

微生物在害虫防治上的应用

湖北省微生物研究所虫生菌组

(武汉)

利用昆虫的病原微生物或其产物防治害虫,简称为微生物防治,它是综合防治害虫的一个重要组成部分。特别是化学农药带来了人畜中毒、作物药害、残毒,伤害天敌昆虫及害虫产生抗性等问题被人们所认识后,以“无公害农药”著称的微生物杀虫剂已引起了世界各国的重视,并成为近15年来研究十分活跃、发展十分迅速的领域。

昆虫容易感染多种病原微生物,包括:细菌、真菌、病毒、原生动物、立克次体及线虫等。目前使用最广的是细菌中的产晶体芽孢杆菌——苏芸金杆菌(*Bacillus thuringiensis*)及某些不产晶体的芽孢杆菌,其次是真菌和病毒。线虫 DD 136 和细菌混合物已用于某些害虫的防治上,而原虫和立克次体用于防治较为困难^[1,2]。

我国对微生物防治工作极为重视,特别是文化大革命以来,专业研究队伍与群众运动相结合,生产上土洋并举,在应用上大打人民战争,使我国微生物防治得到了迅速发展。

细 菌

一、苏芸金杆菌 (*Bacillus thuringiensis*)

1. 生物学特性及分类

日本石渡(1901)第一次从桑蚕中分离出致病的“猝倒杆菌”,德国 Berliner (1911)从地中海粉蛾(*Anagasta kuhniella*)分离出另一致病菌,1915年命名为苏芸金杆菌(*Bacillus thuringiensis* Berliner, 简称 BT)。后因失传,由 Mattes (1927)再度从地中海粉蛾中分离出来。

BT 近缘于蜡质芽孢杆菌(*B. cereus*)。典型特征是:营养细胞杆状,周鞭毛,能运动,孢子囊不膨大,在孢子形成的同时形成对昆虫有毒的菱形或近正方形的蛋白质晶体,生长后期,孢子囊溶解,芽孢和晶体分离^[2,3]。

目前国际上发现的 BT 各变种的形态学特征,

基本上与 Berliner 所叙述的原始菌种相同。从五十年代末开始,各国学者相继研究了 BT 群的分类。Heimpel^[4]依据形态学、生化特性、H 抗原血清型、是否产生热稳定外毒素及对昆虫的致病力,提出了“*Bacillus cereus* 群”检索表; de Barjac 和 Bonneyoi^[5]总结了以前的分类研究成果,主要依据生化特性和 H 抗原血清型,归纳了苏芸金杆菌分类检索表。其中包括 12 个血清型 17 个变种。Norris^[6]提出营养细胞的酯酶型也作为分类的依据。

我国近年来分离到不少 BT 菌种,并发现了一些新变种。湖北微生物研究所分离的 140 菌,无鞭毛、不运动,区别于 BT 群的各变种,我们认为它是 BT 无鞭毛变种,定名为武汉杆菌(*B. t. var. wuhanensis*)。武汉大学生物系等鉴定认为是 *B. t. var. galleriae* (无鞭毛菌株)^[7]。

2. BT 的毒素

近二十年来,许多人对 BT 的毒素进行了详细的研究。已描述的有五种不同的毒素:①卵磷脂酶 C; ②热稳定外毒素,又称蝇毒素; ③内毒素,又名晶体毒素、伴孢晶体; ④一种未查明的使卵黄琼脂透明的酶; ⑤不稳定外毒素^[8]。其中研究较多的是内毒素和热稳定外毒素。

内毒素是一种蛋白质晶体,它是杀虫的主要毒素。关于晶体的形成、结构、化学性质、对昆虫的毒性及作用方式已进行了广泛的研究。

Young 等^[9]的研究证明晶体是在孢子外膜外与孢子同时形成的。但 *B. t. var. finitimus* 的晶体在孢子外膜内形成,其晶体对昆虫无毒性。De-lafield 等^[10]用抗原测定等方法证明晶体蛋白与孢子膜蛋白有相似的化学性质。

