

病毒杀虫剂的研究现状

姚东伟¹, 郑宇^{1,2}, 张光星²

(1. 上海市农业科学院园艺研究所, 上海市设施园艺技术重点实验室, 上海 201106; 2. 山西农业大学 园艺学院, 山西 太谷 030801)

摘要: 病毒杀虫剂是当今生物农药研发的热点。现就昆虫病毒杀虫剂的研究、开发及其优点与局限进行了概述, 并展望了未来发展前景。

关键词: 病毒; 杀虫剂; 研究

中图分类号: S 482.3 **文献标识码:** A **文章编号:** 1001-0009(2008)03-0069-04

当前应用化学农药防治害虫依然是提高作物产量的主要措施之一, 但是由于化学农药的不合理、加量使用, 病虫害产生抗药性, 导致农药残留量大、环境污染严重、人畜中毒现象时有发生, 严重危害到了人们的生活。减少使用高毒高残留农药, 并推广无公害种植技术就成了当务之急, 病虫害的生物防治也就显得尤为迫切。而在众多的生物农药中, 病毒杀虫剂因其特异性强, 对人、畜安全, 不易破坏生态平衡而脱颖而出, 倍受人们的关注, 已成为当今生物农药研究与开发的热点。

1 昆虫病毒杀虫剂国内外研究进展

病毒, 是非细胞形式的最小有机体, 是一种原始的生命形态, 一个病毒由两部分组成: 内部髓核和外部衣壳。目前, 世界上已从 1100 多种昆虫中发现了 1 600 多种昆虫病毒, 其宿主涉及昆虫 11 目 43 科, 我国已从 7 个目, 35 科的 196 个虫种中分离到 240 多株昆虫病毒, 用于害虫生物防治的昆虫病毒主要是杆状病毒科的核多角体病毒(NPV)、颗粒体病毒(GV)和质型多角体病毒(CPV), 主要用于防治棉铃虫、菜青虫、桑毛虫、斜纹夜蛾、小菜蛾等害虫。昆虫病毒的最大特点是当被昆虫食入后能形成包涵体, 一个包涵体中含有一个或多个病毒粒子。包涵体不溶于水, 也不溶于有机溶剂, 但能溶于酸碱溶液。然后在昆虫的胃液作用下释放病毒粒子, 感染幼虫, 近而在昆虫体内大量繁殖, 干扰其血液循环, 最终昆虫感病死亡。昆虫病毒的感染途径主要是食入感

第一作者简介: 姚东伟 (1979-), 男, 硕士, 助理研究员, 主要从事园艺种子加工技术研究。E-mail: yaodong412@sina.com。
基金项目: 上海市中小企业创新资金资助项目 (0639H1N07)。
收稿日期: 2007-09-13

师范大学学报(自然科学版), 2001, 24(5): 520-521.

[12] 李群, 陈丽萍, 石铁松. 马蹄莲组培过程中真菌和细菌污染的消除方法研究[J]. 四川师范大学学报(自然科学版), 2001, 24(6): 607-609.

[13] Chen JunneJih, Liu MingChung. Size of vitro plantlets affects subsequent tuber production of acclimated calla lily[J]. HortScience, 2000, 35(2): 290-292.

[14] 才华. 广西引种多色马蹄莲成功[N]. 花卉报, 1988-7-22.

[15] 刘庆昌, 吴国良. 植物细胞组织培养[M]. 北京: 中国农业大学出版社, 2003.

[16] 李国义. 彩色马蹄莲组培快繁研究[D]. 哈尔滨: 东北农业大学, 2003.

[17] 刘金朗. 植物生长调节剂在彩色马蹄莲组培与快繁中的生理效应[J]. 植物生理学通讯, 2005 41(2): 185.

[18] 李倩中, 陈发棣, 赵桂菊. NAA, BA 对彩色马蹄莲品种‘风韵’组织培养的影响[J]. 江苏林业科技, 1998, 25(增刊): 167-169.

[19] Xiao TiaoJiang, Li Heng Long ChunLin et al. Studies on the micro-propagation of four Zantedeschia cultivars[J]. Acta Botanica Yunnanica, 1998, Suppl. X: 101-103.

