

“十一五”国家重点图书出版规划项目



应用生物技术大系

Comprehensive Series of Applied Biotechnology



害虫生物防治技术基础与应用

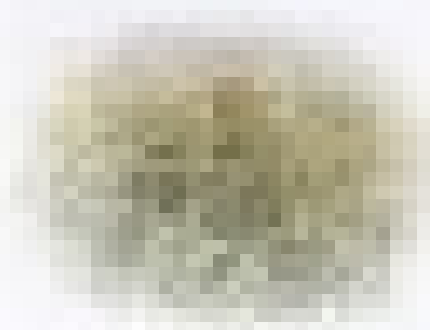
张小霞 尹新明 梁振普 等 编著



科学出版社

www.sciencep.com

中国工程院
中国工程院农业学部
农业生物技术工程研究中心
农业生物技术工程研究中心
农业生物技术工程研究中心



害虫生物防治技术基础与应用

张永成 王明远 张永成 王明远

中国农业出版社

“十一五”国家重点图书出版规划项目

应用生物技术大系

害虫生物防治技术基础与应用

张小霞 尹新明 梁振普等 编著

科学出版社

北京

内 容 简 介

本书根据农林业可持续发展的需要,以杀虫为主线,全面论述了杀虫生物技术的基本理论和研究进展为我国杀虫生物技术的研究和交流提供了方便。全书共十章,主要介绍内容包括生物防治理论基础、昆虫病原细菌、昆虫病毒、昆虫病原真菌、微生物代谢产物、植物源杀虫剂、转基因抗虫植物、动物源农药、生物源杀虫增效剂、常用杀虫生物技术等。

本书可以作为植物保护、生命科学、农业科学、林业科学等相关专业的本科生和研究生的教学及参考用书,还可以作为害虫防治科研人员、农林害虫防治工作者及农药生产厂家的参考书。

图书在版编目(CIP)数据

害虫生物防治技术基础与应用/张小霞等编著. —北京:科学出版社,2010
(应用生物技术大系)
ISBN 978-7-03-027500-4

I. ①害… II. ①张… III. ①害虫-生物防治 IV. ①S433

中国版本图书馆 CIP 数据核字(2010)第 083155 号

责任编辑:王志欣 陈 捷 李晶晶 / 责任校对:包志虹

责任印制:赵 博 / 封面设计:耕者设计工作室

科学出版社出版

北京东黄城根北街16号

邮政编码:100717

<http://www.sciencep.com>

新蕾印刷厂印刷

科学出版社发行 各地新华书店经销

*

2010年5月第一版 开本:787×1092 1/16

2010年5月第一次印刷 印张:27 3/4

印数:1—2 000 字数:630 000

定价:80.00元

如有印装质量问题,我社负责调换

《害虫生物防治技术基础与应用》

编著人员名单

主 编：张小霞 尹新明 梁振普

编著人员：(按姓氏笔画排序)

尹新明	伊艳杰	刘 娜
许 君	李红丽	李瑞芳
吴少英	张小霞	梁振普

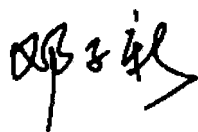
序

随着社会的发展和科技的进步,人类不但要求农业生产高产和稳产,而且必须安全和环保。近年来,随着控制化学物质生物积聚的呼声愈来愈高、新型化学农药开发周期越来越长、害虫对化学农药的抗药性日益明显、人类的环境保护意识逐渐增强,化学农药的开发和使用遇到了前所未有的挑战。

20世纪60年代初期起,人类开始积极探索害虫的生物防治技术。这种技术利用动物、植物、微生物的活体及其分离或代谢产物,或者它们的生物工程产物作为杀虫成分。这些成分对人畜低毒或无毒、无环境污染,开发成本较低,后持效作用明显。生物防治技术顺应了时代的要求,虽然它还存在各种缺陷,但是已经呈现了不可低估的发展势头,在多种害虫的防治中起到了巨大作用。近年来,我国在害虫生物防治技术研究上加大了投入,培养了许多优秀的科研团队,取得了一系列创新性科研成果。目前已注册登记的生物农药有效成分有近八十多个品种。在苏云金芽孢杆菌、昆虫病毒、白僵菌、绿僵菌、农用抗生素等的研究、推广和应用方面都取得了令人瞩目的成就。

