



Bt

生物农药

弓爱君 孙翠霞 邱丽娜 等编著



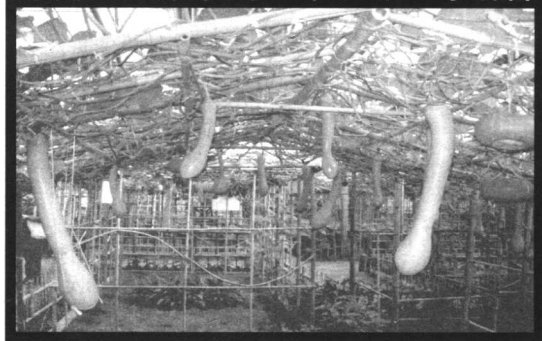
化学工业出版社



Bt

生物农药

弓爱君 孙翠霞 邱丽娜 等编著



化学工业出版社

·北京·

生物农药指的是自然界存在的用于防治病、虫、草、鼠害的真菌、细菌、病毒和原动物或被遗传修饰的微生物制剂以及植物提取液。1970年苏云金芽孢杆菌(*Bacillus thuringiensis*, 简称Bt)被用作生物农药, 开始大规模生产。由于其环境友好、对人畜无害、不伤害昆虫的天敌以及难以产生抗药性而备受人们青睐。经过30多年的发展, Bt生物农药已经在生产成本、科技含量、生产技术、理论研究等方面已经取得了长足的进步。

本书结合作者的最新研究成果, 系统地介绍了Bt生物农药的历史沿革、优点与缺点、杀虫机制、培养与发酵、下游处理技术、毒力检测方法、市场竞争力的提升及农药登记管理方法等内容, 具有一定先进性, 内容新颖, 信息量大。可作为高等院校相关专业的研究生、本科生教材以及科研院所的科研人员或公司企业人员的参考书, 适用于化学化工、农药、环境科学、微生物学等领域。

图书在版编目(CIP)数据

Bt生物农药/弓爱君等编著. —北京: 化学工业出版社, 2006.6

ISBN 7-5025-8897-3

I. B… II. 弓… III. 微生物农药—基本知识
IV. S482.3

中国版本图书馆CIP数据核字(2006)第061817号

Bt生物农药

弓爱君 孙翠霞 邱丽娜 等编著

责任编辑: 郭燕春

责任校对: 洪雅姝

封面设计: 尹琳琳

*

化学工业出版社出版发行

(北京市朝阳区惠新里3号 邮政编码 100029)

购书咨询: (010)64982530

(010)64918013

购书传真: (010)64982630

<http://www.cip.com.cn>

*

新华书店北京发行所经销

北京市兴顺印刷厂印装

开本 850mm×1168mm 1/32 印张 7 字数 131千字

2006年7月第1版 2006年7月北京第1次印刷

ISBN 7-5025-8897-3

定 价: 28.00元

版权所有 违者必究

该书如有缺页、倒页、脱页者, 本社发行部负责退换

前言

Bt

我国虽然加入了 WTO，但发达国家针对中国入世纷纷调整和提高产品进口的技术门槛，形成了“绿色壁垒”。美国食品与药物管理局常常以农药残留不符合 FDA 标准而扣留从中国进口的食品，欧盟、日本、韩国也紧随其后，给我国农产品出口设置了重重障碍，而生物农药则是实现农产品安全生产与顺利出口的重要保障，这一现实给生物农药的发展带来了机遇和挑战。

苏云金芽孢杆菌 (*Bacillus thuringiensis*，简称 Bt) 作为一种生物农药，以其绿色和环保而备受青睐，主要用于粮食、棉花、蔬菜、瓜果、绿地及林木上 200 多种害虫的防治，它具有选择性强、不杀死害虫天敌、对环境友好、对人畜无害的特点，能满足人们对绿色食品的需求，符合农业可持续发展的方向，因此，得到了迅猛的发展。