[20] 吴丽芳, 熊丽, 屈云慧, 等. 彩色马蹄莲组培研究[J]. 西南农业大学学报, 1999, 21(5): 423-426.

[21] Purwito A, Aisyah S I, Tjandra A. Micropropagation of calla lily (Zantedeschia sp.) by tissue culture[J]. Tropenlandwirt, Beiheft, 2001, (73): 307-312.

[22] Chang H S, Chakrabarty D, Hahn E J, et al. Micropropagation of calla lily (Zantedeschia albomaculata) via in vitro shoot tip proliferation[J]. In Vitro Cellular & Developmental Biology Plant, 2003 39(2): 129-134.

[23] 牟宁宁, 高亦珂. 植物无糖组培技术研究进展[J]. 林业科技开发, 2007, 21(1): 10-12.

[24] 屈云慧, 熊丽, 张素芳, 等. 彩色马蹄莲组织苗无糖生根培养的环境控制[J]. 植物遗传资源学报, 2004, 5(2): 166-169.

[25] 杨奎妹, 张和琴, 邹荫, 等. 彩色马蹄莲等花卉新品种引进筛选及栽培技术的研究[J]. 天津建设科技, 1999(4): 32-33.

[26] 王爱勤, 何龙飞, 王彦红, 等. 马蹄莲块茎试管培养研究[J]. 广西农业科学, 1998(2): 92-94.

[27] 张天琪, 李荣旗, 王玉忠, 等. 细胞分裂素诱导彩色马蹄莲试管微型种球[J]. 北京林业大学学报, 2005, 27(3): 108-111.

[28] 彭峰, 陈嫣嫣, 郝日明, 等. 彩色马蹄莲试管块茎诱导研究[J]. 江苏农业科学, 2006(3): 94-96.

[29] 于惠敏, 路朋, 何晓光. 植物组织培养技术及常见问题和解决措施[J]. 山东教育学院学报, 2005(6): 101-103.

[30] 周涤, 吴丽芳. 马蹄莲研究进展[J]. 中国农学通报, 2006 22(9): 284-290.

染也有皮肤感染,但不同类型昆虫病毒的杀虫原理也有所不同^[1]。目前应用于杀虫剂的主要是昆虫病毒中的杆状病毒。由于它们从未在脊椎动物和植物中发现,因此被认为对人类、非靶标生物和环境十分安全^[2]。利用昆虫杆状病毒防治害虫始于19世纪,1892年,德国第一次用模毒蛾核多角体病毒(*Lymantria monacha* NPV, LmNPV)防治松林害虫;1913年,美国用舞毒蛾核多角体病毒(*Lymantria dispar* MNPV, LdMNPV)进行了田间防治舞毒蛾的试验。澳大利亚于1940年第一次空中喷洒梨豆夜蛾核多角体病毒(*Anticarsia gemmatilis* AgMNPV)防治梨豆夜蛾。1949年,Steinhaus分离到甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* NPV (SeNPV)^[3]。Tompkins等(1969)用生物学、病理学和电镜技术证实了粉纹夜蛾 NPV 可感染美洲棉铃虫。在1975年,美国第一个注册的病毒虫剂用于防治美洲棉铃虫(*Helicoverpa zea*),对全世界其它杆状病毒开发和应用的发展产生了重大影响。再之后美国利用 *Anagtrapha lufera* NPV 和苏云金杆菌(Bt)制剂混用防治美洲棉铃虫(*Heliothis zea*)也取得了良好的效果^[4]。

