

昆虫病毒生物杀虫剂产业化及其展望

秦启联^{1*}, 程清泉², 张继红¹, 王红托¹, 苗麟¹, 李瑄¹, 张寰¹

(1. 中国科学院动物研究所农业虫害鼠害综合治理研究国家重点实验室, 北京 100101; 2. 河南省济源白云实业有限公司中国科学院动物研究所生物农药中试基地, 济源 459002)

摘要: 昆虫病毒杀虫剂是环境友好、对非靶标生物安全、无毒无害绿色农用品, 本文从昆虫病毒杀虫剂发展历史、现状、产业化研发和生产、市场和应用的多个方面, 结合笔者从事此方面工作的经验和体会, 进行总结和评述, 希望以此为同行提供借鉴和参考, 以促进我国病毒杀虫剂产业化及其应用的进程。

关键词: 病毒杀虫剂; 研发; 产业化

中图分类号: S476.13 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-9261(2012)02-0157-08

Industrialization, Commercialization and the Perspective of the Viral Insecticides

QIN Qilian^{1*}, CHENG Qingquan², ZHANG Jihong¹, WANG Hongtuo¹, MIAO Lin¹, LI Xuan¹, ZHANG Huan¹

(1. State Key Laboratory of Integrated Management of Pest Insects and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Beijing 100101; 2. Henan Jiyuan Baiyun Industry Co., Ltd., Pilot-Scale Base of Bio-pesticides, Institute of Zoology, Chinese Academy of Sciences, Jiyuan 459002, China)

Abstract: The viral insecticides are environment-friendly bio-insecticides that are effective to control the host pest insects while no harmful impact on non-target organisms. This paper summarizes several aspects of the bio-insecticides in the history of development, current status, research and development, industrialization, commercialization and practical applications. It also presents some viewpoints of the authors in the development and application of the bio-insecticides that might lend references to the colleagues in order to promote the advancement of the areas in China.

Key words: viral insecticides; research and development; industrialization

自然界中能够感染昆虫的病毒有15个科600多种^[1], 然而大部分病毒对昆虫的侵染率和致病力并不高, 不具备控制害虫的能力。能够作为杀虫剂进行产业化应用的主要是杆状病毒科 Baculoviridae 的病毒, 部分属呼肠弧病毒科 Reoviridae 质型多角体病毒属 (*Cypovirus*, CPV) 的病毒, 痘病毒科 Poxviridae 昆虫痘病毒属 (*Entomopoxvirus*, EPV) 的病毒和细小病毒科 Parvoviridae 的浓核痘病毒 (*Densonucleosis virus*, DNV)^[2]。依据已有的杆状病毒基因组序列数据, 病毒学家重新将杆状病毒科划分为4个属: (1) *Alphabaculovirus*, 即之前分类系统中宿主是鳞翅目昆虫的核型多角体病毒 *Nucleopolyhedrovirus* (NPV); (2) *Betabaculovirus*, 即颗粒体病毒 *Granulovirus* (GV); (3) *Gammabaculovirus*, 宿主是膜翅目昆虫的 NPV; (4) *Deltabaculovirus*, 宿主是双翅目昆虫的 NPV^[3]。目前开发并大面积应用的大多数病毒杀虫剂都是针对鳞翅目昆虫的 NPV 和 GV (*Alphabaculovirus* 和 *Betabaculovirus*)。

病毒杀虫剂与苏云金芽胞杆菌 (*Bacillus thuringiensis*, Bt)、白僵菌 *Beauveria* spp.、绿僵菌 *Metarhizium* spp. 等同属活体微生物农药, 主要通过微生物对害虫机体的侵染导致其患病死亡 (Bt 主要通过 δ -内毒素杀虫), 其共同特点是环境友好、对非靶标生物安全、无毒无害。近来来, 害虫抗性、农药残留、环境污染、生物多样性等环境、生态安全问题日益突出, 农业生产对病毒杀虫剂等环境友好型农药的需求不断上升。

基金项目: 国家 863 计划 (2011AA10A204); 中国科学院知识创新工程重要方向项目 (KSCX2-EW-G-16)

作者简介: 秦启联 (1967-), 男, 博士, 研究员, Email: qinql@ioz.ac.cn; *通讯作者。

从产业化角度考虑,病毒杀虫剂与其它活体微生物农药相比,有诸多独特和复杂的方面,包括杀虫谱较窄,不能用常规发酵方式生产,生产成本相对较高。这些方面限制了病毒杀虫剂的产业规模和市场应用。本文围绕病毒杀虫剂研发和产业化的现状,结合笔者在此方面工作的经验和体会,以及其中存在的问题,进行总结和评述,希望以此为同行提供借鉴和参考,以促进我国病毒杀虫剂产业化及其应用的进程。

