统.

## 2.3 加速伴胞晶体毒素的致毒过程

### 2.3.1 使用取食刺激剂, 促进昆虫取食

$\delta$  内毒素对许多昆虫都有拒食作用, 无论在任何寄主植物上, 绝大多数昆虫对 *B. t* 都表现出一定的拒食, 从而使昆虫不能摄取足够的 *B. t* 芽孢和晶体而致其死亡. 应用取食刺激剂可避免这一点. 取食刺激剂的来源主要有以下两种: 一是各种简单化合物及其组合, 如糖类、脂类、氨基酸等<sup>[26, 27]</sup>; 二是寄主植物组织及其加工品, 如玉米叶、棉花叶、棉子油的各种抽提物等<sup>[26-29]</sup>. 目前取食刺激剂已有开发成功的商品, 如 Coax, Entice Bartelt 等(1990)进一步研究了“Coax”及其他一些取食刺激剂.

### 2.3.2 破坏分子内二硫键, 加速晶体蛋白的溶解

蛋白质分子的二硫键显著阻碍着晶体蛋白的溶解<sup>[30]</sup>. 超声波振荡及动态磁场的磁化处理都可破坏  $\delta$  内毒素的二硫键, 改变分子构型, 增加溶解度, 提高毒效<sup>[31]</sup>. 一些植物中的次生化合物, 如番茄中存在的绿原酸和多酚氧化酶作用形成的邻苯醌, 使蛋白质的-SH 和-NH<sub>2</sub> 基团烷基化, 从而加强了 *B. t* 晶体在活化条件下的溶解及活化. 另外, 改变活体培养时的结晶条件, 也可能改变晶体蛋白的溶解性而提高毒效<sup>[32]</sup>.

### 2.3.3 改变昆虫中肠的碱性及还原性, 创造良好的溶解条件

由于 *B. t* 杀虫活性的最终落脚点在晶体毒素的作用发挥上, 因此毒素作用的每一个环节的增效, 从毒素的溶解、活化、结合BBMV 每一步都倍受关注. 晶体蛋白在昆虫中肠的迅速溶解需要碱性及还原性的环境, 而毒素的活化需昆虫中肠蛋白酶的作用. 因此, 选择碳酸钾等碱性盐添加到 *B. t* 制剂中, 可增强敏感昆虫中肠的碱性, 使用蛋白酶可增强敏感昆虫中肠液的还原性, 利于伴胞晶体的溶解; 使用二价离子激活和增强敏感昆虫中肠

蛋白酶的活性,从而加速原毒素的活化<sup>[33]</sup>。温志强等(1999)以小菜蛾为供试对象,试验了 6 种无机化学添加剂对 *B. t* 的杀虫效果的影响,结果表明  $K_2CO_3$ 、 $MgCl_2$  的增效最为显著,分别较单用 *B. t* 增效了 1.075 0 倍和 0.941 5 倍,添加  $0.01 g \cdot L^{-1}$  的  $ZnSO_4$  也有一定的增效作用(0.153 5 倍),而硼砂、 $CaCO_3$  对 *B. t* 无增效作用<sup>[34]</sup>。而 Salama (1984)以棉叶夜蛾为供试对象的研究,表明硼砂也有很强的增效活性,这说明不同的添加剂对不同害虫的增效程度不同。 $Fe_2(SO_4)_3$  反而有极显著的减效作用。此外还发现,添加剂的质量浓度对 *B. t* 的杀虫效果也有极大的影响。Salama (1989)的实验也表明,在供试质量浓度下,6 种 Ca 盐、2 种 Zn 盐、3 种 Cu 盐及  $K_2CO_3$  可增加 *B. t* galleriac HD-234 对小地老虎的杀虫效果。孙明等(1996)曾提出在苏云金芽孢杆菌制剂中加入有助于伴胞晶体溶解的介质有利于毒效的提高。分析表明,无机盐添加剂可增强昆虫肠液的碱性,而蛋白质溶解介质的作用是增强敏感昆虫中肠液的还原性,这些措施均有利于晶体的溶解及活化。Salama 等(1984, 1985)、ElMoursy 等(1992)的研究还表明,无机盐及多种含氮化合物如丝氨酸、精氨酸、丙氨酸、色氨酸、已酰胺、硝酸钠等对 *B. t* 的增效除能加速晶体蛋白的溶解外,还能改变血淋巴的组成,影响昆虫的正常的生理过程,提高了昆虫对病原微生物的敏感性,从而大大提高了  $\delta$  内毒素的毒效<sup>[35-37]</sup>。我国有些地方在 *B. t* 制剂中加入一定量的洗衣粉来提高其杀虫效果,申继忠等(1994)认为,可能原因有两方面:一是洗衣粉可增强昆虫肠液的碱性,二是洗衣粉相当于巯基乙醇作为还原剂,增强昆虫中肠液的还原性,两者都利于 *B. t* 晶体蛋白的溶解。