我国昆虫病毒研究开发起步较晚,但发展迅速,始于20世纪50年代,在70年代相继发展起来,武汉大学1978年开始对菜粉蝶颗粒体病毒进行了国内外最系统最深入的基础和应用研究,标志着昆虫病毒杀虫剂产业化基本模式的形成。1985年在湖北蒋湖农场投资建立了我国第一个棉铃虫病毒杀虫剂工厂。1990年从黑胸大蠊中分离获得非包涵体细小病毒,是国内外第一个正式分类鉴定的蟑螂病毒,完成全基因组核苷酸序列测定和产业化程序,并在防治蟑螂中发挥重要作用。1993年,国内第一个昆虫病毒杀虫剂—棉铃虫核型多角体病毒取得产品登记,使之正式进入商品化生产领域。2003年,河南济源白云实业有限公司与中科院强强联合,对我国生物农药的生产始终无法突破昆虫饲养和病毒提取等难题进行了科技攻关,采用自主知识产权的棉铃虫群养技术和系统集成的病毒分离提纯技术首次分离高品质昆虫病毒生物杀虫剂原药。目前,该公司共有3种病毒原药,都是国际上迄今为止含量最高的昆虫病毒。据不完全统计,全世界至少有60多种病毒进入大田进行防治农林害虫的试验,注册病毒杀虫剂品种有30多个,其中,美国6种,欧洲10种,俄罗斯11种,中国9种^[5]。

2 病毒杀虫剂的分类研究

2.1 病毒的基因研究

对病毒的基因研究主要集中在引入可编码具有杀虫作用的神经毒素、利尿激素、羽化激素、蝎子毒素、肽或酶的NPV病毒基因,在不影响病毒本身功能的条

件下增强其毒力;或删除能延长被侵染幼虫生命的基因等以加快毒杀速度和扩大寄主范围。迄今,已将编码保幼激素酯化酶、昆虫利尿激素和几种Bt蛋白质的基因利用遗传工程的方法引入到苜蓿纹夜蛾的NPV中。实验结果表明,这种工程病毒能够相当快地杀死或麻痹昆虫^[6]。当前被认为最有应用前景的是神经毒素工程病毒,包括蝎子、螨类和蜘蛛的神经毒素,当昆虫取食病毒后,毒蛋白在细胞中表达,从而进行流行扩散。我国已获得含蝎子麻痹神经毒素基因的粉纹夜蛾核型多角体病毒基因工程重组株,以甜菜夜蛾和银纹夜蛾幼虫为试虫进行测试,2~3龄幼虫口服感染后,24h开始麻痹,继而停止取食。与野生型病毒株比较,取食量减少3倍,幼虫死亡时间平均缩短1~2d。利用基因工程技术将增效蛋白(En)、苜蓿银纹夜蛾多角体病毒(AcNPV)与苏云金杆菌(Bt)复配,增效作用达3.47倍,在生产上,利用AcNPV、Bt、En能很好地防治甜菜夜蛾^[7]。Smith等^[8]进行了美国棉铃虫核多角体病毒(HzSNPV)、苜蓿丫纹夜蛾核型多角体病毒(AcMNPV)和在这两种病毒中插入蝎毒素基因的重组病毒的野外试验,主要观察这几种病毒对天敌小花蝽 *Orius spp.*、小毛瓢虫 *Scymnus spp.*、姬蝽 *Nabis spp.* 和大眼长蝽 *Ceocoris spp.* 等的影响。结果重组病毒处理区的天敌的密度和多样性与野生型病毒处理区的很相近。这说明重组病毒对环境的影响和危险较低。基因工程技术的应用,既能克服已有病毒杀虫剂的一些主要缺点,又能保留对人类、非靶标生物及环境安全的特性,但通过其改进所能达到的程度还要取决于人们对这些病原微生物复杂性的认识程度。如果病原体的结构越简单,对其结构知道得越多,则用基因工程改造就越容易。

2.2 病毒复合杀虫剂的研究

病毒复合杀虫剂是加入辅助因子和增效因子,达到提高杀虫效应、扩大杀虫范围的目的。解决了由于病毒杀虫剂高度专业化而导致的“单打一”的矛盾。目前市场需求旺盛,复合制剂发展很快,病毒复合剂可以分为两类:一类是一种或几种病毒与其它昆虫病原微生物复合,互相取长补短。邬开朗等用菜粉蝶颗粒体病毒(*Pieris rapae granulosis virus*, PrGV)和Bt的复合制剂,对菜粉蝶幼虫进行毒力测定,结果表明,复合制剂对Bt单剂的共毒系数为161.91,表明PrGV与Bt有增效作用^[9]。侯建文等的研究也表明,当病毒与Bt复配后,其毒力比单一制剂明显提高。从甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua*)虫体增殖获得的苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒(*Autographa californica* Nuclear polyhedrosis virus, AcMNPV)A株,加Bt和斜纹夜蛾核型多角体病毒(*Spodoptera litura* Nuclear polyhedrosis virus, SLN-