1 病毒杀虫剂的发展历史和现状

1.1 国外发展概况

早在 1892 年就有利用病毒防治森林害虫的报道,随后针对不同害虫进行了防治试验,部分试验的成功使得科学家们于 20 世纪早期着力以杆状病毒为对象,开发病毒杀虫剂^[4]。1975 年是病毒杀虫剂产业化的一个重要标志,由 Sandoz 公司研发的美洲棉铃虫 NPV (*Helicoverpa zea nucleopolyhedrovirus*, HzNPV) 以商品名 ElcarTM 获得美国 FDA 的农药登记,使昆虫病毒成为一种商品,被赋予农药的性质^[5]。然而 Elcar 作为一种生物农药的市场及推广并不成功,主要原因是在其登记不久,拟除虫菊酯农药的研发成功和推广应用。相对于病毒杀虫剂杀虫谱窄、杀虫速度较慢、杀虫效率不高的特点,拟除虫菊酯广谱、高效、杀虫速度快,而且价格相对低廉。这样严重影响了 Elcar 的商业化,1982 年 Sandoz 公司停止了 Elcar 的生产^[6]。

在世界范围内,病毒杀虫剂的产业化研发和应用一直没有停止过。虽然有大量关于病毒杀虫剂田间试验和应用的报道,但由于牵涉商业因素,病毒杀虫剂产业化、产品登记及其真实应用情况不易获取。据笔者掌握的情况,目前在美国、巴西、俄罗斯、瑞士、法国、西班牙、印度、日本、韩国、澳大利亚、南非、尼日利亚等国家有病毒杀虫剂产品的登记,应用面积较大的产品主要包括黎豆夜蛾 NPV (*Anticarsia gemmatalis* NPV)、苹果蠹蛾 GV (*Cydia pomonella* GV)、甜菜夜蛾 NPV (*Spodoptera exigua* NPV)、棉铃虫 NPV (*Helicoverpa armigera* NPV)、美洲棉铃虫 NPV (HzNPV)、海灰翅夜蛾 NPV (*Spodoptera littoralis* NPV) 等。还有许多登记产品受限于生产、成本、市场等因素,仅局限于较小范围使用,或者产品基本处于停产状态(个人通讯)。

1.2 国内发展历史概况

1.2.1 早期发展状况 20 世纪 50 年代,我国科学家开始研究杆状病毒。研究的焦点集中在毒株采集、鉴定和基本生物学特性的研究,这些工作为随后的病毒杀虫剂产业化奠定了坚实的基础^[7-9]。70 年代以后,部分研究重点开始转向生产应用^[10-16]。当时主要以天然饲料繁育宿主,用以扩增病毒进行田间试验,形成了研发应用病毒杀虫剂的高潮。大量的病毒种类被用于各种农林害虫的防治,包括棉铃虫 NPV 防治棉铃虫、油桐尺蠖 NPV (*Buzura suppressaria* NPV) 防治油桐尺蠖、菜青虫 GV (*Pieris rapae* GV) 防治菜青虫等等^[15]。这种状况具有显著的时代特征,在人民公社集体所有制的体制下,农民(公社社员)被动员起来,以土法生产生物农药(包括害虫天敌等),用于集体农田的害虫生防。由于化学品(化学农药)需要花钱购买并且来源稀缺,使得这种不花钱就能消灭害虫的方式被大范围推广,其中劳动力和生产成本等商品要素不被考虑,导致那个时代是一个包括病毒杀虫剂在内的生物防治应用的黄金时代。然而,严格意义上讲,这些生防制剂只是特殊时代背景下的特殊产物,不具备价值、价格、市场流通性等商品属性,不属于商品化的农药产品。

1.2.2 国内昆虫病毒杀虫剂的商业化进程 1993 年,中国科学院武汉病毒所与湖北蒋湖农场合作,利用人工饲料和半机械化的生产方式,生产出 10 亿 PIB·g⁻¹ 的棉铃虫 NPV 可湿性粉剂,获得了我国第一个病毒农药登记证,标志着我国昆虫病毒进入了产业化的商品时代^[17]。随后中山大学研发的斜纹夜蛾 NPV (*Spodoptera litura* NPV)、武汉大学研发的小菜蛾 GV (*Plutella xylostella* GV) (与 Bt 混配产品)、中科院武汉病毒所研发的首蓿银纹夜蛾 NPV (*Autographa californica* NPV) 和甜菜夜蛾 NPV 等,在相应的企业先后获得农药登记^[17]。2004 年,由中国科学院动物所研发的 5000 亿 PIB·g⁻¹ 棉铃虫 NPV 原粉在河南省济源白云实业有限公司获得登记,成为第一个登记的病毒原药产品^[18]。