20 世纪 70 年代，Bt 开始大规模生产。由于当时的发酵水平落后，导致成本偏高，再加上人们的环保意识不强，结果 Bt 生物农药在化学农药的强大竞争压力下萎靡低落，许多 Bt 生物农药生产厂家纷纷倒闭。然而，科学的脚步没有停止，国家从“七五”开始投入资金进行 Bt 生物农药攻关，经过 30 多年的发展，Bt 生物农药已经在生产成本、科技含量、生产技术、理论研究等方面取得了长足的进步。今天，Bt 生物农药的面目已经焕然一新了。

随着人们环保意识的增强和对绿色食品的需求，Bt 生物农药迎来了快速发展时期。

本书结合作者的最新研究成果，系统地介绍了 Bt 生物农药的历史沿革、杀虫机制、优点与缺点、培养与发酵、下游处理技术、毒力检测方法、市场竞争力的提升及农药登记管理方法等内容，可作为高等院校相关专业的研究生、本科生教材以及科研院所的科研人员或公司企业人员的参考书。

本书由弓爱君、孙翠霞、邱丽娜编写，参加编写的还有姚伟芳、宋晓春、刘琪。由于作者水平有限，书中难免有不妥之处，恳请读者批评指正。

编 者
2006 年 5 月

第一章 Bt 生物农药概述————— 1

第一节 生物农药的发展历史 3

一、化学农药的广泛使用 3

二、生物农药的起步 14

三、生物农药与化学农药的第一次抗衡 15

四、生物农药的再度兴起 17

五、生物农药的前景 19

第二节 Bt 生物农药的发展与优缺点 23

一、Bt 生物农药三十多年的长足进展 23

二、Bt 生物农药的优势 26

三、Bt 生物农药的劣势 27

第二章 Bt 生物农药的杀虫机制————— 29

第一节 Bt 的生长过程及杀虫种类 31

一、Bt 生长过程 31

二、Bt 杀虫种类 31

第二节 Bt 的杀虫机制 34

一、伴孢晶体杀虫机制 34

二、芽孢的杀虫机制 41

三、其他毒素的杀虫机制 41

第三节 Bt 的杀虫蛋白作用的分子机制	44
一、ICP 的结构	44
二、杀虫晶体蛋白基因的分类	46
三、杀虫晶体蛋白作用的分子机制	49
四、结构域之间的相互作用	56
第四节 Bt 基因工程菌的研究	57
一、基因工程菌的构建	58
二、转苏云金芽孢杆菌杀虫晶体蛋白基因植物的研究	60
三、昆虫对苏云金芽孢杆菌杀虫晶体蛋白的抗性机理研究	62
第三章 Bt 生物农药的培养与发酵 —————	65
第一节 液体发酵	67
一、Bt 液体发酵的培养基的选择	68
二、Bt 液体发酵工艺条件的研究	70
三、发酵过程的优化	76
四、发酵设备的改进	81
第二节 固态发酵	89
一、固态发酵的培养基	92
二、Bt 固态发酵工艺研究	93
三、影响固态发酵的因素	94
四、Bt 固态发酵生物反应器	98
第四章 Bt 的下游处理技术 —————	103
第一节 浓缩工艺	105
一、离心分离	106
二、压榨过滤	107
三、筛分	108

四、超声凝聚	109
五、重力沉降	110
六、絮凝	110
七、蒸发	110
第二节 干燥工艺	111
一、喷雾干燥	113
二、真空干燥	118
第三节 粉碎工艺	120
一、机械粉碎	121
二、气流粉碎	121
第四节 剂型制备	124
一、粉剂	125
二、可湿性粉剂	128
三、悬浮剂	133
四、水剂	137
五、微囊剂	137
六、泡腾片剂	140
七、乳油	142