目前,害虫生物防治技术的发展正处于黄金时期,其研究内容已由单纯的应用推广拓展到分子水平和杀虫机制层面。《害虫生物防治技术基础与应用》一书系统介绍了杀虫生物技术基础、微生物源杀虫剂、动物源杀虫剂、植物源杀虫剂、抗虫转基因植物、杀虫增效剂等方面的基本理论、最新进展和应用状况,对存在的问题进行了细致的讨论和分析。相信该书对害虫防治技术的发展具有一定的推动作用,对害虫防治科研工作者、害虫防控管理者都具有重要的参考价值。

中国科学院院士
第三世界科学院院士



2010年3月于上海

前 言

在农林业的可持续发展中,害虫一直是一种关键的影响因素,它可以造成作物的大量减产甚至绝收。在全球粮食危机的今天,有效控制害虫的危害、提高农林产品的产量和质量,显得尤为迫切。可以说,农药为现代农业的发展作出了积极贡献。20世纪50年代以来,人类主要采用化学药剂来降低虫口密度。但大量化学农药无节制的使用,带来了严重的“三R问题”,即农药的残留(residue)、害虫的抗性(resistance)和害虫的再猖獗(resurgence)。美国科学家 Rachel Carson 在其著名的科普读物《寂静的春天》里形象描述了化学农药大量使用带来的严重后果和惨痛教训。鉴于此,1975年以来我国确立了“预防为主,综合治理”的植保方针。因此,符合环保、健康、可持续发展理念的新型杀虫技术的开发,已成为当今杀虫剂研究的热点和主题。

生物防治技术是害虫综合治理的核心技术之一,由于具有安全、高效、无污染等优点,而受到广泛重视。传统的生物防治概念为,“通过捕食性、寄生性天敌昆虫及病原菌的引入增殖和散放来压制另一种害虫”。随着生物技术的快速发展,人类防治害虫的手段也得到了更新和拓展。美国国家科学院在1987年将生物防治技术定义为“利用自然的或经过改造的生物、基因或基因产物来减少有害生物的作用,使其有利于有益生物如作物、树木、动物和益虫及微生物”。根据这个概念,生物防治的主体不但包括了昆虫和病原微生物活体天敌,也包括了基因工程的改造产物,如抗虫转基因植物、基因重组型病原微生物等。经过多年的研究,人类在害虫的生物防治技术方面进步很快,在自然微生物天敌、动物性活体天敌、植物源农药等方面都取得了一系列研究成果。特别是随着生物工程技术的广泛应用,害虫的生物防治技术也得到了革命性的发展。目前,已经从宏观的活体层面进展到了微观的分子领域,人类可以根据需要改造操作对象,这使得害虫的控制更为高效。虽然在短时间内生物防治方法不可能完全替代化学防治方法,但是,在化学杀虫剂造成今天的窘迫局面下,生物防治技术为害虫的有效防治开启了另一扇希望的大门。

目前,我国尚缺少专门综合论述害虫生物防治理论与技术的书籍。考虑到害虫生物防治发展和交流的需要,结合目前国内外的最新研究成果,编著《害虫生物防治技术基础与应用》一书。本书由长期在农林害虫生物防治第一线探索和实践的科研人员编写而成,内容覆盖了微生物源杀虫剂(细菌、病毒、真菌、微生物代谢产物)、植物源杀虫剂、动物源杀虫剂和杀虫增效剂等。全书共分十章,第一章由伊艳杰编著,第二章由李红丽编著,第三章由张小霞编著,第四章由刘娜编著,第五章由许君编著,第六章由李瑞芳编著,第七章由尹新明、梁振普和吴少英编著,第八章由吴少英和张小霞编著,第九章由张小霞和刘娜