Hannay 研究晶体的电子显微镜照片,显示晶体为双锥形,表面有明显的沟槽,沟槽间隔为 29 毫微米。构成晶体基本的蛋白质亚单位直径接近

8.7 毫微米。Holmes 等应用 X 射线方法证明,蛋白质亚单位是短杆状或哑铃形。有的报道菱形晶体是双锥形,正方形晶体是双斜方形,前者容易降解^[11]。

据分析,晶体不溶于水和有机溶剂,但溶于碱性溶液。含有 18 种氨基酸。它在 pH 3.3 以下或用一般使蛋白质变性的物质处理则失去毒性。在 100℃ 下 30 分钟失活,而在 60℃ 1 小时,80℃ 20 分钟不破坏晶体。

晶体是一种原毒素,本身不具毒性。晶体用大菜粉蝶肠液中的蛋白酶或将晶体初步变性后以胰蛋白酶或凝乳胰蛋白酶处理,降解后可得到分子量大于 200,000 的多肽和分子量在 5,000—10,000 之间的多肽。后者注射、饲喂均表现毒性。用胃蛋白酶在 pH 2.0 或 4.5 条件下降解晶体,虽然得到相当数量的可溶性物质,但对昆虫未见毒性。因此目前认为:第一、胃蛋白酶与胰蛋白酶、凝乳蛋白酶的作用不同,前者使晶体降解为对昆虫无毒性的组份,后者则降解为有毒性的组份;第二、所以对哺乳动物无毒,还因其肠液缺乏溶解晶体的适宜 pH 条件。所以 BT 的任何种类晶体活性的广谱性,不仅取决于晶体中的某些多肽,也取决于昆虫肠内蛋白酶的作用^[11,13]。

应用组织病理学的研究证实,敏感性昆虫吃进晶体后,中肠先发生瘫痪,后扩至整个消化道。并且中肠 pH 由 10.4 下降至 9.0。由于肠上皮细胞的破损,肠内含物穿入血腔,使血液 pH 由正常的 6.8 上升至 8.05,此时全身瘫痪。根据昆虫对 BT 的反应不同,Heimpel 将昆虫分为 4 种类型^[13,14]。

有人还对晶体抗原进行了分析,证明含有 a—K 11 种抗原,其中 h 抗原为毒性抗原^[11]。最近报道,晶体的降解物获得提纯结晶的抗癌蛋白,分子量约为 13,000 的酸性蛋白质,不仅具杀虫活性,还有抗腹膜肿瘤的活性^[14]。

自 McConnell^[15] 发现热稳定外毒素以来,各国相继进行了研究。认为此毒素的产生与菌数生长一致,在对数期时达最大量,并积累于培养液中直至芽孢形成以前。一般 1 升培养液产生 50 毫克的毒素。它对鳞翅目、双翅目、膜翅目、鞘翅目及直翅目昆虫有毒性。提纯外毒素注射蜡螟的 LD₅₀ 为 0.055 微克/虫体;以其处理培养基饲喂家蝇幼虫,LD₅₀ 为 1 ppm。它影响昆虫的新陈代谢,阻碍 RNA 的合成,使昆虫羽化受影响,并出现死蛹

或畸形等。

热稳定外毒素系核苷酸衍生物。de Barjac 等从血清 1 型菌中得到的核苷酸其有效成分的紫外光最大吸收光谱波长为 260 毫微米 (pH 2)。Bond 等^[16]认为此毒素是高分子量 (800—900) 的腺嘌呤核苷酸的衍生物。在一定条件下,用酶和化学方法进行磷酸降解,能使其失去活性。

据报道,血清 1 型变种 (除捷克 058 品系外) 产生热稳定外毒素,此外还有血清型 4a4b、4a4c、5、9、10 也报道产生此毒素,血清型 7、8 变种未肯定,血清型 3、11、12 属于不产生此毒素的变种^[12,13,17,18]。

3. 苏芸金杆菌制剂的进展

(1) 发展概况 苏芸金杆菌在 60 年代初期开始成为商品制剂。法国为了防治葡萄害虫,于 1950 年试制了 Sporeine 制剂。美国 1960 年开始大量投产。目前世界上 BT 制剂有十余种,如美国的 Thuricide、Biotrol BTB、Dipel,法国的 Bactospeine,苏联的 Entobacterin-3,捷克的 Bathurin 等^[2]。