第五章 Bt 生物农药毒力检测方法———— 143

第一节 毒力检测方法的发展	145
一、Bt 标准品和效价概念的提出	145
二、孢子计数法	146
三、我国标准与国际的接轨	147
第二节 生物测定法检测 Bt 的毒力效价	148
一、常见生物测定方法	148
二、生物测定中的无效标准	150
三、小菜蛾的人工饲养	151
第三节 高效液相色谱法检测内外毒素	152

一、用反相高效液相色谱法定量检测 β -外毒素	153
二、检测 δ -内毒素	154
第四节 免疫分析法	156
一、酶联免疫吸附测定法	157
二、协同凝集反应法	159
三、其他血清学方法	161
第五节 质谱分析法	162
一、质谱分析方法的进展	162
二、质谱对 Bt 杀虫晶体原毒素的分析	163
第六节 电泳法	165
一、常规凝胶电泳法	165
二、高效毛细管电泳	168
第七节 各方法存在的问题的探讨	170
一、十二烷基硫酸钠-聚丙烯酰胺凝胶电泳方法	170
二、活芽孢计数法	170
三、生物测定	171
 第六章 Bt 市场竞争力的提升	 173
第一节 增强抗晒能力	175
一、基因工程	175
二、杀虫晶体蛋白的表面修饰	176
第二节 降低生产成本	179
一、补料生产工艺的发展	179
二、酶化粉碎液固联合发酵工艺	180
三、廉价农副产品下脚料的利用	182
四、复配技术改进 Bt 性能	183
 第七章 农药登记管理与生物农药商品	 185
第一节 农药管理的概念和意义	187

一、农药管理的基本概念和范畴	187
二、农药管理的研究任务	188
第二节 国内外农药管理发展概况	188
一、世界农药商品管理制度概况	188
二、中国农药商品管理制度概况	191
第三节 农药登记管理的基本知识	194
一、农药登记的概念	195
二、农药登记基本知识	197
三、农药产品登记申请和审批程序	200
第四节 Bt 生物农药商品	204
一、Bt 的致病型分类	204
二、苏云金芽孢杆菌产品	209

参考文献	212
-------------------	------------



Bt

生物农药

第一章

Bt 生物农药概述

生物农药是指自然界中存在的用于防治病、虫、杂草、鼠害的真菌、细菌、病毒和原生动物或被遗传修饰的微生物制剂以及植物提取液。目前常用的生物农药有苏云金芽孢杆菌 (Bt)、阿维菌素、浏阳霉素、井冈霉素、竹红菌素、白僵菌、绿僵菌、茶皂素、苦皮藤、苦参、鱼藤酮、印楝素等。

第一节

生物农药的发展历史

一、化学农药的广泛使用

1. 病虫草害

粮食是人类生活中必不可少的物质。千百年来，我们的先辈们“面朝黄土背朝天”，“日出而作，日落而息”，从土壤中获取了人类赖以生存和繁衍的粮食资源，同时也掌握了丰富的耕作技术和种植经验。今天，农业生产仍然是全世界各个国家和地区摆在首位的一件大事。然而，触目惊心的事实是，每年由于病、虫、草三害给全世界粮食生产带来的损失高达世界粮食总产量的 35%~50%。

我国是农业大国，多数地区粮食、蔬菜等作物年复一年无间歇地生产，使病虫害不断累积，形成了病虫害多发的生长环境，极大地增加了防治的难度。随着作物面积、品种、保护地生产和反季节生产的增加，加剧农田生态环境发生变化，使危害蔬菜病虫害种类迅速增加，特别是为保证作物生长而人工形成的高温、高湿相对稳定的环境条件，为多种病虫害提供了良好的繁殖越冬条件。据调查，20 世纪 80 年代初，全国危害蔬菜病虫害不足 500 种，90 年代初发展至 900 种，到 90 年代末病虫害种类已经超过 1500 种。

