

苏云金杆菌增效细菌研究进展

杨庆仙

(河北政法职业学院 园林系, 河北 石家庄 050061)

摘 要: 苏云金芽孢杆菌 Bt 制剂是当前应用最广、最有效的一种细菌杀虫剂, 因其对鳞翅目、鞘翅目、双翅目、膜翅目、同翅目等昆虫以及动植物线虫、蛱螨等节肢动物都显示杀虫活性而倍受人们关注。综述对苏云金杆菌具有增效作用的细菌的研究进展。目前, 环境微生物中 Bt 增效细菌主要有苏云金杆菌、蜡状芽孢杆菌, 其发酵上清液或芽孢不同程度地提高了苏云金杆菌防治害虫的效果。

关键词: 苏云金杆菌; 增效; 细菌; 研究进展

中图分类号: S 482. 2⁺ 92 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001—0009(2008)01—0055—04

苏云金杆菌 (*Bacillus thuringiensis*, 简称 Bt) 是目前产量最大、使用最广的生物杀虫剂。它的主要活性成分是一种或数种杀虫晶体蛋白 (insecticidal crystal proteins, ICPs), 又称 δ 内毒素^[1], 对鳞翅目、鞘翅目、双翅目、膜翅目、同翅目等昆虫, 以及动植物线虫、蛱螨等节肢动物都有特异性的毒杀活性, 而对非目标生物安全, 因此, Bt 杀虫剂具有专一、高效和对人畜安全等优点。目前苏云金杆菌商品制剂已达 100 多种, 是世界上应用最为广泛、用量最大、效果最好的微生物杀虫剂 因而倍受人们关注。但是, 商品 Bt 制剂在生产防治中也显示出某些局限性, 如速效性差、对高龄幼虫不敏感、田间迟效期短以及重组工程菌株遗传性状不稳定等都已成为

影响 Bt 进一步成功推广使用的制约因素。因此, 为了提高 Bt 制剂的杀虫效果, 对其增效途径的研究已成为世界性的研究热点, 主要包括: 筛选增效菌株^[2]; 利用化学添加剂^[3-8]、植物它感素^[9-12]、几丁质酶^[13] 作为增效物质; 昆虫病原微生物间的互作增效^[14-18] 等。现主要综述目前对 Bt 制剂具有增效作用的细菌的研究进展。

1 增效细菌的筛选

自然界中, 每种植物、昆虫的体表和体内都存在着相应的微生物区系。早在 20 世纪 50 年代, Heimpel 和 Angus 划分 Bt 对敏感昆虫作用机理时, 就曾提出一些细菌营养细胞或芽孢的存在可加速致死速度。许多研究表明昆虫体内存在着这种与寄主昆虫生存、行为反应有着密切关系的微生物群落^[20], 部分细菌仅能用原核 DNA 的特殊引物在 PCR 扩增中检测到^[21], 另一些细菌却^[22] 能被人工培养, Mckillip 等^[23] 在对美国西北果园严重发生的卷叶蛾 (*Pandemispyrusana*) 中肠细菌进行分

作者简介: 杨庆仙(1967-), 女, 河北安新人, 副教授, 主要从事病虫害防治教学工作。
收稿日期: 2007—07—05

interface of *Phytophthora capsici* in root and stems of *Capsicum annuum*[J]. *Phytopathology*, 1989, 127: 305-315.

[2] Kim W B, Hwang B K. Histological changes in the roots and stems of pepper plants infected with *Phytophthora capsici* [J]. *Korean Plant Pathol.*, 1989, 5: 40-48.

[3] Aguirreola J, Ingoyen J, Sanchez-diaz M, et al. Physiological alterations in pepper during wilt induced by *Phytophthora capsici* and soil water deficit[J]. *Plant pathol.*, 1995, 44: 587-596.

[4] 朱英波, 史凤玉, 李超. 辣椒抗疫性组织病理学初步研究[J]. *中国农学通报* 2002 18(5): 55-56.

[5] Jeun Y C, Hwang B K. Carbohydrate, amino acids, phenolic and mineral nutrient contents of pepper plants in relation to age-related resistance to *Phytophthora capsici*. [J]. *Phytopathology*, 1991, 131: 40-52.