PV) 形成的复配制剂对甜菜夜蛾二龄幼虫的 LD_{50} (21.82~21.4 PIB/头) 与单剂 AcMNPV A 株的 LD_{50} 值 (168.84~204.36 PIB/头) 相比, 增效比值为 9.5~7.7 倍。此复配制剂对斜纹夜蛾二龄幼虫 LD_{50} (3.16~15.46 PIB/头) 与单剂 SLNPV LD_{50} (16.02~53.53 PIB/头) 增效比值为 5.1~3.5 倍^[10]。另一类是病毒与少量低残留化学农药复配, 这样可以破坏昆虫正常的生理状态, 降低害虫对药剂的抵抗力, 同时也降低了化学农药的用量, 克服了其自身的不足。匡石滋等的研究发现, 在 $(28 \pm 1)^{\circ}\text{C}$ 的条件下, 化学农药毒死蜱 (Chlorpyrifos) 和除尽 (Chlorfenvapyr) 与棉叶夜蛾 NPV 混合感染 4 龄期的斜纹夜蛾幼虫, 具有相互增效作用, 能提高供试昆虫的最终死亡率^[11]。据万成松等的报道, 棉铃虫核型多角体病毒 (*Helicoverpa armigera* nuclear polyhedrosis virus, HaNPV) 分别与三氟氯氰菊酯、溴氰菊酯、氰戊菊酯、辛硫磷、甲基对硫磷和乙酰甲胺磷等化学杀虫剂混合饲喂棉铃虫幼虫, 结果发现, HaNPV 与化学杀虫剂混合饲喂抗性棉铃虫, 增效比均大于 1.0, 特别是病毒与甲基对硫磷混用, 增效比可达到 3.53^[12]。

2.3 异源病毒重组的研究

异源病毒重组是利用不同杆状病毒基因组之间具有较高的同源系列, 用两种异源杆状病毒共同感染目标昆虫或用其 DNA 共同侵染昆虫细胞质, DNA 同源系列之间发生等位基因互换, 形成重组病毒。重组病毒可以扩大寄主范围, 增强毒力。王晓容等发现, 用芹菜夜蛾核型多角体病毒 (*Anagrapha falcifera* nuclear polyhedrosis virus, AfMNPV) 和用菜粉蝶颗粒体病毒 (*Pieris rapae granulosis virus*, PrGV) 的混合悬液感染 3 龄期菜粉蝶幼虫, 可有效降低两种病毒的用量, 并显示出良好的增效作用, PrGV 和 AfMNPV 的毒力倍数分别为单剂的 600 和 400 倍以上。两种病毒不同浓度混合悬液的 LT_{50} 分别比 AfMNPV 和 PrGV 单剂缩短 1.10~2.06 d 和 0.40~1.93 d。证明两种病毒联合作用能明显提高杀虫效果, 缩短幼虫存活时间^[13]。郭慧芳等测定了多种病毒组合对斜纹夜蛾和甜菜夜蛾的联合增效作用。结果表明, 八字地老虎颗粒体病毒 (*Xestia c-nigrum* Granulosis virus, XcGV)、银锭夜蛾质型多角体病 (*Macdunnoughia crassisigna* cytoplasmic polyhedrosis virus, McCPV) 可明显提高斜纹夜蛾核型多角体病毒 (*Spodoptera litura* Nuclear polyhedrosis virus, SLNPV) 对斜纹夜蛾的杀虫速度^[14]。

3 昆虫病毒杀虫剂的优点

3.1 防效好, 安全性高

昆虫病毒杀虫剂具有对害虫特异性强, 对害虫防治效果好, 对人畜安全的特点。目前市场上推广应用成功

的昆虫病毒杀虫剂只对害虫有作用, 一般对人、畜及各种有益生物包括昆虫天敌、动物天敌、传粉昆虫及鱼虾等水生生物比较安全, 亦无致畸作用, 对非靶标生物的影响也很小。

