

生物农药检测及其原理

陈 涛 张友清 孙松柏 编著
夏克祥 罗 成 于 信



农业出版社

生物农药检测及其原理

陈 涛 张友清 孙松柏 编著
夏克祥 罗 成 干 信

农 业 出 版 社

(京)新登字060号

生物农药检测及其原理

陈 涛 张友清 孙松柏 编著
夏克祥 罗 成 干 信

* * *

责任编辑 杨国栋

农业出版社出版 (北京市朝阳区农展馆北路2号)
新华书店北京发行所发行 农业出版社印刷厂印刷

850×1168mm32开本 13.875印张 347千字

1993年5月第1版 1993年5月北京第1次印刷

印数 1—1,620册 定价 10.50 元

ISBN 7-109-02431-8/S·1577

内 容 简 介

本书分为总论和各论两大部分共十七章。第一至第七章介绍生物农药兴起,作用机制,供试仪器设备,检测原理、方法及结果统计分析,生物农药可能对目标生物产生的抗性和安全性检测的原理。第八至第十七章记述了细菌杀虫剂、真菌杀虫剂、病毒杀虫剂、线虫杀虫剂、原生动动物杀虫剂、农用抗生素、生物除草剂和杀虫毒素的主要研究、生产和应用的检测方法。另外,还介绍了遗传工程在生物农药中应用的有关方法。

本书可供综合性大学、农业、林业、师范、医学、轻化工、粮食等大专院校和中等专业学校师生阅读,也可供科研、生产和应用等单位的有关人员参考。

序 言

生物农药具有对人畜植物安全，不污染环境等优点，越来越受到重视。苏云金杆菌的研究、工业化生产和应用，成为生物农药发展的先驱。嗣后，美国棉铃虫核型多角体病毒杀虫剂Viron/H和其它昆虫病毒也相继被发现。在真菌杀虫剂方面，试制出白僵菌、绿僵菌、虫霉菌、汤普森多毛菌制剂。此期间，日本又率先生产出可以防治稻瘟病的抗真菌素“灭瘟素”。英国、日本、中国等也先后研制出其它农用抗生素。日本的农用抗生素现已占整个杀菌剂的20%。此外，线虫杀虫剂、原生动物杀虫剂和生物除草剂也得到相应的开发和利用。可以说，70年代是生物农药兴旺发达、全面开花结果的年代，而80年代，生物农药的生产和应用更是规模空前，基础研究更加深入，实验手段更为先进，生物农药已开始进入向生物技术发展的新阶段。

目前，国内外生物农药的研究正向着病原学（即研究病原体的形态结构、生理生化、新陈代谢、分类鉴定、生产工艺和应用技术等）和病理学（即研究病原体引起寄主反应，从而使其发生一系列变化以及引起这些变化的各种因子等）两个方面迅速深入地发展。这些研究的各个方面都离不开科学、合理和实用的检测手段。陈涛等编写的《生物农药检测及其原理》一书，适应了这种需要。

此书在编写过程中，收集了大量国内外有关文献资料和最新成果，并揉合了亲身的实践经验。在写作上力求理论和实践相结合，既照顾到内容的系统性又突出重点，文字叙述通俗易懂，并附有图表说明，是一本值得介绍的生物农药检测及其原理的书

籍。

应编著者的请求，我为本书写序，作为对生物农药和生物防治事业的支持。如本书的出版对生物农药的研究和利用有所裨益，序者深感欣慰。

邱式邦

一九八九年元月

目 录

第一部分 总 论

第一章 生物农药概论.....	1
一、生物农药与植物保护.....	1
二、生物农药与生态平衡.....	2
第二章 生物农药的测定原理.....	4
一、生物农药的活性成分.....	4
(一) 生物杀虫剂.....	4
(二) 农用抗生素.....	9
(三) 生物除草剂.....	9
二、生物测定.....	10
(一) 生物测定的含义.....	10
(二) 生物测定的观测指标.....	11
(三) 标准样品.....	13
(四) 田间药效试验.....	13
三、剂量与效应.....	14
(一) 剂量—死亡率效应.....	15
(二) 时间—死亡率的分析.....	17
(三) 半致死剂量.....	17
(四) 测定条件与方法的标准化的.....	20
第三章 生物农药的作用机理.....	21
一、生物杀虫剂.....	21
(一) 昆虫病毒.....	21
(二) 昆虫病原细菌.....	25
(三) 虫生真菌.....	28