农药是特殊商品,必须由相关政府部门(工信部和农业部农药检定所)审核,颁发相关证件(生产许可证和农药登记证)后才能生产和上市销售。病毒杀虫剂归于农药中的微生物活体农药类,也需要申办农药登记证。农药产品的登记状况是一个动态的资料,表是近期中国农药信息网(<http://www.chinapesticide>).

gov.cn) 公布的病毒杀虫剂登记的基本情况。除松毛虫 CPV (*Dendrolimus* CPV) 外, 都是杆状病毒的 NPV 和 GV。

表 我国登记的病毒生物农药种类
Table Viral insecticides registered in China

病毒种类 Insect viruses	登记产品数 Number of registered products	登记厂家数 Number of manufacturers	病毒种类 Insect viruses	登记产品数 Number of registered products	登记厂家数 Number of manufacturers
棉铃虫 NPV <i>Helicoverpa armigera</i> NPV	19	11	茶毛虫 NPV <i>Euproctis pseudoconsersa</i> NPV	2	1
斜纹夜蛾 NPV <i>Spodoptera litura</i> NPV	5	4	甘蓝夜蛾 NPV <i>Mamestra brassicae</i> NPV	1	1
甜菜夜蛾 NPV <i>Spodoptera exigua</i> NPV	4	2	松毛虫 CPV <i>Dendrolimus</i> CPV	4	2
苜蓿银纹夜蛾 NPV <i>Autographa californica</i> NPV	4	3	菜青虫 GV <i>Pieris rapae</i> GV	2	1
茶尺蠖 NPV <i>Ectropis obliqua</i> NPV	3	2	小菜蛾 GV <i>Plutella xylostella</i> GV	1	1

1.2.3 我国林业害虫病毒杀虫剂的商品化尚待发展 与农业生态系统相比, 林业生态系统相对稳定, 对产量损失的耐受程度也相对较高, 因而更能发挥病毒杀虫剂调节害虫种群、持续控害的作用, 达到“有虫不成灾”的和谐、理想状态。已报道比较经典的病毒杀虫剂长期持续控制害虫的例子大多来自对林业害虫的控制。我国较大面积成功应用病毒杀虫剂防治林业害虫的例子较多, 如美国白蛾 NPV (*Hyphantria cunea* NPV) 防治美国白蛾^[19], 蜀柏毒蛾 NPV (*Parocneria orientalis* NPV) 防治蜀柏毒蛾^[20], 杨扇舟蛾 GV (*Clostera anachoreta* GV) 防治杨扇舟蛾 (个人通讯), 舞毒蛾 NPV (*Lymantria dispar* NPV) 防治舞毒蛾^[21], 油桐尺蠖 NPV (*Buzura Suppressaria* NPV) 防治油桐尺蠖^[22], 松毛虫 CPV 防治松毛虫 *Dendrolimus* sp.^[23]等。遗憾的是, 迄今为止, 除了松毛虫 CPV 有产品登记外, 还没有其它林业害虫病毒杀虫剂的产品在我国登记。主要原因是: 这些产品生产单位多是林业科研和林业生产相关的单位, 企业介入较少, 产品一般不进入市场, 主要是自己使用或在行业内部流通, 由政府买单, 因而受到“三证齐全”(产品标准证、生产许可证、农药登记证)的压力较小; 对农药行业生产准入的门槛不断提高, 注册资本在 5000 万元以上的企业才有资格获得农药生产许可, 对生物农药生产企业的注册资本要求相对较低, 但一般至少也要 1000 万元以上; 加上还有环保、生产能力、质量认证等的严格要求, 导致了林业害虫病毒杀虫剂的生产没有真正进入规模化和商业化的道路。

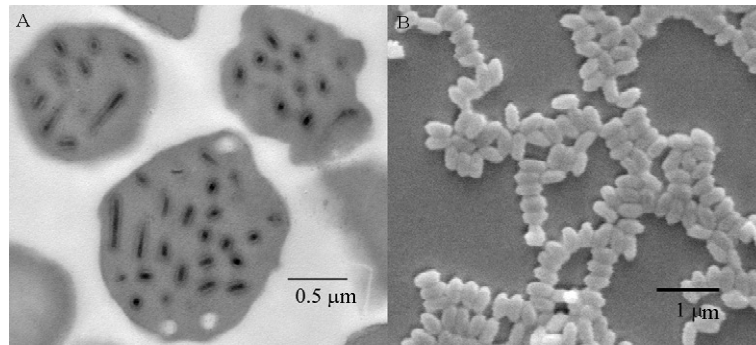
2 病毒杀虫剂的产业化生产

2.1 杆状病毒的致病杀虫机理

杆状病毒的杀虫致病机理与病毒杀虫剂的生产应用密切相关, 故此处做简要介绍。

2.1.1 形态 核型多角体病毒 (NPV) 的包涵体是直径 0.5~15 μm 的多面体, 称作多角体 (polyhedron, 或者 polyhedral inclusion body, 简称 PIB), 是 NPV 在自然界中的存在形式。多角体主要由多角体蛋白和镶嵌其中的大量病毒粒子构成 (图 1A)。颗粒体病毒 (GV) 的包涵体较小, 呈长椭圆形, 大小(300~511) nm \times (119~350) nm, 简称颗粒体 (granule, 或者 occlusion body, 简称 OB)。颗粒体由颗粒体蛋白和其中的病毒粒子构成, 一般每个颗粒体只含有一个病毒粒子 (图 1B)^[15]。