我国自 1959 年引进苏芸金杆菌、青虫菌、松毛虫杆菌、杀螟杆菌、140、7216 等为我国自己分离的新种杀虫菌,并进行了生产。据 1974 年初步统计,年产量约 1000 吨,防治农、林害虫面积约 700 万亩。

(2) 杀虫范围 据报道,BT 对鳞翅目为主的约 200 种昆虫有毒效。但有人统计只对其中 47 种害虫进行了防治^[2]。我国用于防治农、林、蔬菜害虫达 20 余种。

(3) 生产工艺 生产方法分液体深层发酵和半固体培养两种。国外多采用前者,其生产量大,制剂质量较稳定。

Ignoffo 提出的深层发酵工艺流程是:试管→300 毫升摇瓶→6 升瓶→2 吨种子罐→50 吨发酵罐→粗过滤→离心→干燥→标准化→配制→包装。

Mechalas 以麦麸为培养基进行半固体培养。此法液体种子的培养基本上与上述方法相同,只是半固体的灭菌、培养、干燥工艺是在同一个有通气孔的箱 (Mechalas 装置) 内进行。美国采用此法生产,先通热风灭菌,冷至 30℃ 接种,然后通 30℃、湿度为 95% 的灭菌空气,培养基水份保持 55—60%,培养 2 天,芽孢和晶体充分形成后,通 60℃、湿度为 10% 的空气,使培养基水分干燥到

4%^[19]。

我国除了用液体深层发酵外, 还群众性地大搞半固体培养法生产 BT 制剂。后者遍及县、社的微生物试验站。以武汉杆菌(140)为例, 今年仅湖北省采用此法生产的基层单位约 70 个。我们还推广了该菌的“一步法”生产, 即用工业制剂作种子, 直接接种于半固体培养基, 节省了人力物力, 简化了工艺, 深受广大贫下中农欢迎。

BT 制剂的杀虫活性依不同变种或菌株以及不同的发酵条件而有很大差异。Dulmage (1970) 在两种培养基上对 12 个变种进行了深层发酵试验, 发现不同变种杀虫活性差异很大, 同一变种在不同培养基上发酵, 其活性差异也很明显。他还用血清 3 型的 18 个分离物在 3 种培养基上进行比较, 结果指出, 不能从血清型预言 BT 制剂的杀虫活性^[20, 21]。

(4) 制剂的标准化 以芽孢数作为制剂毒力的标准, 在实践中曾引起混乱, 因为芽孢数与毒力实际上并不相符。因此, 生物测定是公认的理想方法。

生物测定方法, 目前国际上尚难统一起来。1966 年国际昆虫病理学会会议上决定以法国巴斯德研究所生产的 E-61 作为生物测定的标准品, 1 毫克为 1000 国际单位 (I.U.)。Galowalia 等^[22]用大菜粉蝶 (*Pieris brassicae*) 幼虫测定晶体毒力时, 采用三角形叶片微量点滴法。法国以大菜粉蝶作试虫, 用“转盘法”测定。美国将制剂悬液混入人工饲料中, 以甘蓝尺蠖 (*Trichoplusia ni*) 测定效价^[19, 23]。

我国多用菜青虫 (*Pieris rapae*) 作生物测定, 以制剂悬液处理叶片饲虫。我们试用了三角形叶片微量点滴法作毒力测定。中山大学用家蚕和柞蚕卵作材料, 探讨生物测定方法。作为 BT 制剂标准化的生物测定, 还有待进一步探索和确定。

(5) BT 制剂的稳定性和安全性 BT 制剂是稳定的。美国的 Thuricide 在 50℃ 下保存一个月晶体活性不变, 芽孢 90% 有活性; 半年后, 晶体活性为 50%, 芽孢为 70%。30℃ 下半年, 晶体活性无损, 芽孢活性为 75% 左右。但日光直接照射 30 分钟, 芽孢 50% 死亡, 1 小时则 80% 死亡^[19]。因此使用时要考虑这个因素。我们 1971 年生产的武汉杆菌制剂, 在 5—35℃ 的室温下, 瓶装存放 4 年, 用家蚕测定, 其毒力仍保持良好。