#### 2.3.4 破坏昆虫中肠,加快细胞毒效的发挥

有一些酶类和植物次生物质,可破坏昆虫的中肠,从而提高 *B. t* 晶体的活性。研究发现,丹宁可导致昆虫中肠上皮破损,丧失再生能力,直至中肠坏死<sup>[38]</sup>。几丁质酶可以分解昆虫中肠的几丁质层,将它加入 *B. t* 制剂,也有显著的增效作用<sup>[39]</sup>。杆状病毒的增效蛋白也称病毒促进因子,或病毒增效因子,它是由 GV 等病毒基因编码的一种磷脂蛋白,分子量在 89~110KD。它不但能增强多种 NPV 的感染力,还能提高 *B. t* 等生物杀虫剂的功效<sup>[40]</sup>。增效蛋白能对 *B. t* 增效是因为它具有金属蛋白酶的活性,可降解昆虫中肠的围食膜,破坏中肠粘膜的物理屏障,使晶体蛋白更容易进入细胞。Mariano

和 John (1997) 的研究证实, L-刀豆酸与 Dipel 和 Thuricide 两种 *B. t* 制剂分别混合后对烟草天蛾都有增效作用。他们认为其机理是改变烟草天蛾中肠膜的透性和主动运输。

#### 2.3.5 加速晶体毒素与 BBMV 的结合

关于毒素与 BBMV 的结合的研究较多。实验表明,一些蛋白酶抑制剂可抑制刷状缘膜上受体蛋白的降解,延长受体的半衰期,从而增强了  $\delta$  内毒素与受体结合的能力。蛋白酶抑制剂的作用是多种多样的,它还可抑制  $\delta$  内毒素活力片段的进一步降解。实验表明,当  $\delta$  内毒素降解到 20KD 以下,其活性就丧失。Eric V. stab (1994) 等研究发现, *B. t* 产生的一种水溶性物质 ZwittermucinA 能加剧每感昆虫中肠上皮细胞受体孔道的形成,增强伴胞晶体的作用效果。

#### 2.4 与化学农药及其他生物农药的混用以及其他昆虫病原微生物的互作

相对于化学杀虫剂来说, *B. t* 的作用速度较慢,残效期较短。与化学农药的混用能很好的解决这一问题<sup>[41]</sup>。Hempel (1961) 曾对 18 种农药与 *B. t* 的混用作过研究,发现增效的有 6 种,可以混用的有 8 种。庄占兴等(1993)采用几种化学杀虫剂与 *B. t* 进行混合防治棉铃虫,经大田实验证明,硫丹、灭多威与 *B. t* 混用有明显的增效作用。Dabi 等(1988)采用低剂量的 *B. t* 处理棉铃虫可导致其对某些化学农药的敏感性。这些实验均表明, *B. t* 与化学农药间存在广泛的混用性。当然, *B. t* 与化学农药的混用首先要考虑化学农药的高效、低毒、低残留等问题。