3.2 后效作用强

一些昆虫病毒杀虫剂品种, 具有在害虫群体中的经卵垂直传播能力, 在野外一定条件下, 具有定植、扩散和发展流行的能力。不但可以对当年当代的害虫发挥控制作用, 而且对后代或次年的害虫种群起到一定的抑制, 具有明显的后效作用。

3.3 不易产生抗药性

昆虫病毒杀虫剂可以多种因素和成分互配发挥作用, 害虫难以产生抗药性。

3.4 对生态环境影响小

昆虫杀虫剂其有效活性成分完全存在和来源于自然生态系统, 属天然产物, 可回归利用, 保证可持续发展。因此, 可以认为它们对自然生态环境安全, 无污染。

3.5 开发投资风险相对较小

据国外研究分析, 目前国外新化学农药开发成功的机率, 已经从过去的 1/5000 降低到目前的 1/20000~1/80000^[15]。投资开发昆虫病毒杀虫剂的市场风险较小。而且利用天然微生物资源一般难以受到技术专利法规的控制, 可以在前人大量研究基础之上, 得到创新启示, 后来居上, 往往能够节省人力和物力的投入, 缩短产品的研究开发周期。

4 昆虫病毒杀虫剂的局限性及发展前景

4.1 昆虫病毒杀虫剂的局限性

任何事物都是一分为二的, 虽然病毒杀虫剂具有感染力强、专一性强、抗逆性强等无可比拟的优点, 但还是存在着田间不稳定、持效性差等问题。昆虫病毒对于干燥、阳光或紫外线非常敏感, 如, 病毒多角体在紫外光或日光下易失活。据 Young 和 Yesrian 报道, 随着暴露在阳光下的时间延长 (36 h、48 h、60 h、72 h、96 h), 病毒的活性明显降低, 相应的棉铃虫死亡率分别为 96.7%、80.2%、66.5%、55.5% 和 30.5%^[16]。Huger 等也得出结论: 高粱上的东方粘虫 NPV 活性的降低主要是由于暴露在阳光下所致。还有, 昆虫病毒宿主专一, 杀虫范围小, 毒力发作弱, 使害虫致死速度慢。

近年来已将一定浓度的一些品种的荧光增白剂添加到昆虫病毒杀虫剂中作为它的保护剂和增效剂, 这样一来, 能提高昆虫病毒防紫外线的能力, 能加快病毒致死害虫的速度, 扩大昆虫病毒的宿主域, 改变病毒感染昆虫的途径, 提升昆虫病毒的杀虫能力^[17]。

4.2 昆虫病毒杀虫剂发展前景

4.2.1 昆虫病毒杀虫剂的资源丰富 我国幅员辽阔, 生

态地貌复杂,昆虫种类繁多,有十分丰富的昆虫病毒资源,这对利用我国的昆虫病毒资源,通过多种高新生物技术,发展昆虫病毒杀虫剂产业提供了十分有利的条件。今年,一种昆虫病毒多面体微晶的分子结构又已被确定,这是迄今被用来确定原子结构的最小蛋白晶体,且非常稳定,它有可能用作生物杀虫剂的输送胶带,也可用于微阵列等纳米生物技术应用。

4.2.2 高毒化学农药将退出市场 长期的滥用化学农药,农田生态平衡遭到严重失调,增加了环境污染的严重程度。连续单一使用化学农药,导致病虫抗性不断增强。Ankersmit 于 1953 年就首次报道小菜蛾对 DDT 产生约 7 倍的抗性,且对毒杀芬也产生了抗性^[18],并且以后陆续有人报道。这样导致用药数量和用药次数也不断提高,而实际的药效却不断降低。药剂品种的转化已经成为人类普遍关心的社会问题,而昆虫病毒杀虫剂能克服以上问题且有许多优点,因而受到人们越来越多的关注,在药剂品种的转化中占有重要位置。