BT 制剂对人畜的安全性试验国外已作过大

量而细致的工作。甚至对 18 名志愿者进行过口服试验, 5 日内每人每日服 Thuricide (3×10^9 芽孢/克) 1 克, 其中 5 人每天增加 100 毫克, 试验前及试验后 4—5 周, 进行临床的全面检查, 都未见异常。试验证明, BT 制剂对人、畜、水生生物及作物均是安全的。但其 β 外毒素的提纯品注射小鼠鼠有很强的毒性, 腹腔注射的 LD_{50} 为 13.3 微克/克体重, 皮下注射 LD_{50} 为 16.6 微克/克体重, 并使其肝脏、肾脏受损致病^[19]。

二、产品芽孢杆菌以外的昆虫病原细菌

产晶芽孢杆菌以外的昆虫病原细菌广泛存在于自然界中, 主要包括 Bacillaceae、Enterobacteriaceae、Bacteriaceae、Lactobacteriaceae、Micrococcaceae 及 Pseudomonadaceae 等科的细菌。但是具有一定使用价值和便于生产而被研究和应用的则限于 *Bacillus* 属中的某些种类。

1. *Bacillus popilliae* 及其近缘种 *Bacillus popilliae* 与 *Bacillus lentimorbus* 是引起日本金龟子乳状病的专性病原菌, 系 White, R. T. 与 Dutky, S. R. 于 1940 年发现。目前, 从不同国家还分离到了 *B. culoomarahai*, *B. lentimorbus* var. *australis* 及 *B. fribouregensis* 等变种^[24]。

B. popilliae 与 *B. lentimorbus* 是很有应用希望的昆虫病原菌, 据统计它们可以感染约 50 来种金龟子^[25]。*B. popilliae* 已成功地用于防治日本金龟子, 其商品制剂 Doom 含孢子 10^8 /克, 1969 年生产约 7 吨, 田间防治效果为 60—80%。以 *B. lentimorbus* 生产的商品制剂名为 Japidemic^[2, 26]。由于 *B. popilliae* 在虫体中发育较 *B. lentimorbus* 快, 培养条件也较不严格, 故使用价值更大。

B. popilliae 最适生长温度为 30℃ 左右, 营养体杆状, 形成芽孢后呈梭状, 在形成芽孢的同时形成一具折光性的伴孢体, 后者对昆虫的作用尚不明瞭。营养体在寄主外迅速死亡, 而孢子在干燥状态下可存活数年。无论营养体或芽孢经注射或口服皆可使金龟子幼虫感病死亡。此菌以前只能在寄主体内形成芽孢, 经研究现已能在人工固体培养基上形成 20—30% 的芽孢^[27]。在液体通气培养中, 仅只形成 0.1—1% 的芽孢, 目前对液体深层发酵产生芽孢的条件正在进行深入研究^[28]。通过活虫体生产 *B. popilliae* 孢子制剂的方法大致如下: 收集或饲养昆虫→接种感染→培养→粉碎→干燥→调制→成品^[23]。

2. *Bacillus cereus* *B. cereus* 是一种寄主

范围广泛的兼性昆虫病原菌,它可以感染 Coleoptera, Hymenoptera 及 Lepidoptera 目的昆虫^[29]。*B. cereus* 可产生对昆虫具有毒性的磷脂酶 C, 此酶受昆虫肠道影响很大, 在高碱性环境下即失活。

Aizawa 从土壤中分离出 *Bacillus moritai*, 此菌系 *B. cereus* 的近缘种, 产卵磷脂酶, 对家蝇具特异毒杀作用, 其商品制剂称 BM。用此菌防治蝇幼虫时, 若每克蝇幼虫饲料中含芽孢 10^7 个, 可控制 90—99% 的成虫发生。试验证明其毒杀效果与芽孢含量成正比, 培养滤液不显示毒性, 据认为毒杀作用可能与生长繁殖过程中产生的毒素无关, 而是细菌在幼虫体内繁殖的结果^[30]。

3. *Clostridium* 属的病原菌 *Clostridium bneviaciens* 及 *C. malacosomae* 是专性昆虫病原菌, 它们只能在寄主体内生长和形成芽孢。*C. malacosomae* 曾被用来防治美洲天幕毛虫 (*Malacosoma americanum*) 获得良好效果。