[6] Hwang B K, Yoon J Y, Ibenhal W D, et al. Soluble proteins, esterases and superoxide dismutase in stem tissue of pepper plants in relation to age-related resistance to *Phytophthora capsici*[J]. *J Phytothology*, 1991, 132: 129-138.

[7] 黄凤莲, 刘寿明, 曾瑞香, 等. 湘研辣椒品种抗疫病筛选及抗性机制研究[J]. *湖南农业大学学报*, 1999, 25(4): 303-309.

[8] 王兰兰, 程鸿. 辣椒苗期抗疫病鉴定及抗性机制的研究[J]. *甘肃农业科技* 1996(3): 37-39.

[9] 冉莹青, 利容千. 辣椒感染疫霉菌后几种酶活性及同工酶带变化[J]. *植物病理学报*, 1997, 27(2): 156.

[10] Alcazar M D, Egea C, Espin A, et al. Peroxidase isoenzymes in the defense response of *Capsicum annuum* to *Phytophthora capsici*[J]. *Physiologia Plantarum*, 1995, 94: 736-742.

[11] Mozzetti C. Variations in enzyme activities in leaves and cell suspensions as markers of incompatibility in different *Pytophthora-pepper* interaction[J]. *Physiol. Mol. Plantpathol.*, 1995 40(2): 95-107.

[12] Candela M E, Alcazar M D, Espin A, et al. Soluble phenolic acids in *Capsicum annuum* stems infected with *Phytophthora capsici*[J]. *Plant Pathology*, 1995 44: 116-123.

[13] 冯东昕, 李宝栋. 辣椒疫病病原菌及抗病育种研究进展[J]. *中国蔬菜*, 1999(2): 48-52.

离、鉴定时,证明普遍存在于土壤、植物叶际的菌株通过动、植物、微生物营养级的长期共同进化可在昆虫肠道内形成密切的寄生关系。而 Dubois 等^[24]在研究森林土壤微生物与 Bt 毒蛋白共同对舞毒蛾 (*Lymantria dispar*) 作用时却发现,森林土壤中普遍存在的许多属的芽孢或营养细胞对较少剂量的毒蛋白晶体都有显著增效作用,且受舞毒蛾饲料营养成分中铁含量的影响。这一研究结果在论证 Bt 毒蛋白基因在环境微生物中表达有利于延长毒力持久性或降低使用剂量的同时,也从生防角度说明了维护环境生态多样性的重要性。筛选具有增效作用的菌株,并按照一定浓度将这些菌株与苏云金杆菌制剂混用是提高苏云金杆菌制剂对目标害虫毒力的一条有效途径。林开春^[25]对武汉市郊环境微生物中的增效细菌进行了调查和筛选。在初筛中,采用测定各单剂和混剂的试虫实际死亡率 (P_1),按 Sakai S 公式计算理论的死亡率 (P_2),当 $P_1 > P_2$ 时确定为增效作用阳性菌株,在复筛结果统计中采用 Bliss 法,增效百分率 $[(P_1 - P_2) / P_2 \times 100]$ 大于 20 的菌株为明显增效菌株;在终筛中,测定出各单剂和混剂对不同供试昆虫的 LC_{50} 的值,按照 Sun-Johnson 方法进行共毒系数 (CTC 值) 的计算。当 $CTC \geq 120$ 时认为增效明显, $CTC \leq 80$ 时为拮抗作用。 $80 < CTC < 120$ 为相加作用。CTC 值愈大增效作用愈强。筛选结果表明自然环境中存在着大量对苏云金杆菌有增效作用的细菌,这些细菌中不乏增效活性很强的菌株。