(四) 杀虫素.....	34
(五) 微孢子虫.....	34
(六) 线虫.....	35
二、生物杀菌剂.....	35
(一) 氨基糖甙类抗生素.....	36
(二) 多烯类和四环素类抗生素.....	36
(三) 多肽类抗生素.....	36
三、生物除草剂的作用机制.....	36
第四章 测定仪器的选择与使用.....	38
一、实验室常用仪器及其操作.....	38
(一) 玻璃仪器.....	38
(二) 普通仪器及其使用.....	40
二、分析仪器及其使用方法.....	43
(一) 计量仪器.....	49
(二) 分析测试仪器及其使用.....	51
第五章 测定结果的统计分析.....	72
一、几个基本概念.....	72
(一) 样本和总体.....	72
(二) 抽样及其误差.....	72
(三) 概率.....	72
(四) 自由度.....	73
(五) 回归分析.....	73
(六) 显著性检验.....	74
二、度量的表示法.....	74
(一) 数和平均数.....	75
(二) 率.....	77
(三) 中剂量.....	79
(四) 比值.....	79
三、中剂量的演算及其分析.....	79
(一) 目测图解法.....	80
(二) 加权回归法.....	82

第六章 目标生物对生物农药可能产生的抗性	85
一、目标生物的抗药性	85
二、目标生物对生物农药的免疫能力和防御反应	86
(一) 目标昆虫的防御体系.....	87
(二) 植物病原菌赖以生存的特性.....	92
(三) 杂草的防卫能力.....	95
三、目标生物抗药性的检测.....	96
(一) 昆虫抗药性的检测.....	97
(二) 植物病原菌抗药性的检测.....	102
(三) 杂草对病原菌的抗性.....	105
第七章 生物农药的安全性	106
一、安全性试验的基本原理.....	106
(一) 毒物与损害作用.....	107
(二) 病原体与致病性.....	109
(三) 过敏反应.....	111
(四) 对环境生物圈的影响.....	113
二、安全性实验内容与类型.....	114
(一) 基本内容与实验程序.....	114
(二) 普通毒理实验.....	115
(三) 遗传毒理研究.....	134
(四) 组织培养细胞的染毒试验.....	139
三、实验动物的染毒方法.....	143
(一) 实验动物的编号与捕捉方法.....	143
(二) 吸入染毒法.....	144
(三) 消化道染毒.....	145
(四) 皮肤染毒.....	146
(五) 注射染毒.....	147

第二部分 各 论

第八章 细菌杀虫剂	149
一、细菌染色及鉴别.....	149

(一) 鞭毛染色.....	149
(二) 革兰氏染色法.....	150
(三) 芽孢和伴孢晶体染色及镜检.....	151
二、昆虫病原细菌的分类鉴定	153
(一) 采样分离.....	153
(二) 毒力测定.....	154
(三) 分类鉴定.....	154
三、营养体和芽孢的计数.....	163
四、生物测定.....	163
(一) 样品准备.....	163
(二) 昆虫饲养.....	166
(三) 预测.....	166
(四) 生物测定法.....	166
五、生产中的检测.....	168
(一) 菌种.....	168
(二) 发酵中的显微镜观察.....	168
(三) 发酵液的酸碱度 (pH 值)	169
(四) 发酵中的营养分析.....	169
(五) 噬菌体的检测.....	169
(六) 制剂质量检测.....	171
六、田间使用及其结果分析.....	171
(一) 小区对比试验.....	171
(二) 示范试验.....	175
第九章 真菌杀虫剂	176
一、昆虫病原真菌的种类和鉴定.....	176
(一) 藻菌纲.....	176
(二) 子囊菌纲.....	181
(三) 担子菌纲.....	182
(四) 半知菌类.....	182
二、真菌杀虫剂的生产及其检测.....	190
(一) 固体发酵生产.....	190

(二) 液体发酵生产.....	193
(三) 白僵菌含高孢子量粉剂的制备.....	193
(四) 其它真菌杀虫剂的生产.....	193
(五) 产品质量检测.....	194
三、生物测定.....	195
(一) 试虫.....	196
(二) 白僵菌制剂 (ABG-6112)	196
(三) 生物检测程序.....	196
(四) 结果.....	197
四、田间防治效果的评价.....	197
(一) 使用方法.....	197
(二) 防治效果的评价.....	198
第十章 病毒杀虫剂.....	200
一、昆虫病毒的分类与鉴定.....	200
(一) 昆虫病毒分类.....	200
(二) 昆虫病毒的染色与鉴别.....	205
二、昆虫病毒杀虫剂的质量技术指标.....	206
三、包涵体病毒的计数.....	207
四、产品的生物测定.....	208
(一) 标准样品.....	208
(二) 生物测定方法.....	209
五、昆虫病毒的空斑测定.....	210
(一) 单层细胞的空斑测定.....	210
(二) 琼脂细胞悬浮液的空斑测定.....	211
六、血清学检测.....	212
(一) 免疫扩散.....	212
(二) 酶联免疫检测.....	213
七、产品质量监测.....	216
(一) 生产杆状病毒毒种的质量.....	217
(二) 微生物学试验的方法.....	217
(三) 酶切图谱分析.....	224