除化学杀虫剂外, *B. t* 与其他生物杀虫剂的混用也是提高防效的有力措施。川楝素与青虫菌等农药和 *B. t* 混用对保护作物避免菜青虫幼虫的取食为害有明显增效作用,而且对幼虫的化蛹及蛹都有明显的制约作用<sup>[42]</sup>。NPV 与 *B. t* 都是经口传染的昆虫病原微生物,中肠是二者作用的共同靶位。Bell and Rom in 1986 年的研究表明 *B. t* 与 NPV 混用有明显的增效作用<sup>[43]</sup>。张循浩等(1996)用 *B. t* PV 加适量助剂复配,也同样证明了这一点。除 NPV 外, *B. t* 与昆虫病原线虫与 Linear Furanocoumarin 以及与真菌混用,均有增效作用<sup>[44]</sup>。

微生物间的互作也是提高 *B. t* 毒效的有效途径之一。林开春等(1998)对武汉市郊环境微生物中的 *B. t* 增效细菌进行了调查和筛选,得到了对

*B. t* 制剂具有强增效作用的菌株 21 株, 其中对杀甜菜夜蛾幼虫增效最强的菌株 34-16, CTC 值为 1865, 对杀小菜蛾增效最强的菌株 A 012, CTC 值 407.1, 实验结果表明菌株 34-16 对 *Dipels*, *Xentari*, *B. t*8010 等 *B. t* 商品制剂均有增效作用<sup>[45]</sup>.

## 2.5 改进 *B. t* 剂型加工技术, 增强制剂杀虫效果

目前, 我国的 *B. t* 杀虫剂的制剂加工技术中, 还存在剂型单一, 加工工艺落后, 专用助剂的筛选缺乏系统研究等问题. 国外 *B. t* 杀虫剂的加工剂型主要有粉剂、悬浮剂、油剂、乳剂、片剂、ES 等

12 种, 而我国目前仅有粉剂、可湿性粉剂和悬浮剂、颗粒剂等几种, 且质量较差. 这也是我国 *B. t* 杀虫剂商品在田间防效较差或不稳定, 较难被农民接受的主要原因之一. 所以, 加强 *B. t* 加工技术研究是提高杀虫效果的重要途径. 近年来, 美国科学家还对 *B. t* 淀粉胶囊剂进行了一系列研究, 证明胶囊剂确能提高 *B. t* 杀虫剂在田间条件下的稳定性, 延长其残效期. McGuire 等 (1990) 的研究表明以 *B. t* 胶囊剂对欧洲玉米螟初孵幼虫的残效期可达两周.