2 细菌发酵上清液对苏云金杆菌的增效作用

2.1 苏云金杆菌发酵上清液对苏云金杆菌的增效作用

2.1.1 苏云金杆菌的发酵上清液对苏云金杆菌的直接增效作用 长期以来,许多学者认为苏云金杆菌的毒力来源于伴孢晶体和芽孢。因此,国内外生产上后处理工艺以保护晶体和芽孢为目的,一般采用离心浓缩干燥技术,离心的上清液作为废液丢弃。后来发现某些苏云金杆菌的发酵上清液对苏云金杆菌的杀虫效果具有增效作用。例如 Asano S 等^[26]1995 年研究了苏云金杆菌培养物的上清液对杀虫晶体蛋白的增效作用,生物测定结果表明库斯塔克亚种苏云金杆菌的培养物上清液提高了该亚种苏云金杆菌杀虫晶体蛋白对鳞翅目害虫的杀虫效果。可是这种库斯塔克亚种苏云金杆菌的培养物上的上清液对该亚种苏云金杆菌杀虫晶体蛋白的增效作用仅限于斜纹夜蛾 (*Spodoptera litura*)、甘蓝夜蛾 (*Mamestra brassicae*)、甜菜夜蛾 (*Spodoptera exigua*) 的幼虫,而用小菜蛾 (*Plutella xylostella*) 和卷叶蛾 (*Adoxophyes honmai*) 生测时不表现增效作用^[27]。Bt-79007 菌株发酵离心的上清液对棉铃虫 (*Heliothis armigera*) 具有极强的杀虫增效作用^[28]。Bt-79007 菌株发酵离心除去上清液后,该菌株对棉铃虫的效价为 1307×10^3 IU/

mL; 加入 10% 的上清液后,79007 菌对棉铃虫的效价为该菌株除去上清液后效价的 1.53 倍。此外,79007 菌的发酵上清液对 7216-F2、HD-1-580 均具有明显的增效作用。2000 年 Asano S 等^[29]发现对日本丽金龟幼虫高效的苏云金杆菌 Buibui 菌株培养物的上清液提高了 KM202(CryIAc)对斜纹夜蛾幼虫的杀虫效果。单独用含有 $3\ 000\ \mu\text{g/g}$ 的 KM202(CryIAc)的饲料饲养斜纹夜蛾幼虫,7 d 后其死亡率是 54%;与 Buibui 菌株培养物的上清液混合使用,7 d 后斜纹夜蛾幼虫的死亡率是 100%。

2.1.2 苏云金杆菌的发酵上清液对苏云金杆菌的间接增效作用 苏云金杆菌制剂在田间使用过程中,容易受到阳光中紫外线的破坏而失活,降低其田间防治效果。苏云金杆菌 CH 菌株是冯书亮等^[30]采用亚硝基胍诱变苏云金杆菌 T84AI 菌株 (*Bacillus thuringiensis* subsp. dendrolimus) 获得的一株能够在营养生长过程中产生维生素 B₂ 对苏云金杆菌具有光保护作用, $50\ \mu\text{g/mL}$ 的维生素 B₂ 与 HD-1 和 7905 孢晶体制剂混合,经紫外线照射后,对玉米螟进行生物测定,可以提高杀虫效果 1.34 ~ 1.47 倍。

2.2 粘质沙雷氏菌的发酵上清液对苏云金杆菌的增效作用

粘质沙雷氏菌 (*Serratia marcescens*) 培养物的上清液对苏云金杆菌也有增效作用。粘质沙雷氏菌培养物的上清液可以提高苏云金杆菌的 δ 内毒素 (CryIC) 对斜纹夜蛾幼虫的杀虫效果^[31]。这种增效作用表现在对幼虫死亡率和生长抑制率的影响上。这种增效作用与粘质沙雷氏菌培养物的上清液或 CryIC 浓度的增加成正比。把沙雷氏菌培养物的上清液与 CryIC 混合,可使 CryIC 的杀虫活性提高 8 倍。但是这种增效作用只限于对斜纹夜蛾的杀虫效果上,而对甘蓝夜蛾、小菜蛾和卷叶蛾这 3 种鳞翅目害虫无效。所以,粘质沙雷氏菌培养物的上清液仅对苏云金杆菌的 δ 内毒素 (CryIC) 具有增效作用,并且对于不同的昆虫种类效果不同。