(四) 产品光稳定性测定.....	227
(五) 产品活性测定.....	227
八、田间药效试验.....	228
(一) 小区药效试验.....	229
(二) 多点药效试验.....	229
第十一章 农用抗生素.....	230
一、概述.....	230
(一) 抗生素的一般概念.....	230
(二) 抗生素的种类.....	231
二、农用抗生素的筛选及鉴定.....	233
(一) 筛选模型的建立.....	233
(二) 新抗生素及其产生菌的鉴定.....	236
三、检测原理.....	241
(一) 显色反应.....	241
(二) 层析法.....	242
(三) 光谱分析.....	242
(四) 生物活性测定.....	243
四、效价测定.....	243
(一) 效价的含义.....	243
(二) 效价测定的方法.....	244
五、生产过程中的质量控制.....	260
(一) 原材料的选择及检测.....	260
(二) 生产发酵过程中的检验.....	269
(三) 成品检验.....	270
第十二章 原生动物杀虫剂.....	271
一、微孢子虫纲的鉴定.....	271
(一) 光学显微镜法.....	271
(二) 透射电子显微镜法.....	273
(三) 生物化学分析法.....	274
(四) 微孢子虫纲的分类.....	276
二、微孢子虫的孢子提纯.....	278

(一) 分步离心法.....	278
(二) 密度梯度离心法.....	278
(三) 沉淀法.....	279
三、制剂的生产和贮藏.....	280
四、制剂的质量检查.....	281
五、田间应用技术.....	282
(一) 寄主范围.....	282
(二) 田间应用.....	282
(三) 影响防治效果的因素.....	283
第十三章 线虫杀虫剂	284
一、昆虫线虫的采集分离与鉴别.....	284
(一) 采集.....	284
(二) 分离.....	285
(三) 鉴别.....	287
二、昆虫线虫的大量培养.....	293
(一) 共生细菌的分离培养与鉴别.....	294
(二) 用人工培养基的大量培养.....	296
(三) 用狗食料的大量培养.....	297
(四) 用匀浆—海绵培养基大量培养.....	297
(五) 用昆虫寄主大量培养.....	298
(六) 线虫制剂的计数保存及毒力测定.....	300
三、昆虫线虫的应用.....	301
(一) 寄主范围.....	301
(二) 使用方法.....	302
(三) 对昆虫线虫的评价.....	303
第十四章 微生物防治杂草	305
一、杂草病原微生物的种类.....	306
二、致病性和致病力.....	309
(一) 粉苞苣柄锈菌致病性的测定.....	309
(二) 粉苞苣柄锈菌致病专化性.....	311
三、粉苞苣柄锈菌的生物学特性.....	311

四、病原体与寄主的关系	314
(一) 感染潜伏期	314
(二) 锈菌的单种培养	314
(三) 检查病原体——寄主相互关系的叶片染色法	315
五、生产和剂型	315
六、生物除草剂的应用	316
第十五章 杀虫毒素	318
一、细菌杀虫素	318
(一) 伴孢晶体及其毒素	318
(二) 苏云金素	336
(三) 球形芽孢杆菌的杀蚊毒素	341
二、真菌杀虫毒素	346
(一) 白僵菌的毒素	346
(二) 绿僵菌素	348
(三) 棕曲霉的杀虫毒素	349
(四) 黄曲霉素	351
三、放线菌杀虫素	351
(一) 采样分离	351
(二) 毒力测定及性能初测	351
(三) 杀虫素的提取和理化性质	352
第十六章 基因工程在生物农药中的应用	355
一、质粒与毒素基因	355
(一) 质粒	355
(二) 质粒检测和提纯	357
(三) 毒素基因	361
二、基因文库的建立与克隆	369
(一) 基因文库的建立	370
(二) 双功能菌的建立	373
三、毒素基因向高等植物转移	377
(一) T-DNA	377
(二) Ti质粒的改造	379