## 参考文献:

- [1] 喻子牛. 苏云金杆菌[M]. 北京: 科学出版社, 1990.
- [2] 陈涛. 有害生物的微生物防治原理和技术[M]. 武汉: 湖北科学出版社, 1995. 11-57.
- [3] ENTWISTLE P F, COREY J S, BAILEY M T, etc *Bacillus thuringiensis, an environmental biopesticide: theory and practice*[M]. Chichester, England: John Wiley and Sons Ltd, 1993.
- [4] 张继红, 王琛柱. 钦俊德. 苏云金芽孢杆菌  $\delta$  内毒素的杀虫机理及其增效途径[J]. 昆虫学报, 1998, 41(30): 323-332.
- [5] 申继忠, 钱传范. 苏云金杆菌杀虫增效剂增效途径研究进展[J]. 生物防治通报, 1994, 10(3): 135-140.
- [6] 吴继星. 论苏云金杆菌 (*B. t*) 制剂的增效措施[J]. 湖北植保, 1995, (6): 25-26.
- [7] 曾林, 任改新. 苏云金芽孢杆菌杀虫晶体蛋白 *Cry* 基因研究的现状[J]. 微生物通报, 1998, 25(1): 49-51.
- [8] BANES D, SCHWARTZ J L, SOHIS, etc *Comparison of the response of midgut epithelial cells and cell lines from lepidopteran larvae to *Cry*LA toxins from *Bacillus thuringiensis**[J]. *J insect physiology*, 1997, 43: 823-831.
- [9] KOTAM, DANIELL H, VARMA S, etc *Overexpression of the *Bacillus thuringiensis* (*B. t*) *Cry*2Aa2 protein in chloroplasts confers resistance to plants against susceptible and *B. t* resistant insects*[J]. *Agricultural Sciences*, 1999, 96: 1840-1845.
- [10] CARROLL J, CONVENTS D, VAN DAMME J, etc *Intramolecular proteolytic cleavage of *Bacillus thuringiensis* *Cry* 3A  $\delta$ -endotoxin may facilitate its coleopteran toxicity* [J]. *Journal of invertebrate pathology*, 1997, 70: 41-49.
- [11] HOFTE H, WHITELEY H R. *Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis** [J]. *Microbiol Rev*, 1989, 53(2): 242-255.
- [12] CRICKMORE N, ZEIGLER D R, FEITELSON J, etc *Revision of the nomenclature for the *Bacillus thuringiensis* pesticidal crystal proteins* [J]. *Microbiol, & Mol Biol Rev*, 1998, 62(3): 807-813.
- [13] ANTHONY S D Pang, GRINGORTEN J L. *Degradation of *Bacillus thuringiensis*  $\delta$ -endotoxin in host insect gut juice* [J]. *FEMS microbiology letters*, 1998, 167: 218-285.
- [14] PEYRONNET O, VACHON V, BROUSSEAU R, etc *Effect of *Bacillus thuringiensis* toxins on the membrane potential of lepidopteran insect midgut cells* [J]. *Applied and environmental microbiology*, 1997(5): 1679-1684.
- [15] SIMPSON R M, BURGESS E P, MARKWICK N P. **Bacillus thuringiensis*  $\delta$ -endotoxin binding sites in *M. lepidoptera* [J]. *Wiseana spp and Epiphyas postvittana*, 1996, 70: 136-142.*
- [16] MONTGOMERY E F, ALLAN A Y. *Thuricin: the bacteriocin produced by *Bacillus thuringiensis** [J]. *Journal of invertebrate pathology*, 1989, 53: 206-216.
- [17] GILL S S, COWLES E A, PIETRARTON D P V. *The mode of action of *Bacillus thuringiensis* endotoxins* [J]. *Annu Rev Entomol* 1992, 37: 615-636.
- [18] YONGBAO L, BRUCE E T, WILLIAM J M, etc *Synergism between *Bacillus thuringiensis* spores and toxins against resistant and susceptible diamondback moths (*Plutella xylostella*)* [J]. *Applied and Environmental Microbiology*, 1998, 4: 1385-1389.
- [19] TANG J D, SHELTON A M, VANRIE J, etc *Toxicity of *Bacillus thuringiensis* spore and Crystal protein to resistant*