2.3 蜡状芽孢杆菌的发酵上清液对苏云金杆菌的增效作用

蜡状芽孢杆菌的发酵上清液对苏云金杆菌的增效作用是因为其上清液中含有一种水溶性物质—Zwittermicin A。Zwittermicin A 是由 Eric V stabb 等^[32]在研究蜡状芽孢杆菌 (*Bacillus cereus*) 时发现的。Zwittermicin A 能增强蜡状芽孢杆菌抑制由 *Phytophthora medicaginis* 引起苜蓿猝倒病。蜡状芽孢杆菌本身对舞毒蛾 (*Lymantria dispar*) 无杀虫活性。各种各样的蜡状芽孢杆菌菌株的活性与其在培养物中积累的对苏云金杆菌具有 Zwittermicin A 有关。Zwittermicin A 本身对舞毒蛾幼虫无杀虫活性,当常规计量的库斯塔克亚种的苏云金杆菌和不同浓度的 Zwittermicin A 混合在人工饲料中

饲养舞毒蛾幼虫时,舞毒蛾幼虫的死亡率与 Zwittermucin A 的剂量成正比。*B. cereus* 的突变菌株不能产生 Zwittermucin A,把 Zwittermucin A 加入到 *B. cereus* 突变菌株的培养物中,突变菌株又恢复了增效活性。结果表明 Zwittermucin A 对库斯塔克亚种的苏云金杆菌具有增效作用。进一步研究发现,苏云金杆菌某些菌株也可产生该物质。Manker 等^[33]发现 HD-1 菌株能够产生一种很像 Zwittermucin A 的物质,该物质与 Bt 复配,能加剧敏感昆虫中肠上皮细胞受体孔道的形成,增加伴孢晶体的作用效果。

综上所述,上清液的种类、上清液和杀虫晶体蛋白的浓度影响着上清液对苏云金杆菌的增效效果。这可能是因为上清液中所含增效物质的种类、性质不同造成的。目前已确定了对苏云金蜡状芽孢杆菌的发酵上清液的增效成分是 Zwittermucin A,苏云金杆菌和部分苏云金杆菌 CH 菌株发酵上清液的增效成分是 B₂,对于其他细菌的发酵上清液,还不了解是什么增效活性成分。为什么对于不同的昆虫种类,上清液对苏云金杆菌的增效作用不同,这些还有待于进一步研究。

3 芽孢杆菌的芽孢对苏云金杆菌的增效作用

苏云金杆菌在形成芽孢的同时,能产生具有强烈杀虫作用的伴孢晶体蛋白,又称 δ 内毒素(delta endotoxin)或杀虫晶体蛋白。由于其对目标害虫高效专一,对非目标生物安全,一直是人们研究的重点^[34],而苏云金杆菌芽孢的杀虫作用多不被重视。后来发现有些菌株的芽孢可以提高苏云金杆菌对某些害虫的杀虫效果。

1978 年 McGaughey^[35]将 Kurstaki 亚种 HD-1 菌株的培养物分离得到纯芽孢和纯伴孢晶体。然后,二者以不同的比例加入到人工饲料中供印度谷螟(*Plodia interpunctella*)幼虫取食。当芽孢与伴孢晶体的比例为 50:50 时,毒性最大;在混合物中芽孢比例减少或增加,其杀虫效果都相应降低。Liu Yong-biao 等^[36]以敏感品系和抗性品系的小菜蛾为供试虫,研究了 HD-1 菌株和 ATCC SD-1372 菌株的芽孢对其杀虫晶体蛋白对敏感品系小菜蛾的 LC₅₀降低了 450 倍。ATCC SD-1372 菌株的芽孢对其杀虫晶体蛋白无增效作用。

阮丽芳等^[37]以棉铃虫为供试虫对蜡状芽孢杆菌 34-16 菌株的营养体和芽孢及其发酵上清液进行增效作用测定,结果表明,34-16 菌株的芽孢明显提高了 BtCS3ab-91 和 Bt8018 对棉铃虫的杀虫效果,并初步证明增效活性物质为芽孢表面的蛋白类物质。

进一步研究表明,苏云金芽孢杆菌 HD-1 菌株、蜡状芽孢杆菌 34-16 菌株的芽孢衣蛋白质与杀虫晶体蛋白之间存在着部分同源性。Lecadet 和 Dedonder^[38]指出,杀虫晶体蛋白质和芽孢衣蛋白质中的一个组分在芽孢形成的第 I 和第 II 阶段同时形成。Short 等^[39]以标记抗