编著,第十章由梁振普编著。

虽然作者对本书内容进行了精心的构思和安排,编著过程中对书稿进行了数次讨论和修改,但由于水平有限,书中仍可能存在一些疏漏及不足之处,恳请专家、读者批评指正。

作者

2010年3月

目 录

序

前言

第一章 生物防治理论基础	1
第一节 微生物及昆虫病原微生物	1
一、微生物的类型及其特点	1
二、微生物的生长繁殖	8
三、昆虫感染病原微生物的特征	11
第二节 杀虫生物农药与基因工程	12
一、基因工程简介	12
二、基因工程技术在杀虫生物农药领域的应用	14
第三节 杀虫生物农药与发酵工程	19
一、发酵工程简介	19
二、发酵工程技术在杀虫生物农药生产中的应用	22
第四节 杀虫生物农药的剂型	24
一、杀虫生物农药的剂型	25
二、生物农药剂型的研究现状	29
三、生物农药助剂研究现状	30
第五节 寄主昆虫饲养技术	31
一、昆虫人工饲料	31
二、昆虫人工饲养技术	35
三、寄主昆虫人工饲养的意义	37
参考文献	38
第二章 昆虫病原细菌	40
第一节 昆虫病原细菌研究概况	40
一、昆虫病原细菌	40
二、昆虫病原细菌的研究开发现状	40
第二节 苏云金芽孢杆菌	41
一、苏云金芽孢杆菌的类群	42
二、苏云金芽孢杆菌的致病机理	48
三、苏云金芽孢杆菌与基因工程	67
四、苏云金芽孢杆菌的应用现状及发展趋势	72
第三节 其他病原细菌	78
一、球形芽孢杆菌	78

二、日本金龟子芽孢杆菌和缓病芽孢杆菌	86
第四节 未来细菌杀虫剂的开发动向	91
参考文献	93
第三章 昆虫病毒	98
第一节 昆虫病毒概况	98
一、病毒的基本性质	98
二、昆虫病毒的发展现状及前景	102
三、昆虫病毒的分类	103
第二节 杆状病毒	104
一、杆状病毒概述	104
二、核型多角体病毒	113
三、颗粒体病毒	133
第三节 质型多角体病毒	140
一、质型多角体病毒简介	140
二、质型多角体病毒的分类	142
三、质型多角体病毒的研究及应用	144
第四节 昆虫痘病毒	147
一、昆虫痘病毒简介	147
二、昆虫痘病毒的研究及应用	150
参考文献	152
第四章 昆虫病原真菌	159
第一节 昆虫病原真菌概述	159
一、研究与利用概况	159
二、发展面临的问题	160
三、昆虫病原真菌与宿主的相互作用	160
第二节 昆虫病原真菌在害虫防治中的应用	162
一、白僵菌	162
二、绿僵菌	178
第三节 其他昆虫病原真菌	189
一、拟青霉	189
二、虫霉	191
三、轮枝菌	192
四、座壳孢霉	193
参考文献	194
第五章 微生物代谢产物	198
第一节 微生物代谢产物的杀虫活性	198
一、微生物代谢产物农药概述	198
二、抗生素杀虫剂的生物学活性	204

三、杀虫抗生素的毒性	208
第二节 微生物代谢产物及其在害虫控制中的应用	208
一、阿维菌素及其衍生物	209
二、多杀菌素及其衍生物	216
三、华光霉素	223
四、杀螨素	224
五、浏阳霉素	226
六、杀粉蝶素	227
七、密尔比霉素	227
八、其他具有杀虫杀螨作用的抗生素	228
第三节 杀虫抗生素的潜在危害及未来发展趋势	229
一、杀虫抗生素的潜在危害	229
二、农用抗生素未来发展趋势	231
参考文献	234
第六章 植物源杀虫剂	237
第一节 植物源杀虫剂研究概况	237
一、植物源杀虫剂的研究历史和现状	237
二、植物源杀虫剂的分类	238
三、植物源杀虫剂的特点	239
四、植物源杀虫剂发展方向	240
第二节 植物源杀虫剂杀虫活性及其作用机理	241
一、杀虫生物碱类	241
二、柠檬素类	250
三、植物精油	254
四、萜类杀虫剂	258
五、番荔枝内酯	261
六、鱼藤酮	264
七、植物源昆虫激素	265
八、植物源光活化毒素	265
九、植物性杀线虫剂	269
参考文献	275
第七章 抗虫转基因植物	282
第一节 抗虫转基因植物的重要性	282
第二节 抗虫基因及其应用	282
一、 <i>Bt</i> 基因	283
二、植物凝集素基因	284
三、蛋白酶抑制剂基因	286
四、其他类型的基因	288