真 菌

昆虫寄生真菌的发现和应用已有一百多年的历史, 只是在近二、三十年才用于防治害虫。使昆虫感病的真菌已知约有 530 余种, 主要属于半知菌纲的 41 个属, 藻状菌纲的 7 个属, 子囊菌纲的 16 个属, 担子菌纲的 3 个属。目前国内外成功使用的只有半知菌纲的球孢白僵菌 (*Beauveria bassiana* B.), 此外, 绿僵菌 (*Metarrhizium anisopliae* M. S.), 紫赤僵菌 (*Spicaria rubido-purpurea* W.), 粉状棒束霉 (*Isaria farinosa* Fr.), 黄僵菌 (*Aspergillus flavus* L.) 等也有所应用。

一、球孢白僵菌 (*Beauveria bassiana* B.)

球孢白僵菌是一种广谱性寄生真菌, 它可以寄生 5 个目、24 个科的共约 190 多种昆虫与螨类。1835 年于美国首次分离出, 近二、三十年才较广泛应用。我国已大面积地用于防治松毛虫和玉米螟, 效果良好。据初步统计 1974 年应用面积 400 余万亩。

当前生产白僵菌主要采用三种方式:

①固体培养。以瓶、盘、池、或帘子在自然通气或人工通风条件下培养。国内各地广泛使用此方法。②液体发酵。用摇瓶或发酵罐进行液体培养生产芽生孢子。1 升发酵液可产 10—15 克干的芽生孢子。近年来我国黑龙江省农业科学院植保所、福建省林业科学研究所、南开大学生物系等也

试用此法生产。但芽生孢子是薄壁细胞, 较易丧失活力。③以液体培养的菌丝团和芽生孢子作为种子, 然后接种到固体培养料上培养, 使其产生分生孢子。

白僵菌在人工传代培养中, 生长速率和毒力会下降, 传代至第 17—20 代可降低至 50% 以下, 有的认为可延至第 30 代^[31]。因此, 一般在第 15 代前要进行复壮, 以保持其生长速率和毒性。

菌剂与微量六六六、DDT、1605 及马拉硫磷等化学杀虫剂混用有增效作用。国内也报道与微量的 DDT、辛硫磷、倍晴松、1605 等混用有增效作用。

白僵菌能产生某种毒素。Hamill (1969) 等人初步弄清白僵菌的白僵毒素 (Beauvericin), 并提纯出结晶。Ovchinnikov 合成此毒素^[32]。南开大学进行了提取白僵毒素的研究, 液体培养 3 天, 白僵毒素粗提物收获量为 1.5 克/升; 固体培养为 1.9 克/斤。

二、绿僵菌 (*Metarrhizium anisopliae* M. S.)

绿僵菌也是一种广谱性的寄生真菌。寄生 8 个目、30 个科的昆虫及螨类、线虫等 200 余种。Metchnikoff (1867) 首次分离和定名, 以后各国也先后分离和应用。湖北省微生物研究所与沙洋农场农科所于 1971 年从斜纹夜蛾的僵虫尸中分离出绿僵菌 377 菌株。据湖北、河北、吉林等省试验, 此菌防治斜纹夜蛾、棉铃虫、玉米螟、稻苞虫和地老虎等的效果较好。我们以 0.1—1 亿孢子/毫升喷雾, 防治棉铃虫、斜纹夜蛾, 以颗粒剂 (5×10^7 孢子/克) 防治小地老虎均有较好效果。

国外已报道绿僵菌的代谢产物中有绿僵外毒素 (Destruxin) A、B、C、D 和脱甲基外毒素 B。外毒素 A、B 分别由铃木、田村确定结构, 久山 1971 年已人工合成绿僵菌外毒素 B^[33]。绿僵外毒素 A、B 对家蚕五龄幼虫的 LD₅₀ 分别为 0.28 微克/克体重和 0.34 微克/克体重^[33], 绿僵外毒素 A、B 注射小白鼠腹腔, 最小致死量为 1.4 毫克/公斤体重和 16.9 毫克/公斤体重, 这种浓度注射昆虫无毒杀力^[34, 35]。已证明绿僵外毒素 C、D 对鼠类的成纤维细胞有较高毒性。

绿僵菌生长发育的适宜温度为 24—25℃。若高于 28℃, 出现羊毛状的衰老型菌丝, 不能产生分生孢子。分生孢子发芽需要 100% 相对湿度, 孢子形成时要求 93% 以上的相对湿度。该菌在 pH 3.3—10 皆可生长, 最适 pH 为 6.9—7.4。对