体和超薄切片电镜观察明确指出,伴孢晶体蛋白质定位于芽孢外套的内侧和芽孢衣中。Somerville 等^[40]发现,从苏云金杆菌和蜡状芽孢杆菌的芽孢中抽提出的蛋白质成分在血清学、电泳泳动性、胰蛋白酶消化物多肽图谱及氨基酸成分方面几乎相同。这有可能是上述菌株的芽孢对苏云金杆菌具有增效作用的原因,然而,苏云金杆菌 Buibui 菌株是对日本金龟幼虫高效而对鳞翅目害虫无效的苏云金杆菌,其活芽孢与 HD-1 菌株的杀虫晶体蛋白之间不存在同源性却提高了 HD-1 菌株对小菜蛾的杀虫效果(Shoji Asano)^[41]。苏云金杆菌 HBF-1 菌株对黄褐丽金龟(*Anomala exoleta*)和铜绿丽金龟(*A. corpulenta*)幼虫具有较高杀虫活性的苏云金杆菌新菌株,该菌株对鳞翅目害虫无杀虫活性,其活芽孢提高了 HD-1 菌株对棉铃虫的杀虫效果,这种活芽孢增效作用的原因还不清楚,有待进一步研究。

目前,许多学者从生物化学、分子生物学、组织病理学等方面研究了 Bt 毒素的作用机制^[2,42-43],比较公认的芽孢杆菌芽孢的作用方式可能有以下几种:芽孢含有与晶体类似的蛋白,在敏感幼虫肠道的肠液环境下或蛋白酶作用下释放出来起杀虫作用。芽孢在幼虫肠道内萌发穿过肠壁进入血腔引起败血症,导致幼虫死亡。芽孢在萌发过程中产生某种毒素起毒杀作用。但目前为止尚无直接证据证明。

4 结束语

目前研究主要是针对增效菌株增效成分效果的研究,增效机理、增效成分的杀虫作用机制有待于进一步研究,这对于阐明提高苏云金杆菌杀虫效果的途径具有重要意义。

工业生产中,采用离心分离技术回收苏云金杆菌的芽孢晶体,大大降低了能耗。但离心分离技术造成了某些菌株上清液中增效成分的流失,例如,李青等报道苏云金杆菌 GC-91 菌株发酵液离心后,毒力下降 70%左右^[44]。因此,随着对回收发酵上清液的工艺技术路线的完善和增效成分的增效作用机制的进一步明确,必将大幅度地提高苏云金杆菌产品的防治效果并降低生产成本,从而为我国植物保护提供理想的微生物农药品种。

参考文献

- [1] 黄大昉,林敏. 农业微生物基因工程[M]. 北京: 科学出版社, 2001: 4-9.
- [2] 戴莲韵, 王学聘. 苏云金芽孢杆菌研究进展[M]. 北京: 科学出版社, 1997.
- [3] Salama H S, Foda M S, Sharaby A. Potential of some chemicals to increase the effective of *Bacillus thuringiensis* Berl. Against *Spodoptera littoralis* (Boisd.). J. Z. Ang. Entomol. 1985, 100: 425-433.
- [4] El-Moursy A, Aboul-Eia R, Salama H S, et al. Chemical additives that affect the potency of endotoxin of *Bacillus thuringiensis* against *Ploia interpunctella*[J]. Insect Sci Appl 1992 15(6): 775-779.
- [5] Salama H S, Foda M S, Sharaby A. Novel biochemical avenues for enhancing *Bacillus thuringiensis* endotoxi potency against *Spodoptera littoralis*