2.1.2 致病杀虫机理 核型多角体病毒的多角体随食物进入鳞翅目宿主昆虫的中肠, 中肠的碱性环境和其中的蛋白酶迅速溶解多角体蛋白, 将病毒粒子释放出来。病毒粒子通过内吞作用侵入中肠柱状细胞, 进入细胞核进行复制, 生成出芽型病毒粒子 BV (budded virus), 完成第一次侵染。BV 经由昆虫的气管系统和循环系统传遍全身, 对脂肪体、肌肉、血细胞、神经、气管等组织进行二次侵染, 复制生成大量包埋型病毒粒子 ODV (occlusion-derived virus)。感染后期, 多角体蛋白将 ODV 装配成多角体。此时, 昆虫细胞中充斥着大量的多角体, 病毒的组织蛋白酶和几丁质酶表达, 将昆虫的细胞和体壁溶解, 使虫体液化,



A. 棉铃虫 NPV 多角体的透射电镜观察, 大量病毒粒子包埋在多角体蛋白的基质中 A transmission electron microscopy (TEM) observation of *Helicoverpa armigera* NPV, showing numerous virions embedded in the proteinous matrix of the polyhedra; B. 粘虫 GV (*Pseudaletia separata* GV) 颗粒体的扫描电镜观察 A scanning electron microscopy (SEM) observation of *Pseudaletia separata* GV

图 1 杆状病毒的形态 (作者未发表图片)

Fig. 1 Ultrastructure of baculovirus (Unpublished figures prepared by the authors)

向环境中释放出多角体^[24]。

宿主昆虫初期食入多角体后, 虫体外观没有明显变化, 感染后期 (3~4 d) 一般表现为体节膨大、取食减少、生活力降低、对外界刺激不敏感, 死亡前多向植株上部爬行, 用腹足齿钩勾住植株, 液化后形成倒“V”形^[24]。这样有利于风、雨、天敌等环境因子协助病毒传播, 是病毒和宿主长期协同进化的结果。

2.2 病毒毒株成为杀虫剂的基本要素

杆状病毒的专一性非常强, 除了苜蓿银纹夜蛾 NPV、芹菜夜蛾 NPV (*Anagrapha falcifera* NPV, AfNPV)、甘蓝夜蛾 NPV (*Mamestra brassicae* NPV, MbNPV) 等少数几种多角体病毒宿主范围较广外, 包括 GV 在内的其它病毒宿主范围很窄, 有许多病毒与宿主是一对一的关系。因此, 对于一个具体的病毒杀虫剂, 杀虫范围只局限在其宿主范围内^[6]。

一种杆状病毒往往有多个不同的生物型, 一般称之为毒株或分离株。不同地域的宿主昆虫对不同毒株敏感性会有差异。在确定开发某种病毒杀虫剂后, 就要有针对性地筛选对害虫具有高毒力的毒株, 这样才能生产出杀虫活性较高的产品。比如, 棉铃虫核型多角体病毒有两种, 一种是单粒包埋的病毒 (每个病毒粒子只有一个核衣壳) HaSNPV, 一种是多粒包埋的病毒 (每个病毒粒子含有多个核衣壳) HaMNPV。生物测定表明, HaSNPV 对棉铃虫的毒力要远远高于 HaMNPV (未发表资料), 生产棉铃虫病毒杀虫剂时, HaSNPV 是合适的选择 (实际上 HaSNPV 和 HaMNPV 属于两种不同的核型多角体病毒)。

一种病毒能否产业化由多方面因素决定: (1) 杀虫速度和杀虫效率较高。该病毒对宿主昆虫的致死作用需要达到农业生产的要求。(2) 宿主昆虫能规模化生产。利用人工饲料室内流水线式地规模化饲养宿主昆虫是病毒杀虫剂能否开发成功的关键。虽然室外自然放养、围栏式饲养、利用天然饲料手工作坊式饲养等方式也能生产出一定量的病毒产品, 但这些方式在产能、成本、生产控制、产品质量控制等方面, 远不能达到产业化的要求。也就是如果不能用人工饲料在室内大量生产宿主昆虫, 那么这种害虫的病毒杀虫剂将很难实现产业化。(3) 具有稳定的市场需求。对于间歇性发生的害虫或者局域分布的害虫, 市场需求有限, 对其病毒杀虫剂可以进行试验性的小规模开发, 不宜列入产业化研发的对象。