(三) 毒素基因向高等植物转移的方法.....	379
(四) 从烟草植株获得原生质体.....	382
(五) 向高等植物转移.....	384
第十七章 安全性检测	387
一、昆虫病毒	387
(一) 检测项目与规则.....	387
(二) 毒理学试验.....	389
(三) 遗传毒理试验.....	391
(四) 残留量分析.....	392
(五) 流行病学调查.....	394
二、苏云金杆菌的安全性检测	395
(一) 对脊椎动物的安全性检测.....	395
(二) 对益虫的安全性.....	398
(三) 苏云金素的安全性.....	398
三、莫瑞塔芽孢杆菌 (<i>Bacillus morital</i>) 安全性试验	399
四、线虫的安全性测试	400
附 录	402
一、t 值	402
二、F 值	404
三、χ^2 表	412
四、百分比与机率值对照表	414
五、常用昆虫饲养	417
主要参考文献	424
编后记	427

第一部分 总 论

第一章 生物农药概论

一、生物农药与植物保护

人类防治植物病害可以追溯到几千年前，当时使用的多为植物性或无机化学农药。本世纪40年代初期，有机合成农药施用于农作物病虫，曾有效地控制了病虫为害。但是，约在1955年前后，人们发现，由于合成化学农药大量地不科学地施用，有些病虫对化学农药产生了抗药性，引起害虫再猖獗或次要害虫暴发成灾，而且环境遭到污染，人畜健康受到威胁，即常说的三害。国外称为3R (Resistance, Rseidue和Resuygence)。1969年，美国女海洋学家莱切尔·卡逊 (Rachel Carson) 出版了《寂静的春天》一书后，引起了人们对三害问题的关注。这种社会压力促使政府机构官员、植物保护科技工作者寻求非化学防治方法的新途径。于是，生物防治的研究被提到议事日程上来，并得到各国政府的重视。在我国，70年代初期，大力提倡的“积极开展生物防治”的策略已初见成效。如1972年，全国生物防治的面积达120万亩，1976年增至5000万亩，扩大了40倍。近年来，生物防治已达一亿亩，约占全国耕地总面积的7%，这还不包括林业生物防治面积。生物防治已成为植物保护的重要组成部分，并形成一门新兴学科。

从植物保护的意义上讲，生物防治 (Biological control) 就是利用生物及其代谢产物防治植物病原体、害虫和杂草的方法。它是一门研究利用天敌控制植物病害、害虫和农田杂草的理论和实践的科学。它的实质就是利用生物种间关系、种内关系，

调节有害生物种群密度，即是生物群治生物群。生物防治主要包括四个方面的内容：（1）以虫治虫，即利用捕食性、寄生性的昆虫如蚜狮、草蛉、寄生蜂和瓢虫等防治害虫；（2）以微生物治虫，即利用昆虫病原微生物如细菌、真菌、病毒等及其代谢产物（毒素等）防治害虫；（3）植物病原菌的生物防治，即利用微生物或其代谢产物（抗生物质等）防治植物病原菌（包括土壤中的植物病原菌）；（4）杂草的生物防治，即利用食草昆虫和专性寄生于杂草的病原菌防治杂草。对于植物病原体、害虫、杂草的生物防治的内容虽有所不同，但都是利用生物种间关系，符合生物之间互相制约、互相依存的规则。只要掌握生物之间的这种微妙关系，并加以利用，就能控制病虫害的为害，促进农林业的生产。

我们常说的化学农药是指用于防治农林作物及农副产品、畜牧和卫生的害虫、螨类、病菌、杂草、寄生虫、鼠类等的化学物质，它还包括提高化学物质效力的辅助剂、增效剂等。生物农药是指应用生物活体及其代谢产物制成的防治病害、虫害、杂草的制剂（即微生物农药），它也包括保护生物活体的保护剂、辅助剂和增效剂；当然，随着科学的发展，它还包括模拟某些杀虫毒素和抗生素的人工合成的制剂。就目前而言，生物农药主要有微生物杀虫剂、农用抗生素制剂和微生物除草剂等。它们的感染途径和作用机制是多种多样的，经由昆虫饲食摄入而引起胃毒作用的，有与昆虫皮肤接触寄生而起接触杀伤作用的，有经植物内吸或直接作用于病原菌的（如抑制孢子萌发，破坏菌丝生长等），有专性寄生于杂草的。随着科学技术的发展和人类自身生存的需要，生物防治和生物农药的研究和应用将会日益发展。

二、生物农药与生态平衡

在生物农药诸多的有利因素中，其中之一即对植物病原体、害虫、杂草的天敌无或极少的杀伤作用，而天敌又制约着植物病原菌、害虫、杂草的发生和为害，这即是生物防治的长期防治效