- (Lep.: Noctuidae) [J]. Entomophaga, 1984, 29(2): 171-178.
- [6] El-Moursy A, Aboul-Ela R, 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.
- [7] Gaudet M D, Punich G S. Fatty acid salt enhancement of bacterial insecticide [J]. U S Patent, 482, 66-78.
- [8] Charles C D, Wallis R. Enhancement of the action of *Bacillus thuringiensis* var. *thuringiensis* on *Plutella dispar* (Linn.) in laboratory tests [J]. Insect Pathol, 1964, 6: 423-429.
- [9] Berenbaum M R. Allelochemicals in insect-microbe-plant interactions: Agents provocateurs in the coevolutionary arms race [M] // Barabosa P, Letourneau K. Novel Aspects of Insect-plant interactions. New York: Wiley, 1988, 97-123.
- [10] Felton G W, Donato K, Del Vecchio R J, et al. Activation of plant polyphenol oxidases by insect feeding reduces the nutritive quality of foliage for noctuid herbivores [J]. J Chem Ecol, 1989, 15: 2667-2694.
- [11] Schnepf H E, Wong H C, Whiteley H R. The amino acid sequence of a crystal protein from *Bacillus thuringiensis* deduced from the DNA base sequence [J]. J Biol Chem, 1985, 260: 6264-6272.
- [12] Ludlum C T, Felton G W, Duffey S S. Plant defenses: chlorogenic acid and polyphenol oxidase enhance toxicity of *Bacillus thuringiensis* subsp. *Kurstaki* to *Heliothis zea* [J]. J Chem Ecol, 1991, 17(1): 217-237.
- [13] 邱立有, 赵柏叶, 顾溯海, 等. 链霉素 A048 几丁质酶的性质及其对 Bt 杀虫的增效作用 [J]. 武汉大学学报(自然科学版), 1998, 133-134.
- [14] Bell M R, Romine C L. *Heliothis virescens* and *H. zea* (Lepidoptera: Noctuidae): Dosage effects of feeding mixtures of *Bacillus thuringiensis* and a nuclear polyhedrosis virus on mortality and growth [J]. Environ Entomol, 1986, 15(6): 1161-1165.
- [15] 庞义. 昆虫病毒病 [A]. 见: 萧蛰龙主编. 昆虫病理学 [M]. 广州: 广东科技出版社, 1994, 92-117.
- [16] 张循浩, 张翠珍, 马振泉, 等. 菌毒畏防治抗性棉铃虫的效果及对天敌的影响 [J]. 中国生物防治, 1996, 12(1): 1-4.
- [17] Ignoffo C M, Garcia C, Kroha M J, et al. Effects of bacteria and a fungus fed singly or in combination on mortality of larvae of the cabbage looper (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. J Kans Entomol Soc, 1980, 53(4): 797-800.
- [18] Nadarajan L, Martouret D. Synergistic action of different strains of *Bacillus thuringiensis* against cotton leaf worm *Spodoptera litoralis* (Boisduval) [J]. Curr Sci, 1994, 67(8): 610-612.
- [19] Heimpel A M, Angus T A. The site of action of crystalliferous bacteria in Lepidoptera larvae [J]. J. Insect Pathol, 1959, 1: 152-170.
- [20] Braig H R, Guzman H, Tesh R B, et al. Replacement of the natural symbiont of *Drosophila simulans* with a mosquito counterpart [J]. Nature, 1994, 367: 453-455.
- [21] Parster B J, Dewhurst F E, Cooke M, et al. Phylogeny of not-yet-cultured spirochetes from termite guts [J]. Appl Environ Microbiol, 1996, 62: 347-352.
- [22] Ward D M, Weller R, Bateson M M. 16S rRNA sequences reveal numerous uncultured microorganisms in a natural community [J]. Nature, 1990, 345: 63-65.
- [23] McKillip J L, Small C L, Brown J L, et al. Sporogenous midgut bacteria of the leafroller, *Pandemis pyrusana* (Lepidoptera: Tortricidae) [J]. Environ. Entomol., 1997, 26(6): 1475-1481.
- [24] Dubois N R, Dean D H. Synergism between CryIA insecticidal crystal proteins and spores of *Bacillus thuringiensis* other bacterial spores and vegetable cells against *Lymantria dispar* (Lepidoptera: Lymantriidae) larvae [J]. Environ. Entomol., 1995, 24(6): 1741-1747.