第三节 基因转化技术	289
一、直接转化法	289
二、间接转化法	292
第四节 转基因植物鉴定方法	294
一、基于选择标记基因和报告基因的检测	294
二、基于分子生物学技术的检测	295
三、免疫学方法检测	296
四、生物测定方法	296
第五节 抗虫转基因植物	296
一、抗虫转基因水稻	296
二、抗虫转基因小麦	297
三、抗虫转基因玉米	298
四、抗虫转基因棉花	299
五、抗虫转基因马铃薯	299
六、抗虫转基因大豆	300
七、抗虫转基因油菜	300
八、抗虫转基因花生	301
九、抗虫转基因花卉	301
十、抗虫转基因林木	302
十一、抗虫转基因果树	303
第六节 抗虫转基因与生物安全	303
一、转基因植物生物安全概述	303
二、关于转基因植物的争议	304
三、抗虫转基因植物的潜在威胁	305
四、转基因安全事件	307
参考文献	308
第八章 动物源农药	312
第一节 动物源农药的概述	312
一、动物源农药的简介	312
二、动物源农药的特点	312
第二节 昆虫内源激素	313
一、昆虫内源激素概述	313
二、昆虫内源激素在害虫综合治理体系中的作用	314
三、昆虫内源激素在害虫防治中存在的问题	314
四、保幼激素	315
五、蜕皮激素	320
六、几丁质合成抑制剂	324
第三节 昆虫信息素	330

一、昆虫信息素简史	330
二、昆虫信息素的特点	331
三、信息素的生物合成及人工合成	332
四、信息素的微量分析技术	334
五、昆虫信息素的应用	334
六、信息素的类型及主要品种	335
第四节 原生动动物	343
一、昆虫微孢子虫简史	344
二、昆虫微孢子虫致病机理	344
三、微孢子虫的传播	344
四、微孢子虫的人工繁殖	345
五、昆虫微孢子虫防治特点	345
六、昆虫微孢子虫的应用	346
第五节 线虫杀虫剂	348
一、昆虫线虫简史	348
二、昆虫线虫与细菌的关系	348
三、昆虫线虫的作用方式	349
四、昆虫病原线虫工业化生产	349
五、影响昆虫线虫防治效果的环境因子	350
六、昆虫线虫的特点	351
七、昆虫线虫的应用剂型	352
第六节 昆虫动物天敌	353
一、天敌昆虫研究简史	354
二、我国天敌昆虫产业化发展现状	355
三、天敌昆虫的应用途径	355
四、天敌昆虫的应用	357
参考文献	360
第九章 生物源杀虫增效剂	367
第一节 增效剂研究概况	367
一、化学杀虫增效剂	367
二、生物源杀虫增效剂	368
第二节 病毒增效蛋白	369
一、病毒增效蛋白的种类	370
二、病毒增效蛋白的作用机理	373
三、病毒增效蛋白的基因工程	374
第三节 几丁质酶	375
一、几丁质酶的来源及种类	375
二、几丁质酶的作用机理	378