4.2.3 生物技术提供了先进的技术手段 生物技术的迅猛发展,也为病毒杀虫剂的发展提供了广阔的空间。利用生物工程技术对病毒进行改良,提高病毒杀虫毒力,扩大杀虫范围,使得杀虫剂研制周期缩短,产品质量更高。

4.2.4 人们的消费理念提供了广阔的市场 在进入小康社会的今天,人们对农产品的需求越来越倾向自然、保健、营养和高品质化,绿色农业、生态农业的兴起也为其提供了广阔的市场。

参考文献

- [1] 洪华珠.病毒杀虫剂的发展方向[J].中国生物防治,1995,11(2):84-88.
- [2] 黄建安.生物农药及其应用概况[J].中国微生物学,2002,14(6):

365.

- [3] Stevdtaus E. A. Nomenclature and classification of insectvirus[J]. Bacteriol. Rev., 1949, 13: 203-223.
- [4] Randa L P, Lealie C L. Field application of *Bacillus thuringiensis* and *Anagrapha falcifera* multiple nucleopolyhedrovirus against the corn earworm[J]. Econ. Entomol., 1997, 90: 1195-1199.
- [5] 朱吕雄.生物农药的发展现状及前景展望[J].上海环境科学,2002,21(11):655-656.
- [6] 章东方,陈锦绣.杀虫微生物研究进展[J].安徽农业科学,1996,24:44-46.
- [7] 胡蓉,马永平,徐进平等. AcNPV. Bt. En 复配剂对甜菜夜蛾幼虫的毒力测定[J].中国生物防治,2002,18(1):47-49.
- [8] SMITH C R, KEVIN M H, CHRISTOPHER G S, et al. Impact of recombinant baculovirus application on target heliothines and nontarget predators in cotton[J]. Biologica Control, 2000, 19: 201-214.
- [9] 邬开朗,尹宜农,胡远扬,等.松毛虫质型多角体病毒对苏云金杆菌的增效作用[J].中国生物防治,2001,17(3):141-142.
- [10] 侯建文,赵烽,姚国强,等.复配型苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒制剂对两种夜蛾的毒力测定[J].中国病毒学,1998,13(4):345-350.
- [11] 匡石滋,张慧,王肖容,等.两种化学农药对斜纹夜蛾核多角体病毒的增效作用[J].华中农业大学学报,2005,24(5):455-458.
- [12] 万成松,孙修练,张光裕.棉铃虫核型多角体病毒与化学杀虫剂和卵磷脂混用的增效作用[J].昆虫学报,2000,43(4):346-355.
- [13] 王晓容,匡石滋,吴洁芳,等.两种昆虫病毒混合悬液对菜粉蝶的增效作用[J].华中农业大学学报,2005,24(1):21-24.
- [14] 郭慧芳,方继朝,罗伟杰,等.不同昆虫病毒对斜纹夜蛾和甜菜夜蛾的联合增效作用[J].中国生物防治,2003,19(1):23-26.
- [15] 晓岚.农用生物农药[J].农药译丛,1994,16(2):7-17.
- [16] Young S Y, Yearian W C. Persistence of *Heliothis* NPV on cotton plant parts[J]. Environ. Entomol., 1974, 3:253-255.
- [17] 竹百均,程德文.荧光增白剂在昆虫病毒杀虫剂中的应用与展望[J].精细化工原料及中间体,2006(10):10-13.
- [18] Ankersmit G W. DDT-resistance in *plutella maculipennis* in Bull[J]. Entomology Research, 1993, 44:421-425.

Current Researchful Status of Viral Insecticide

YAO Dong-wei¹, ZHENG Yu^{1,2}, ZHANG Guang-xing²

(1. Horticultural Research Institute, Shanghai Academy of Agricultural Science, Shanghai Key Lab of Protected Technology, Shanghai 201106, China; 2. College of Gardening, Shanxi Agricultural University, Taigu 030801, China)

Abstract: Nowadays, viral insecticide is hotspot in develop of biologic pesticide. The research, the exploitation, the advantage and disadvantage of viral insecticide were introduced, and then the developmental perspective of viral insecticide was given.

Key words: Virus; Insecticide; Research