碳源要求不严格,但当有脂肪类或肝糖时发育更好。孢子在未灭菌的各种土壤中及昆虫的离体皮肤上,虽有适温高湿也不萌发,保持活力达五年以上;但遇活虫体壁就能萌发感染,可能是虫体分泌刺激素之故。

绿僵菌与不同剂量的化学杀虫剂混合防治害虫有增效或抑制作用。印度 Ucs, N. V. R. (1966) 报道六六六乳剂、狄氏剂、马拉硫磷、一六〇五、DDT、磷胺等,抑制孢子萌发和菌丝生长的最低浓度分别为 0.01%、0.06%、0.1%、0.5%、0.5%、1%。当低于上述浓度时有增效作用^[37]。我们试验证明混以 0.5% 的 DDT 或 1% 的六六六粉剂有一定增效作用。而代森安、退菌特、稻脚青、稻瘟净、波尔多液、石硫合剂等杀菌剂的最低抑制浓度分别为 0.02%、0.02%、0.05%、0.02%、10%、10%。因此,绿僵菌与化学杀虫剂混用时,必须合理配比。

菌剂生产与白僵菌基本相同。但要求温度、湿度条件更严格。Adomek^[38]使用人工通气的恒温恒湿培养箱进行大量固体培养,液体培养产生芽生孢子干重达 18 克/升,但存活时间较短。

昆 虫 病 毒

近 30 年来,利用昆虫病毒作为防治害虫的手段越来越被人们所重视,此项研究发展是很迅速的。据报道已从 300 多种昆虫中分离出病毒,被寄生的昆虫主要是鳞翅目、其次是膜翅目、双翅目、鞘翅目、脉翅目及螨类。

大部分昆虫病毒外被蛋白质包膜,抗逆力和感染力强,并能经过虫卵传代,故是一种有希望的昆虫病原。

一、昆虫病毒的类型

按照病毒的结构和寄生部位可分为 5 大类:①核型多角体病毒:在真皮组织、脂肪体、血细胞、气管皮膜等的细胞核内发育,形成多角形的包含体。多角体内多数存在棒状的病毒粒子,含有 DNA;②质型多角体病毒:主要在肠道细胞的细胞质中发育,形成多角形的包涵体,其内有二十面体的球状病毒粒子,含有 RNA;③颗粒体病毒:感染昆虫脂肪体、上皮细胞、在细胞质或细胞核中发育,包涵体呈椭圆形、卵形、四面体,其内为棒状病毒粒子,含有 DNA 和 RNA;④昆虫痘病毒;⑤无包涵体病毒^[3]。这 5 类中,前 3 种占病毒总数的 95% 左右,并具有包涵体,抗逆性强,使用价

值较大。其中又以核型多角体和颗粒体更被重视,成为研究和使用的对象。

核型多角体病毒感染近 200 种昆虫。质型多角体病毒可感染近 80 种,被颗粒体病毒感染的约 35 种,被无包涵体病毒感染的约 8 种。

1971 年国际病毒命名委员会,将昆虫病毒纳入整个病毒的分类系统中。目前关于昆虫病毒的分类,意见分歧较大^[39]。

二、病毒防治害虫的进展

早在 1915 年前,就发现一种病毒可以防治南欧森林中的舞毒蛾幼虫。加拿大、美国都报道过利用核型多角体病毒,有效地防治锯蜂的例子^[4]。1965 年 Ignoffo 等将核型多角体病毒用于防治棉铃虫和烟青虫,结果在末龄时发生了流行病^[5]。

从 1944 年开始开展了制剂研制试验。生产方法一般流程是:饲养大量幼虫→喂含病毒的饲料→病毒增殖→收集病虫体和多角体→制成各种剂型→标定→包装。或从大田中收集染病虫体制成制剂。1960 年研究了人工饲料喂养昆虫后,大大改进了制剂的生产^[1]。

美国 I. M. C. 生产的棉铃虫 (*Heliothis zea*) 核型多角体病毒制剂,称做 Viron/H。于 1971 年 12 月正式登记,其制剂含量为 4×10^9 多角体/克。每英亩一般以 60 克制剂稀释于 5—20 加仑水中施用。