三、几丁质酶的产生条件	378
四、几丁质酶的应用及开发前景	380
参考文献	384
第十章 常用杀虫生物技术	387
第一节 基本技术	387
一、普通光学显微镜的构造和使用	387
二、解剖镜的构造和使用	389
三、微生物的显微计数	390
四、器皿的洗涤、包扎及灭菌	392
五、培养基的制备	394
六、微生物的分离和纯化	396
七、菌种的保藏	397
第二节 专业技术	400
一、田间害虫的采集及标本制作	400
二、罹病昆虫标本的采集与分类	401
三、从植物叶片上分离 <i>Bt</i> 菌株	402
四、昆虫杆状病毒的感染	403
五、罹病虫尸中杆状病毒的分离与纯化	405
六、昆虫病毒多角体的光学显微镜检查	405
七、昆虫病原细菌的光学显微镜检查	407
八、昆虫病原真菌的光学显微镜检查	408
九、苏云金芽孢杆菌的血清学鉴定	409
十、苏云金芽孢杆菌的部分生化试验鉴定	411
十一、昆虫性引诱剂的分离及鉴定	412
十二、植物源农药(苦楝素)的分离鉴定	413
十三、阿维菌素微胶囊制剂的制备	413
十四、细菌及真菌一级斜面培养基的制作及接种培养	414
十五、细菌及真菌二级液体培养基的制作及接种培养	415
十六、细菌及真菌三级固体发酵培养基的制作及接种培养	417
十七、昆虫人工饲料的配制	418
十八、寄主昆虫的人工饲养	418
十九、赤眼蜂的人工繁殖	419
二十、棉铃虫核型多角体病毒的毒力测定	420
二十一、昆虫性信息素的应用	421
二十二、生物农药剂型的制备	422
二十三、农杆菌介导的转基因技术	423
二十四、阿维菌素对棉蚜的田间药效试验	424
二十五、比色法测定井冈霉素产品的化学效价	425
参考文献	426

第一章 生物防治理论基础

第一节 微生物及昆虫病原微生物

微生物个体微小,肉眼看不见或看不清楚,大小以微米(μm)或纳米(nm)计量,需借助显微镜观察。微生物生长繁殖快,在实验室条件下多数细菌几十分钟或几小时就可以繁殖一代。微生物在自然界分布广泛,土壤是微生物的大本营,每克耕种的土壤中有几亿到几十亿个微生物。

按照现代生物学观点,微生物分为细胞型微生物和非细胞型微生物两大类。其中,细胞型微生物包括原核微生物(prokaryotic microorganism)和真核微生物(eukaryotic microorganism),而非细胞型微生物主要是指病毒(virus)。

原核微生物的细胞核外无核膜包裹,不含组蛋白,故称原核,而且在细胞内也不含任何由单位膜包裹的细胞器,是目前已知的结构最简单并能独立生活的一类细胞生物。原核微生物包括细菌、放线菌、蓝细菌、立克次氏体、支原体、衣原体、螺旋体和黏细菌等。

细胞核具有核膜、能进行有丝分裂、细胞质中存在线粒体或同时存在叶绿体等细胞器的微小生物,称为真核微生物。真核微生物广泛存在于自然界,种类很多,除真菌(单细胞的酵母菌和丝状真菌)外,还包括黏菌、卵菌、原生动物和藻类等。

一、微生物的类型及其特点

(一) 细菌

细菌(bacteria)是微生物的一大类群,在自然界分布广、种类多,与人类生产和生活关系密切,是微生物学的主要研究对象。

1. 细菌的特点

(1) 细菌的形态。细菌是单细胞原核微生物,在一定环境条件下具有相对稳定的形态结构。细菌有球状、杆状和螺旋状 3 种基本形态,根据其形状分别称为球菌(coccus)、杆菌(bacillus)和螺旋菌(spirilla),见图 1-1。除此以外,细菌在自然界还有其他罕见的形态,如梨状、叶球状、方形、星形、盘碟状及三角形等。