- diam ondback moth (Plutella xylostella)* [J]. Applied and environmental microbiology, 1996, 62(2): 564-569
- [20] DONOVAN E J, BRENDA O, WILLIAM H M. Spore coat protein synergizes *Bacillus thuringiensis* crystal toxicity for indian meal moth (*Plodia interpunctella*) [J]. Current Microbiology, 1998, 36: 278-282
- [21] SHANNON WEIMOCARthy W J. Cytolytic activity of *Bacillus thuringiensis* CryIC and toxins to *Spodoptera* sp midgut epithelial cells in vitro [J]. In vitro Cell Dev Biol: Animal, 1997, 33(4): 315-323
- [22] TIAN YONG L, FAN S, ZHANG Y, et al. Coexpression of *cytI A* of *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* with *Bacillus sphaericus* binary toxin gene in a crystalliferous strain of *B. thuringiensis* [J]. Current Microbiology, 2000, 40: 322-326
- [23] WU D, CHANG F N. Synergism in mosquitoicidal activity of 26 and 65 kD  $\delta$  protein from *Bacillus thuringiensis* subsp. *israelensis* crystal [J]. FEBS Lett, 1989, 190: 232-235
- [24] THIERY I, HAMON S, DELCLUSE A, et al. The introduction into *Bacillus thuringiensis* subsp. [J]. medellin crylab I Gene results in higher susceptibility of resistant mosquito larva populations to *sphaericus*, 1998, 64(10): 3910-3916
- [25] VINCENT S, MICHEL G, JOSETTE C, et al. Development and field performance of a broad-spectrum nonviable asporogenesis recombinant strain of *Bacillus thuringiensis* [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1999, 9: 4032-4039
- [26] SALAMA H S, FODA S, SHARABY A. Role of feeding stimulants in increasing the efficacy of *Bacillus thuringiensis* versus *Spodoptera littoralis* (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. Entomol Gen, 1985, 10(2): 111-119
- [27] BARTELT R J, MCGUIRE M R, BLACK D A. Feeding stimulants for the European can borer (*Lepidoptera: Pyralidae*): additives to a starch-based formulation for *Bacillus thuringiensis* [J]. Environ Entomol, 1999, 19(1): 182-189
- [28] EL-NOCKRASHY A S, SALAMA H S, TAHA F. Influence of bait formulations on the effectiveness of *Bacillus thuringiensis* against *Spodoptera littoralis* (Boisd) L. ed. Noctuidae [J]. J Appl Entomol, 1986, 101: 381-389
- [29] GILLESPIE R L, MCGUIRE M R, SHASHA B S. Palatability of granular formulations to European can borer larvae (*Lepidoptera: Pyralidae*) [J]. J Econ Entomol, 1994, 87(2): 452-457.
- [30] NICKERSON K W. Structure and function of *Bacillus thuringiensis* protein crystal [J]. Biotechnol and Bioengin, 1980, 22: 1305-1333
- [31] SALAMA H S, EL-BASET M S A, RAGAEIM. Mode of action of chemical additives in enhancing the potency of *Bacillus thuringiensis* against lepidopterous insects [J]. J Appl Entomol 1992, 114: 167-173
- [32] ENGLISH L, SLATON S L. Mode of action of delta-endotoxins from *Bacillus thuringiensis* a comparison with other bacterial toxins [J]. Insect Biochem. Molec Biol, 1992, 22(1): 1-7.
- [33] BEHLER W, MCGUIRE M R, GILLESPIE R L, et al. Effects of alkaline gluten on the insecticidal activity of *Bacillus thuringiensis* [J]. Biological and Microbial Control, 1997, 90(2): 354-360
- [34] 温志强, 黄必旺, 吴小平. 无机化学添加剂与 Bt 混合对小菜蛾杀虫效果的影响 [J]. 福建农业大学学报, 1999, 28(3): 1-5
- [35] SALAMA H S, FODA M S, SHARABY A. Potential of some chemical to increase the effectiveness of *Bacillus thuringiensis* Berl against *Spodoptera littoralis* (Boisd) [J]. Z Ang Entomol, 1985, 100: 425-433
- [36] EL-MOURSAY A, ABOUL-ELAR, SALAMA H S, et al. Chemical additives that affect the potency of endotoxin of *Bacillus thuringiensis* against *Plodia interpunctella* [J]. Insect Sci Appl, 1992, 15(6): 775-779
- [37] SALAMA H S, FODA M S, SHARABY A. Novel biochemical avenues for enhancing *Bacillus thuringiensis* endotoxin potency against *Spodoptera littoralis* (Lep Noctuidae) [J]. Entomophaga, 1984, 29(2): 171-178
- [38] JACQUES R P, LANGDR. Efficacy of mixtures of *Bacillus thuringiensis*, viruses, and Chlordane against insects on cabbage [J]. The Canadian Entomologist, 1978, 110: 443-448
- [39] SMOFF W A. Three years of aerial field experiments with *Bacillus thuringiensis* plus chitinase formulation against the spruce budworm [J]. J Invert Pathol, 1974, 24: 344-348
- [40] 马永平, 欧阳, 孟小林, 等. 杆状病毒增效蛋白研究进展 [J]. 中国病毒学, 1999, 14(3): 185-189
- [41] 殷向东, 苏建坤, 徐健, 等. Bt 杀虫剂应用动态与实用进展 [J]. 江苏农业科学, 1999, (1): 27-30
- [42] 赵善欢, 黄炳球, 胡美英. 川楝素与青虫菌等农药混用对菜青虫增效作用的试验 [J]. 昆虫学报, 1989, 32(2): 158-165