Viron/H 生产方法是:用加入病毒的饲料饲养 6 龄的烟草夜蛾 (*H. virescens*) 幼虫,使其感染,9 天后收集 75—95% 死亡的病死虫。6 个人在 4 个月中收集病虫 20 万头,制成制剂可防治 2160—8380 英亩^[11]。

美国病毒制剂还有 Prodenia, Spodoptera, Trichoplusia, Neodiprion 以及 Biotrol-VHE。

日本应用 250 头病毒致死的虫体制剂,喷洒在 15 公顷的松林上防治松毛虫,取得了很好的防治效果。法国用 15 万头病虫制成 9 吨制剂喷洒松林,引起松天社蛾的高度死亡。

我国近几年来,对昆虫病毒的研究进展较快。上海昆虫研究所于 1973 年分离出桑毛虫 (*Euproctis similis* Fuesly) 核型多角体病毒,经大田试验证明其毒效良好^[39];广东农林学院及北京动物研究所分别于 1972 年和 1975 年各自对其分离和研究的斜纹夜蛾 (*Prodenia litura*) 核型多角体进行了报道^[10,11];湖北省微生物研究所、天门微生物站于 1973 年分离的斜纹夜蛾核型多角体病毒,

用0.1—0.2亿多角体/毫升浓度1次喷雾,田间小区效果为96.9—100%。

三、病毒制剂的稳定性和安全性

包涵体病毒的感染力是很稳定的。云杉叶蜂的多角体在4.5℃下经12年才全部失去感染力。Viron/H,在4—10℃下保持数年是稳定的,室温保存期为1年,32℃下为半年。颗粒体病毒如菜白蝶病毒,在常温下经16个月仍有100%致死毒力。但直射日光照射3小时,病毒失去活性。目前已研究了许多保护方法,如用活性炭、卵白蛋白、胨化牛乳作保护剂有良好效果。高温对病毒活性也有影响^[19]。

病毒的安全性问题已做了大量试验。用棉铃虫、菜尺蠖核型多角体对小鼯鼠、小豚鼠做了吸入、腹腔和大脑内注射、微量口服等试验,表明没有毒性;同时用几种不同的制剂在不同条件下对无脊椎动物、鱼、鸟做了多种试验,还给20个志愿者在5天内口服58亿多角体病毒,未见显著变化,因而一般认为昆虫病毒对人无毒^[1,17]。

微生物杀虫剂的展望

发展中的微生物制剂,尚存在毒效不够稳定、杀虫谱不够广泛及有的生产方法不过关等问题,需要进一步研究和完善。

在应用方面,进一步筛选高毒力菌(毒)株,增加新品种,以满足生产上的需要;改进生产方法,克服噬菌体对BT生产的危害,降低成本,提高产品效价;解决金龟子芽孢杆菌类及病毒离体培养,将产品产量和质量提高到一个新的水平;研制扩散剂、粘着剂、乳化剂等,改善制剂的物理性能,研制增效剂、诱发剂和保护剂等,提高制剂的杀虫效果;改进施药方法,开展微生物制剂间的混用及其与化学药物的配合,以提高毒效,扩大杀虫范围等,这些问题应着重加以研究和解决。

在基本理论方面,要开展致病机理的研究,揭示微生物制剂对害虫特效性、专一性的秘密,了解其侵染途径,为有效地防治害虫提供依据;研究微生物毒素的杀虫作用及其有效成份,弄清其结构,开展毒素的人工合成研究,把微生物防治发展到分子水平上;此外,开展流行病学及抗性等方面的研究,从广度和深度上发展这门学科。