2.3 产业化生产的关键技术

所有病毒的扩增必须在活体细胞中进行, 杆状病毒也不例外。有两种途径生产病毒生物杀虫剂, 体外培养的昆虫细胞和宿主昆虫活体。受到技术和成本的限制, 目前用大规模体外培养昆虫细胞生产病毒杀虫剂的方式还不现实^[25], 几乎所有产业化的病毒杀虫剂都是通过规模化饲养宿主昆虫, 以虫体作为病毒的培养载体进行生产。以甜菜夜蛾 NPV 为例, 病毒的扩增必须在甜菜夜蛾幼虫体内进行, 其规模化生产的主体是规模化生产甜菜夜蛾。因此, 如何批量生产出适龄和健康的宿主昆虫是病毒杀虫剂产业化能否成功的

关键。图2列出了用昆虫活体扩增病毒杀虫剂的基本生产模式。

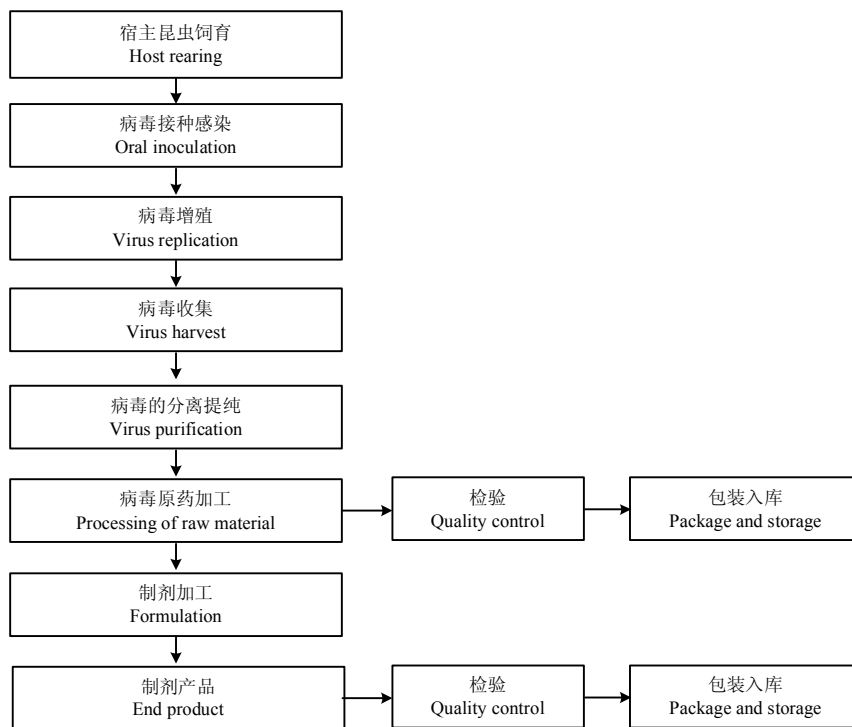


图2 病毒杀虫剂产业化工艺流程

Fig. 2 General arts and crafts of industrialization of baculoviral insecticides

在确定病毒的生产规模后，以“日”为单位，通过控制宿主昆虫每日的留种量，使留种昆虫产出后代的数量达到生产规模的要求。即在某一特定的生产日，生产车间中所有虫态和日龄的宿主将同时并存。以棉铃虫 NPV 生产为例，在 26 °C 的生产条件下，棉铃虫的整个生活周期是 28 d，病毒扩增周期是 5 d。在健虫车间（生产健康的宿主昆虫用于后期作为病毒扩增的载体）内，同时存在棉铃虫 4 个虫态（卵、幼虫、蛹、成虫）中任何一个日龄的虫体，即共存有 28 个不同日龄的棉铃虫。在病毒接种车间，从感染病毒第 1 天到第 5 天的棉铃虫都有存在。以这种模式生产，各个生产环节的操作像流水线一样按部就班地进行，产量也基本维持稳定。笔者与河南省济源白云实业有限公司合作开发病毒杀虫剂，就是按该模式设计生产，稳定的产量曾达日产 100 万头 4 龄棉铃虫用于病毒接种，收获病毒可用于 3000 hm² 农田棉铃虫的防治。昆虫和病毒是生物活体，生产和控制不可能像生产其它工业品那样精准，然而，在较为全面掌握宿主昆虫及其病毒生长、发育、繁殖相关的关键生物学、生态学、生理学等知识的基础上，严格控制各生产环节以及每个环节中的操作步骤，加强操作工人的理论和技术培训，较为理想的生产效率和规模是能够达到的。另外，病毒杀虫剂产业化生产的技术门槛较高，每个成功的企业有属于自己的技术诀窍和技术秘密，往往在生产中发挥非常关键的作用。