(2) 细菌的大小。细菌个体很小,其大小可用测微尺在显微镜下进行测量,一般以微米(μm , $1\mu\text{m}=10^{-3}\text{mm}$)作为测量单位。细菌的大小由于种类不同而有差异,即使同一种细菌,其大小也会因菌龄不同和环境因素影响而有差别。球菌的大小以直径来表示。一般球菌的直径为 $0.5\sim 1\mu\text{m}$;杆菌和螺旋菌用宽度 \times 长度来表示,杆菌的宽度一般为 $0.4\sim 2.0\mu\text{m}$,长度是宽度的一倍到几倍;螺旋菌的长度是指可见长度,而不是真正长度,即弯曲菌体两端点的总长度,它的真正长度应按其螺旋的直径和圈数来计算。

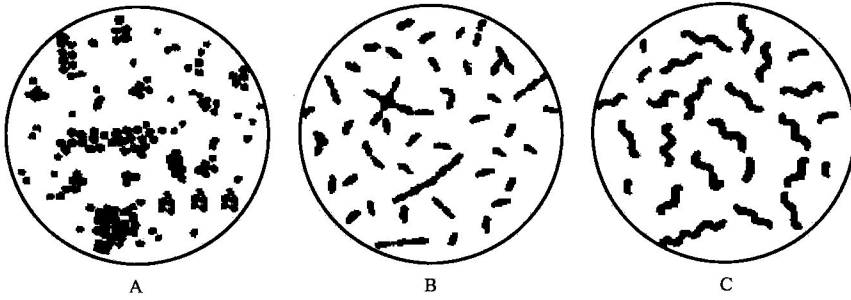


图 1-1 常见的 3 种典型细菌形态

A. 球菌; B. 杆菌; C. 螺旋菌

(3) 细菌的细胞结构。细菌的基本结构包括细胞壁、细胞质膜和细胞质,而在细胞质中又含有拟核、间体、核糖体以及内含物等。另外,有的细菌还具有一些特殊结构,如荚膜、鞭毛、菌毛、芽孢等,是细菌在某生长阶段具有的结构。

细菌细胞的基本结构见图 1-2。

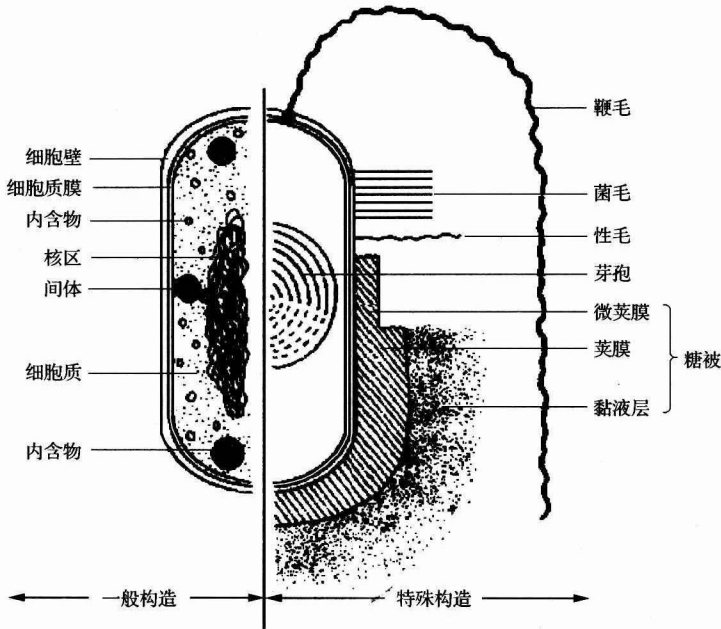


图 1-2 原核生物细胞构造模式图(沈萍,2006)

细胞壁是位于细菌细胞最外面的一层厚实、坚韧的外被,无色透明,主要成分是肽聚糖,有固定外形并具保护细胞等多种作用。肽聚糖是由 N-乙酰葡萄糖胺和 N-乙酰胞壁酸两种氨基糖经 β -1,4 糖苷键连接间隔排列形成的多糖支架。细胞壁厚度因细菌不同而异,一般为 15~30nm。N-乙酰胞壁酸分子上有四肽侧链,相邻聚糖纤维之间的短肽通过肽桥(革兰氏阳性菌)或肽键(革兰氏阴性菌)桥接起来,形成了肽聚糖片层,像胶合板一样,粘合成多层。