- [25] 林开春, 吴继星, 谢天健, 等. 苏云金杆菌 GC-91 发酵上清液的增效作用 [J]. 中国生物防治, 1997, 13(4): 166-168.
- [26] McGaughey W H. Response of *Plodia interpunctella* and *Ephestia cautella* larvae to spores and parasporal crystals of *Bacillus thuringiensis* [J]. J Econ Entomol, 1978, 71: 687-688.
- [27] Hori H, Asano S, Ogiwara S. Some features of synergistic compound which enhances the insecticidal activity of δ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis* [J]. Appl Entomol Zool, 31: 29-35.
- [28] 吴继星, 陈在佩, 李青, 苏云金杆菌 79007 发酵上清液对棉铃虫的毒力作用 [J]. 微生物学报, 1997, 24(1): 35-36.
- [29] Asano S, Katsutoshi Ogiwara, Makoto Takahashi. Intraspecific culture medium of *Bacillus thuringiensis* serovar *japonensis* Buih enhances the insecticidal activities of δ -endotoxin from *B. thuringiensis* serovar *Kurstaki* and *aizawai* against lepidopterous pest insects [J]. Appl Entomol Zool, 2000, 35(4): 575-582.
- [30] 冯书亮, 王容燕, 付韵琴, 等. 产维生素 B₂ 的苏云金杆菌 CH 菌株的生物学特性 [J]. 华北农学报, 1997, 12(专辑): 1-7.
- [31] Asano S, Ogiwara K, Nakagawa Y. Prodigiosin Produced by *Serratia marcescens* Enhances the Insecticidal Activity of *Bacillus thuringiensis* δ -Endotoxin (CryIC) against Common Cutworm, *Spodoptera litura* [J]. J Pesticide Sci, 1999a, 24: 381-385.
- [32] Eric V. Stabb. Zwittermicin A-Producing strains of *Bacillus cereus* from diverse soils [J]. Applied and Environmental Microbiology, 1994, 60(12): 4404-4412.
- [33] Manker D C. Patent cooperation Treaty Patent Application [J]. Wo94/09630.
- [34] Hofte H, Whiteley H R. Insecticidal crystal proteins of *Bacillus thuringiensis* [J]. Microbiol Rev, 1989, 53: 242.
- [35] McGaughey W H. Response of *Plodia interpunctella* and *Ephestia cautella* larvae to spores and parasporal crystals of *Bacillus thuringiensis* [J]. J Econ Entomol, 1978, 71: 687-688.
- [36] Liu Yong-Biao, Tabashnik Bruce E, Moar William J, Smith J. Synergism between *Bacillus thuringiensis* spores and toxins against resistant and susceptible diamondback moths (*Plutella maculipennis*) [J]. American Society for Microbiology Appl Environ Microbiol, 1998, 64(4): 1385-1389.
- [37] 阮丽芳, 林开春. 蜡质芽孢杆菌 34-16 菌株对苏云金芽孢杆菌增效作用机制初步探讨 [J]. 中国病毒学杀虫微生物专刊, 2000, 15: 120-125.
- [38] Lecadet M M, Dedonder R. Biogenesis of the crystalline inclusion of *Bacillus thuringiensis* during sporulation [J]. Eur J Biochem, 23: 282-294.
- [39] Short J A, Walker P D, Thomson R O. The fine structure of *Bacillus thuringiensis* and *Bacillus thuringiensis* spore with special reference to the location of crystal antigen [J]. J Gen Microbiol, 30: 1052-1053.
- [40] Somerville H J, Jams C R. Association of the crystalline inclusion of *Bacillus thuringiensis* with the exosporium [J]. J Bacteriol, 102: 580-583.
- [41] Asano S, Katsutoshi Ogiwara, Leslie S, Indra S. Synergism of the spore on insecticidal activity of δ -endotoxin of *Bacillus thuringiensis* against the diamondback moth, (Lepidoptera: Yponomeutidae) is not observed at late stage in bioassay [J]. Appl Entomol Zool, 2000, 35(4): 589.
- [42] Gill M, Ellart D. Transgenic *Drosophila* reveals a functional in vivo receptor for the *Bacillus thuringiensis* toxin CryIAc [J]. Insect Molecular Biology, 2002, 11(6): 619-625.
- [43] Whalon M E, Wingerd B A. Bt: mode of action and use [J]. Arch Insect Biochem Physiol, 2003, 54: 200-211.
- [44] 李青, 吴继星, 谢天健, 等. 苏云金杆菌 GC-91 发酵上清液的增效作用 [J]. 中国生物防治, 1997, 13(4): 166-168.