2.4 污染控制

宿主昆虫是生物活体，如何在规模化生产时杜绝病毒和其它病原物（微孢子、细菌、真菌等）在虫体间的交叉感染，是产业化成功的又一个非常关键的控制步骤。如果在生产技术和流程上缺乏一整套科学系统的防控措施，结果常常导致昆虫饲养的失败，继而对整个生产造成毁灭性的影响，致使生产规模小、生产效率低下、产品质量得不到保证、生产无法持续稳定进行等后果。其进一步的后果是：生产成本过高、市场的产品供应和产品质量不稳定。不过，令人鼓舞的是，新近崛起的河南省济源白云实业有限公司在集约化养虫技术上有了根本突破，首创出“棉铃虫群养技术”，使具有自残习性、必须单头饲养的棉铃虫可以“和平共处”，因此大幅度提高劳动效率，降低了生产成本。这一技术突破就是建立在严格、有效控制病毒交叉感染基础上的，其它病原物的污染控制在其中也发挥了重要作用。

2.5 质量控制

国际上通用的病毒活性测定方法是生物测定法,但具体的测定方法和试虫在不同生产企业中有所不同。如有的以初孵宿主幼虫为试虫,有的以 2 龄或更高龄宿主幼虫为试虫;毒力指标可以用半致死浓度(LC₅₀),也可以用半致死剂量(LD₅₀),某些情形下,也可以使用一定浓度(剂量)下的半致死时间(LT₅₀)表示^[26]。不管用何种方式,所有测试都必须使用统一的标准。综合考虑,笔者认为以 2 龄末期皮层溶离期(apolysis)的宿主幼虫作为试虫获得生物测定的结果比较稳定,具有较高的实际参考价值。此时虫体大小合适,操作方便,空白对照死亡率低,与田间数据匹配较好。

杆状病毒不能像其它活体微生物农药,可以通过计数平板上的菌落数来获得有效成分的含量,而只能在显微镜下用血球计数板对病毒的多角体进行计数(颗粒体病毒的颗粒体因远小于多角体病毒的多角体,需要用细菌计数板,在更高倍的显微镜下计数),这也是国际通行的杆状病毒含量测定方法。虽然这种方法受病毒悬液处理方式、试验环境、操作人员的经验等影响很大,误差较大,但目前还没有更好的、操作性强的取代方法,因而这种病毒定量方法被普遍采用^[26]。

还有一些其它测定活性(毒力)和含量的方法,如测定体外培养细胞的半数细胞感染量 TCID₅₀(50% tissue culture infection dose)比较病毒的毒力大小,用免疫沉淀、酶联免疫、荧光定量 PCR 等方法测定病毒的含量等,但都不如生物测定和计数法直接和简便,仅用于实验室的研究和新测定方法的探索。

3 应用技术

3.1 适时施用最为重要

病毒杀虫剂是生物活体,田间应用效果主要取决于虫体的易感性和食入活体病毒的数量。虫体越小对病毒越敏感,随着龄期的增长,敏感性呈指数下降^[26]。对于发生比较整齐的害虫,可以利用性诱剂监测成虫的发生,在预测的产卵高峰期用药,能起到最佳的防治效果。我们在新疆生产建设兵团推广棉铃虫 NPV(科云 NPV®)时,就将棉铃虫性诱剂监测技术同时推荐给用户。每 1.5~2 hm²可设 1 个笼式诱捕器,在诱蛾高峰后喷洒棉铃虫病毒杀虫剂,取得了较好的防治效果。

同其它微生物农药一样,阳光中紫外线对病毒活性影响很大。虽然在生产时病毒制剂中都要加入光保护剂,但田间施用时还是要避免阳光对病毒多角体的直接照射,这就要求田间喷雾应选择傍晚或阴天进行,尽量将药液喷洒在作物的叶背面,避开阳光直射。在作物郁闭封行时期使用,持效期相对较长。

3.2 喷雾剂量必需保证

病毒杀虫剂通过胃毒作用进行杀虫,多角体或颗粒体必须进入害虫中肠才能发挥杀虫作用,根据这一特性,喷雾时应将药液均匀喷洒在作物的害虫取食部位。对于特定病毒杀虫剂,生产厂商都有推荐剂量,以棉铃虫 NPV 防治棉花上棉铃虫为例,一般推荐用量为 15000 亿 PIB·hm⁻²。根据棉花的长势和喷雾用水量,将病毒杀虫剂进行适当稀释,均匀喷洒在整个棉花植株上。在可能的情况下,喷雾用水量越少越好,既要保持喷雾均匀,又要减少药液流失。