参 考 资 料

- [1] Norris, J. R.: Microbes and Biological Productivity, p. 129—229, Cambridge University Press, 1971.
- [2] 站泽启夫等: 醱酵工学杂志, 51(5): 351—357, 1973.
- [3] 刘崇乐等: 苏芸金杆菌研究五十年, 科学出版社, 1962.
- [4] Heimpel, A. M.: *Ann. Rev. Ent.*, 12: 287, 1967.
- [5] De Barjac, H. and Bonnefoi, A.: *Entomophaga*, 18(1): 5—17, 1973.
- [6] Norris, J. R.: *J. Appl. Bact.*, 27: 439—447, 1964.
- [7] 武汉大学生物系微生物专业70级工农兵学员杀虫菌鉴定小组等: 微生物学报, 15(1): 5—14, 1975.
- [8] Lysenko, O. et al.: in "Microbial Control of Insects and Mites", p. 213, 1971.
- [9] Young, I. E. and Fitz-James, P. C.: *J. Biophys. Biochem. Cytol.*, 6(3): 483, 1959.
- [10] Delafield, E. P., et al.: *J. Bact.*, 96(3): 713—726, 1968.
- [11] Norris, J. R.: *J. Appl. Bact.*, 33: 192—206, 1970.
- [12] Roggff, M. H., and Yousten, A. A.: *Ann. Rev. Microbiol.*, 23: 357—386, 1969.
- [13] Lecadet, M.: *Compt. Rend.*, 262: 195—198, 1966.
- [14] Prasad, S. S. S. V. and Shethna, Y. I.: *Biochemical Biophysical acta*, 362(3): 558—566, 1974.
- [15] McConnell, E. and Richard, A. G.: *Can. J. Microbiol.*, 5: 161—168, 1959.
- [16] Bond, R. P. M. et al.: *Biochem. J.* 114(3): 477—485, 1969.
- [17] Bond, R. P. M. et al.: In "Microbial Control of Insects and Mites." p. 275—302, 1971.
- [18] De Barjac et al.: *J. Invert. Pathol.*, 21: 325—327, 1973.
- [19] 藤吉宜男等: 醱酵工学杂志, 51(5): 357—363, 1973.
- [20] Dulmage H. T.: *J. Invert. Pathol.*, 16: 385—389, 1970.
- [21] Dulmage, H. T.: *J. Invert. Pathol.*, 18: 353—358, 1971.
- [22] Galowalia, M. M. S. et al.: *J. Invert. Pathol.*, 21: 301—308, 1973.
- [23] 青木襄晃: 醱酵协会志, 32(11, 12): 36—48, 1974.
- [24] Steinkrans, K. H. and Tashiro, H.: *Appl. Microbiol.*, 15: 325—333, 1967.
- [25] Dutky, S. R.: *Insect Pathology, An Advanced Treatise*, Vol. 2, Academic Press, New York and London, 1963.
- [26] Falcon, L. A.: *Use of Bacteria for Mic-*

- robal Control In "Microbial Control of Insects and Mites." Whitefriars Press Ltd., London and Tonbridge, p. 71—72, 1971.
- [27] Sharpe, W. S. and Rhodes, R. A.: *J. Invert. Pathol.*, **21** (1): 9—15, 1973.
- [28] Dulmage, H. T. et al.: In "Microbial Control of Insects and Mites." p. 525, 1971.
- [29] Heimpel, A. M. and Angus, T. A.: *Insect Pathology, an advanced Treatise*, Academic Press New York and London, Vol. 2, p. 22—24, 1963.
- [30] 上住泰: 醱酵工学杂志, **51**(5): 363—365, 1973.
- [31] Schaerffenberg, B.: *J. Insect Pathol.*, **6** (1): 8—20, 1964.
- [32] 铃木昭宪: 醱酵工学杂志, **51**(5): 374—377, 1973.
- [33] Cherk, G. C.: *Ann. Rev. Entomol.*, Vol. II: 438—441, 1966.
- [34] Tamura, S. and Takahashi, N.: *Agr. Biol. Chem.*, **34**: 813, 1970.
- [35] Ues, N. V. R.: *J. Invert. Pathol.*, **9** (3): 398—403, 1967.
- [36] Adamek, L.: *Folia Microbiologica*, **10** (4), 1965.
- [37] P. 怀尔狄: 病毒的分类与命名, 科学出版社, p. 25—86, 1974.
- [38] Ignoffo, C. M., and Heimpel, A. M.: *J. Invert. Pathol.*, **7** (3): 329—340, 1965.
- [39] 朱国凯等: 微生物学报, **15**(2): 93—100, 1975.
- [40] 戴冠群等: 昆虫学报, **16**(1): 89—90, 1972.
- [41] 黄冠辉等: 昆虫学报, **18**(1): 17—24, 1975.