细胞质膜是紧贴在细胞壁内侧并包围细胞质的一层柔软且富有弹性的半透性薄膜,是重要的代谢活动中心,对于细菌的呼吸、能量的产生、运动、生物合成、内外物质的交换运送等均有重要的作用。

细胞质是由细胞质膜包围着的除拟核以外一切透明、胶状和颗粒状物质的总称。细胞质具有维持细胞内环境平衡等多种功能。分散于细胞质中的核糖体颗粒是蛋白质合成的场所。

拟核位于细胞质内,是一种没有核膜、没有核仁、没有固定形态、结构也较简单的原始形态的核,其实质是一个大型环状的双链 DNA 分子,是负载细菌遗传信息的物质基础。

鞭毛是某些细菌表面着生的一至数根由细胞内伸出的细长、波曲的丝状体,具有运动的功能。鞭毛在菌体上的着生位置和数目因种而异。

菌毛(又名纤毛)是在细菌体表的比鞭毛更细、更短、直硬且数量较多(250~300根)的丝状体,与细菌吸附或性结合有关。

荚膜是某些细菌向细胞壁表面分泌的一层厚度不定的胶状物质。用显微镜观察可发现,荚膜中心部位是细菌菌体。在暗色背景下荚膜呈透明状环绕菌体,具有抗干燥、抗吞噬和附着作用。

芽孢是某些细菌于生长后期在细胞内形成的一个圆形、椭圆形或圆柱形的休眠体。能产生芽孢的多为杆菌。芽孢直径大于或小于等于菌体宽度。芽孢具有极强的抗热、抗辐射、抗化学药物和抗静水压等特性,堪称生命世界之最。所以有些细菌在环境条件不利于生长繁殖时便会形成芽孢。

2. 昆虫病原细菌

能寄生于昆虫体内使之感病或死亡的细菌称为昆虫病原细菌。已记载的昆虫病原细菌有 90 种以上。芽孢杆菌属的几种昆虫病原细菌已用于害虫防治,其中产生伴胞晶体的细菌应用广泛。常见的昆虫病原细菌有如下几种:

(1) 苏云金芽孢杆菌。它为芽孢杆菌属,细胞染色大多数在幼龄培养时呈现革兰氏阳性的细菌,以周生鞭毛运动,芽孢椭圆、卵圆、柱状或圆形,能抗许多不良环境,化能异养型,具发酵或呼吸代谢类型,通常接触酶阳性。苏云金芽孢杆菌(Bt)分泌由 *cry* 基因编码的、有杀虫活性的 δ -毒素(或被称为杀虫晶体蛋白)的蛋白结晶,害虫食用后会产生瘫痪、停食、反应迟钝、腹泻甚至腐烂等症状。

(2) 金龟子芽孢杆菌。它是寄生于金龟子幼虫(蛛蜡)体内的专性病原菌,营养细胞杆状,革兰氏染色阳性,好氧或兼性厌氧,孢子囊呈梨形或纺锤形,伴胞晶体有或无。

(3) 球状芽孢杆菌。它广泛分布于蚊、土壤和水等虫体和环境中,是蚊幼虫的病原菌,革兰氏染色反应不定,好氧,营养体杆状,芽孢大小 $0.9\sim 1.1\mu\text{m}$ 。其最显著的形态特点是芽孢球形、偏端生或端生,孢子囊一端膨大。球形芽孢杆菌易于人工培养,对库蚊、曼蚊幼虫效果显著;已广泛用于防治孑孓;国外已有商品制剂出售,中国也在开发这种微生物杀虫剂。

(4) 幼虫芽孢杆菌。它是革兰氏染色阴性的兼性厌氧菌,不能在普通培养基上生长;在胰胨、葡萄糖和酵母膏培养基中生长良好。其传染途径主要是通过对蜜蜂幼虫的喂饲