3.3 可与化学农药混用

杆状病毒与其宿主昆虫是一对长期协同进化的矛盾统一体,在合理的浓度范围内,病毒不可能将宿主昆虫全部杀灭,总是发挥着调节昆虫种群的作用,这就注定其杀虫效果不会像化学农药那样达到接近 100% 的水平。推荐的田间用量一般能够保证田间防效达 80% 以上,这种防治水平可以控制害虫中等发生为害。在害虫大发生的时候,建议与化学农药配合使用,这样既能减少化学农药的用量,又能保证害虫为害的控制。昆虫生长调节剂类、有机磷、菊酯类、氨基甲酸酯类等杀虫剂都可以与病毒杀虫剂混用。杆状病毒在碱性环境下容易降解,因而不能与碱性化学农药或其它碱性制剂混用。

3.4 可采用载体生物传播病毒新技术

利用害虫寄生蜂定向搜寻寄主的能力,使寄生蜂携带病毒,在其搜寻寄主的过程中将病毒传播到寄主上,在减少病毒用量的同时提高了杀虫效率,这就是俗称的“生物导弹”技术^[27,28]。另外还可以结合昆虫信息素技术,使诱集到的昆虫携带上相应的病毒,通过昆虫的活动使病毒扩散到田间。

4 市场和应用范围

4.1 建立规范的产品标注

病毒杀虫剂是专业性很强的农药产品, 占有的市场份额极小, 因而尚没有成熟的市场运营机制和规范, 这样就为一些厂商利用病毒生物农药的概念进行炒作提供了空间。据我们检测, 某些标明病毒含量较高的产品中实际上不含任何病毒成分, 其杀虫的活性成分主要是毒性较强的化学农药, 因此曾经出现病毒生物农药使用者中毒致死的案例。另一类情况则是利用病毒计量(含量)检测的专业性较强、公众对其较为陌生的特点, 所登记产品中标注的病毒含量只有常规含量的百分之一甚至几万分之一, 按这种含量计算, 1头昆虫扩增的病毒可以生产几百公斤这样的产品, 加工1 t产品只需要饲养几头昆虫! 在如此低量的情况下, 产品中的病毒起不到杀虫作用。消费者对病毒生物农药产品建立起来的信心, 也因为市场不规范和产品质量难以保证, 受到了极大的损害^[18]。

4.2 把握好病毒杀虫剂的市场定位

由于病毒杀虫剂具有作用专一、安全环保、药效缓慢、持效期长的特点, 因而具有自身的市场空间和应用范围, 能在一些特殊的场合发挥更为重要的作用。例如, 蚕桑上既可控制斜纹夜蛾为害, 又不影响家蚕的生长; 在需要蜜蜂、熊蜂等传粉昆虫传粉的作物上使用, 不会对传粉昆虫造成影响。另外, 在保护地、有机和绿色食品生产基地、要求安全间隔期较短的蔬菜(随产随收作物)生产基地和害虫发生单一的生产基地, 病毒杀虫剂有着充分发展的空间。把握好病毒杀虫剂精确的市场定位, 充分发挥病毒杀虫剂的特点和优势, 病毒杀虫剂在农林业生产中将会有更大的发展。

5 展望

与化学农药相比, 病毒杀虫剂的杀虫效果和杀虫速度还有很大的缺陷, 科学家们试图通过将外源基因引入病毒基因组, 构建重组病毒杀虫剂, 提高杀虫效率及杀虫速度。迄今为止, 多数重组病毒杀虫剂仅停留在实验室阶段, 只有少量进行了田间释放试验, 还没有被成功登记进行产业化生产的例子。值得提及的是, 中科院武汉病毒所构建的含有蝎毒素的重组棉铃虫核型多角体病毒已通过我国农业部农业转基因安全委员会的安全评价, 先后进入了中间试验和田间释放, 并进行了中试生产, 向产业化迈出了重要一步^[2]。虽然目前还没有重组杆状病毒杀虫剂进入市场, 相信不久的将来, 随着生物技术和转基因安全评价的深入展开, 重组杆状病毒杀虫剂将会得到快速发展, 在农药市场上占有一席之地。

病毒生物杀虫剂不同于化学农药, 是完全源于自然的绿色环保产品, 其生产过程主要是宿主昆虫的饲养, 生产的原料主要是用于配制昆虫人工饲料的农副产品, 是低耗能、可持续、无污染排放的产业。每推广应用1万 hm^2 病毒生物农药, 将直接减少15 t化学杀虫剂的田间释放, 同时也减少了其合成生产过程的污染排放, 是当前新型农药发展的重要方向之一, 具有广阔的发展前景。