据 FAO 统计，全世界农林业中每年因虫害、病害和杂草危害造成的损失占总产值的 37%，其中虫害占 14%，

病害占 12%，杂草占 11%。棉花每年因虫害损失 16%，病害损失 12%，草害损失为 5.8%，每年的损失额高达 1260 亿美元，相当于中国农业总产值的一半，英国的 4 倍多。我国 1993 年因病虫草害粮食减产 10.4%，棉花少收 52.2%。森林病虫鼠害每年平均发生面积都在 1.2 亿亩左右，其损失在 50 亿元以上。1998 年我国畜禽疾病的流行和发生居高不下，畜禽的死亡率分别为 8% 和 18%。每年因疫病和草原鼠害所造成的损失达 150 亿元以上。1998 年养殖产量达 2100 万吨，但因病害和洪水危害损失达 15%，海水养殖损失 30%，其经济损失达 150 亿元。

2. 化学防治

病虫草害是人类从事农业生产的大敌。历史上有很多农作物因大面积遭受病虫草害袭击而颗粒无收的记载。在与这些自然灾害做斗争的过程中，人们逐步摸索总结出了一些防治病虫草害的方法。如 16 世纪俄国开始使用硫化砷杀虫灭鼠，17 世纪西欧用鲸油来防治烟草虫害，进入 18 世纪后开始用氯化亚汞和硫酸铜溶液做种子的杀菌剂，19 世纪用砷酸铅防治午蛾，20 世纪开始较普遍地使用无机化合物作杀虫剂和杀菌剂。20 世纪 30 年代末合成了一些有机氯农药，如滴滴涕 (DDT)、六六六、狄氏剂等。20 世纪 40 年代合成了有机磷农药，如：敌敌畏、对硫磷、马拉硫磷、乐果、稻瘟净等。20 世纪 60 年代合成了氨基甲酸酯类农药，如甲萘威、巴沙、速灭威等。化学农药的问世，使人们彻底消灭病虫草害而保全粮食作物的愿望终于得以实现。在农药的作用下，病虫草害几乎被一扫而光，由此夺回的损失约占世界粮食总产量的 15%。化学农药的大量使用开始于 20 世纪 40 年代，20 世纪 60 年

代获得空前发展。化学防治具有防治效果好、速度快、杀虫谱广、成本低、使用简便等优点,从而得到迅速发展,并成为防治病虫草害夺取植物增产丰收的一个重要手段。据统计,我国 1985~1994 年间化学防治面积占总防治面积的 75.4%~95.2%,平均为 86.1%。20 世纪 40 年代后,农作物病虫草害的防治一直以化学农药为主,形成了一种“农药万能”的思想。我国历史上有名的“南螟北蝗”灾害,也是使用化学农药后才得到有效控制。另外,化学农药在减少人类由传染媒介引起的疾病的发生率和死亡率方面也发挥了很大作用。所以应当肯定的是,农药对人类生活做出了相当大的贡献。

3. 农药种类

进入 20 世纪以来,科技的发达和化学合成农药的出现,使农药的用量和种类都以惊人的速度增加。据统计,目前世界上生产和使用的农药有几千种。农药根据使用的目的可分为杀虫剂、杀菌剂、除草剂、杀鼠剂、杀螨剂、杀软体动物和其他动物剂、杀藻剂、拒避剂、熏蒸剂、昆虫生长调节剂和增效剂等,其中最重要的是前三种。根据有效成分和化学结构又可分为有机盐类、有机磷类、有机氯类和有机汞类等几个系列。

(1) 杀虫剂 作为杀虫剂,从 20 世纪 50 年代以来,一直将 DDT、六六六作为有机盐类的代表,以防治病虫害。我国在 1983 年以前生产的农药也是以高残留的有机氯农药(如六六六)为主,占总量的 58%。但因毒性大、残效期长、有致癌作用等原因,欧美和日本等发达国家从 20 世纪 80 年代起就严格限制使用或禁止生产。我国也在 1983 年 4 月 1 日起停止生产六六六。接着又限制了高效、