- [43] BELL M R, ROM NE C L. *Heliothis virescens* and *H zea* (*L epidotera: Noctuidae*): dosage effects of feeding mixtures of *B acillus thuringiensis* and a Nuclear polyhedrosis virus on mortality and growth [J]. *Environmental Entomology*, 1986, 15(6): 1161-1165
- [44] IGNOFFO C M, CARCIA C, KROHA M J, etc *Effects of bacteria and a fungus fed singly or in combination on mortality of larvae of the cabbage looper* (*L epidotera; noctuidae*) [J]. *J Kans Entomol Soc*, 1980, 53(4): 797-800
- [45] HOFTE H, WHITELY H R. *Insecticidal crystal proteins of B acillus thuringiensis* [J]. *Microbiol Rev*, 1989, 53(2): 242-255

## Mechanism and potentiation of *B acillus thuringiensis* toxin insecticidal activity

QI Hong-bing, LIUM ing

(Dept of Biol, Xinyang Normal University, Xinyang 464000, China)

**Abstract:** *B acillus thuringiensis* (*B. t*) has been widely used because of its specificity for target insects, its low development cost and its environmental compatibility. Much efforts are devoted to the mechanism of action and the enhancement of toxicity. In order to improve the toxicity of endotoxin, various physical and chemical methods are used for strengthening the solubilization, degradation of endotoxin, or the interaction between endotoxin and insect midgut. Other means, such as screening higher toxicity strains of *B. t*, using the feeding stimulants increase larval ingestion, protecting endotoxin from ultraviolet irradiation and cooperating with other microbes, have also been proved to be effective in the potentiation of endotoxin.

**Key words:** *B acillus thuringiensis*; toxin; enhancement

责任编辑: 任长江

(上接第 450 页)

### 参考文献:

- [1] 王永安, 黄金玲, 孙志立, 等. 猫儿山自然保护区生态系统复杂性特征及初步评估[J]. 中南林业调查规划, 2002, 21(1): 29-31.
- [2] 广西水产研究所. 广西淡水鱼类志[M]. 南宁: 广西人民出版社, 1981. 1-16.
- [3] 李红敬. 华南淡水鱼类区系探讨[J]. 信阳师范学院学报(自然科学版), 2000, 13(2): 239-244.
- [4] 王寿昆. 中国主要河流鱼类分布及其种类多样性与流域特征的关系[J]. 生物多样性, 1997, 5(3): 197-201.
- [5] 李思忠. 中国淡水鱼类的分布区划[M]. 北京: 科学出版社, 1981. 118-120.
- [6] 陈宜瑜, 曹文宣, 郑慈英. 珠江的鱼类区系及其动物地理区划的讨论[J]. 水生生物学报, 1980, 3(10): 228-236.
- [7] 张荣祖. 我国动物地理学研究的前景—方法论探讨[J]. 动物学报, 1995, 41(1): 21-27.

## Studies on the freshwater fishes of Maer mountain nature reserve

LI Hong-jing

(Dept of Biol, Xinyang Normal University, Xinyang 464000, China)

**Abstract:** 23 species freshwater fishes were found in Maer mountain nature reserve in this survey. They are belong to 3 orders, 8 families, 18 genera, among which there are 34.8% herbivore, 21.7% carnivore and 43.5% omnivorous. According to environments of their habitats, 4.3% dwells above, 25.8% intermediate and 69.9% below. It was found that the distribution characteristics of above-mentioned freshwater fish are related to the environment of the habitat.

**Key words:** freshwater fish; food habit specialization; habitat environment; Maer mountain

责任编辑: 任长江