推动病毒生物杀虫剂产业化发展, 不仅需要相关企业在产品研发、技术改进、产能提高上做足文章, 而且也需要政府的政策扶植、市场引导和资金投入。国际上很多发达国家和发展中国家都非常重视生物农药的发展和运用, 其中也包括促进病毒生物杀虫剂的发展, 并积极制定和执行化学农药削减计划。继日本修改肯定列表制度之后, 欧美等发达国家也相继修改农药残留指标, 对农产品农药残留提出了更加严格的要求。另一方面, 欧盟和国际经合组织近年来一直在推进以生物农药为主要内容的有害生物可持续综合治理技术, 韩国、泰国政府每年都要拨付专款对使用生物农药的农户进行补助, 鼓励农民使用生物农药。

在坚持科学发展观, 建立资源节约、生态文明社会的大背景下, 如果政府能够在项目立项上有所倾斜, 产品税务上有所减免, 产品使用上有所补贴, 病毒生物杀虫剂这一朝阳产业, 必将在产业化的道路上得到健康快速发展, 为我国食品安全和生态安全做出更大贡献。

参 考 文 献

- [1] Szweczyk B, Hoyos-Carvajal L, Paluszek M, *et al.* Biotechnology Advances[J], 2006, 24: 143-160.
- [2] 孙修炼, 胡志红. 中国农业科技导[J], 2006, 8(6): 33-37.

- [3] Jehle J A, Blissard G W, Bonning B C, *et al.* Archives of Virology[J], 2006, 151: 1257-1266.
- [4] Miller L K. In: Miller L K ed. The Baculoviruses[M]. New York: Plenum Press, 1997: 1-5.
- [5] Ignoffo C M, Couch T L. In: Burges H D ed. Microbial Control of Pests and Plant Diseases[M]. London: Academic, 1981: 329-362.
- [6] Moscardi F. Annual Review of Entomology[J], 1999, 44: 257-289.
- [7] 蔡秀玉. 昆虫学报[J], 1964, 8(4): 145-147.
- [8] 蔡秀玉. 昆虫学报[J], 1965, 14(6): 534-544.
- [9] 谢天恩, 张光裕, 岑英华, 等. 昆虫学报[J], 1965, 14(3): 313-317.
- [10] 湖北省荆州地区微生物站, 华中师范学院生物系生防组. 昆虫学报[J], 1976, 19(2): 167-172.
- [11] 庞章杰. 微生物学通报[J], 1982, 9(4): 1990.
- [12] 甘云凯. 湖南农业科技[J], 1980, 5: 11-13.
- [13] 中国科学院武汉病毒研究所, 湖北省国营蒋湖机械农场. 棉铃虫核型多角体病毒杀虫剂鉴定会议资料. 1980.
- [14] 中山大学昆虫学研究所. 斜纹夜蛾核型多角体病毒杀虫剂中试生产研究及应用鉴定资料. 1990.
- [15] 庞义. 昆虫病毒病. 见: 蒲蛰龙主编. 昆虫病理学[M]. 广州: 广东科技出版社, 1992: 85-216.
- [16] 胡远扬. 中国病毒学[J], 2004, 19(3): 303-308.
- [17] 张光裕. 长江流域资源与环境[J], 1994, 3(1): 39-44.
- [18] 秦启联. 病毒生物农药技术的产业化前景. 见: 中国科学院编. 2009 高技术发展报告[M]. 北京: 科学出版社, 2009: 146-152.
- [19] 段彦丽, 陶万强, 曲良建, 等. 中国生物防治[J], 2008, 24(3): 223-238.
- [20] 文亮, 周建华, 郭亨孝, 等. 林业科学研究[J], 2009, 22(6): 878-882.
- [21] 张国财, 胡春祥, 岳书奎, 等. 东北林业大学学报[J], 2001, 29(1): 129-132.
- [22] 谢天恩, 彭辉银, 曾云添, 等. 中国病毒学[J], 1992, 7(3): 304-310.
- [23] 杨苗苗, 李孟楼, 王玉珠, 等. 中国生物防治学报[J], 2011, 27(3): 394-399.
- [24] Federici B A. In: Miller L K ed. The Baculoviruses[M]. New York: Plenum Press, 1997: 33-59.
- [25] Lua L, Reid S. Method of producing baculovirus[P]. World Patent, NO WO/2005/045014. 2005.
- [26] 陈涛, 张友清, 孙传柏, 等. 生物农药检测及其原理[M]. 北京: 农业出版社, 1993.
- [27] 彭辉银, 陈新文, 姜云, 等. 中国生物防治[J], 1998, 14(3): 111-114.
- [28] 彭辉银. 长江流域资源与环境[J], 2000, 9(2): 139-140.