但污染较严重的狄氏剂、对硫磷等有机磷类杀虫剂，目前使用较多的是低毒的呋喃丹、乐果、马拉硫磷、杀螟松等杀虫剂。

杀虫剂能引起虫体细胞质中毒、神经系统中毒，致使害虫窒息或中毒而死，但由于食物链的关系，对鸟类同样也是一种神经毒剂和原生质毒剂，可以抑制鸟类机体的乙酰胆碱酯酶的活性，造成鸟类全身麻痹、呼吸衰竭而死亡。有机氯农药主要损害中枢神经系统的运动中枢、小脑以及肝和肾等。有机磷农药也是一种神经毒物，毒理作用也是抑制体内的胆碱酯酶，引起神经机能紊乱，多数有机磷农药具有高度的脂溶性，除了可经呼吸道及消化道进入人体内外，还能经没有破损的皮肤侵入机体，造成中毒。曾有过报道，把被毒死的蝉喂鸽，在 20 周内，虽然在外观上并未发现什么中毒症状，但活检和剖杀时，可见胆碱酯酶的活性下降，肝脏重量增加。此外，杀虫剂中的对硫磷、谷硫磷、地亚农、三硫磷、苯硫磷均可使鸟纲动物（包括鸡在内）胚胎中毒，引起流产和死亡。

（2）杀菌剂 作为杀菌剂，20 世纪 60 年代起，用的最多的本来是稻瘟净、硒酸钙和硒酸钠等，但因这几种农药在大米中的残留和异味，又逐渐被异稻瘟净、克菌丹、百菌清、西力生等所替代。

杀菌剂的作用原理是影响菌体内生物氧化过程，从而导致孢子不能萌发，阻碍蛋白质、核酸、类酯、几丁质等的合成，破坏细菌的细胞壁、细胞膜以及对核酸合成的影响，使病菌生命活动受阻。而对鸟类，同样会对核酸的合成产生影响，引起代谢紊乱。据研究证明，克菌丹、灭菌丹、五氯硝基苯等杀菌剂可分别导致鸡胚、鹌鹑和小鼠畸胎。此外，赛力散、西力生等有机汞农药对动物（包括鸟

类)的神经系统有明显的毒害作用,能导致中毒性脑脊髓病和多发性神经炎,还可以引起间质性心肌炎及肝、肾损害,对皮肤和黏膜也有强烈的刺激和腐蚀作用,可以引起炎症性变化。

(3) 除草剂 除草剂方面,20世纪50年代以促生灵作为第一代除草剂问世,70年代以后,作为水田除草剂的PCP酚类在我国农村应用,但因对鱼虾类的毒性较大,现已逐渐被西玛津、西草净、百草枯和除草醚等所替代。

除草剂类农药的作用机理主要是抑制植物光合作用、呼吸作用,干扰植物激素、核苷酸、蛋白质与脂肪的合成。然而,对于动物(包括鸟类和哺乳动物)有致胎儿畸形的作用。目前已证实能引起胎儿畸形的除草剂2,4,5-T和2,4-D以及苯胺灵等都已限制生产和使用。有些除草剂虽然本身对人、畜无毒,但其中间降解产物具有毒性,如敌稗等在土壤中水解产生的偶氮苯化合物,一般认为具有致癌性。部分除草剂如五氯酚等对温血动物有较高的毒性,能引起甲状腺肿瘤和其他肿瘤。

4. 常见农药的毒性

- 高毒农药: DDT、艾氏剂、狄氏剂、甲氧-DDT、氯丹、谷硫磷、对硫磷、马拉硫磷、内吸磷、毒杀芬、氧化乐果等。
- 中等毒性: 甲基对硫磷、甲胺磷、甲萘威、双硫磷、敌敌畏等。
- 低毒农药: 稻瘟净、灭草隆、杀虫双等。
- 基本无毒: 茅草枯、三氯代乙酸钠等。

5. 化学农药的危害

病、虫、杂草和鼠害造成农牧业的巨大损失,为了挽