

# 微生物农药剂型研究发展趋势

朱昌雄<sup>1</sup> 丁振华<sup>2</sup> 蒋细良<sup>1</sup> 李洪连<sup>2</sup>

(1. 中国农业科学院生物防治研究所, 北京 100081; 2. 河南农业大学植物病理系, 河南 郑州 450002)

**摘要:**介绍了微生物农药剂型的功能,影响微生物农药剂型选择的主要因素,现有已经商品化的微生物农药品种及剂型种类。重点阐述了微生物农药剂型的发展趋势和现代生物技术的发展对微生物农药剂型的发展所产生的影响。

**关键词:**微生物农药;剂型;发展趋势

中图分类号:TQ458

文献标识码:C

文章编号:0253-4320(2003)03-0004-05

## Research and development trends of microbial pesticide formulations

ZHU Chang-xiong<sup>1</sup>, DING Zhen-hua<sup>2</sup>, JIANG Xi-liang<sup>1</sup>, LI Hong-lian<sup>2</sup>

(1. Institute of Biological Control, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100081, China;

2. Department of Plantpathology, Henan agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

**Abstract:** Studies on microbial pesticide formulations are reviewed, including the functions and some commercial types of microbial pesticide formulation, especially trends in the formulations of microbial pesticide and the profound effects of the modern molecular biotechnology on the development of microbial pesticide formulations.

**Key words:** microbial pesticide; formulation; development trend

微生物农药主要指活体微生物,如细菌、病毒、真菌和线虫等。由于活体微生物对农作物病、虫、草害的有效抑制或防治作用,与其产生的代谢产物有非常密切的关系,即活体微生物的作用与微生物产生的生物化学物质或抗生素的作用难于区分,因此,目前国内对微生物农药更多的理解是广义的用来防治病、虫、草害等的微生物活体及其代谢产物,并可以制成商品上市流通的生物制剂,包括细菌、病毒、真菌、线虫、拮抗微生物和农用抗生素等。

与化学农药相比,微生物农药的剂型加工更困难,特别是活体微生物农药。首先,微生物是不溶于水的生物体,其颗粒大小可以从不足 0.5  $\mu\text{m}$ (颗粒病毒)到 1 000  $\mu\text{m}$  以上(线虫),这种颗粒性的疏水性直接影响制剂的润湿性、分散性和悬浮性等物理性能。其次,作为生物体,微生物对外界环境因素如温度、湿度和光照等比较敏感,制剂贮存稳定性差,作用速度慢,田间持效期短,所以在选择助剂时除需考虑制剂理化性能的要求外,还要考虑选择一些特殊助剂,如防光剂、增效剂等。再者,微生物作为活体,与各种助剂的相容性一般比化学农药差,某些助

剂可能完全不能使用,因此选择助剂时要注意与活体微生物的相容性。

本文就目前我国微生物农药剂型的功能、作用、种类及未来发展趋势提出一些看法。

## 1 微生物农药剂型的功能

### (1) 赋形

赋予微生物群体某种特定的、稳定的形态,便于流通和使用,以适应各种施用技术对微生物农药分散体系的要求。

### (2) 优化物理性能

使微生物农药获得特定的物理性能和质量规格。要求微生物农药制成具有一定粒度的粉剂、一定悬浮率的可湿性粉剂、一定润湿展着性的液剂等;使微生物农药喷撒到作物靶标上,能够均匀分布并牢固地粘着在作物上,表现出好的防治效果。

### (3) 稳定作用

微生物农药的贮存寿命一般不能少于 18 个月,而化学农药最少需要 2 年,4 年最好。由于微生物农药的活性成分是有生命的,所以通常来说比化学

农药更不稳定,也不易被化学物质改变其稳定性。但通过剂型的加工,如在微生物制剂中加入抗氧化剂、遮光剂等,能提高其稳定性<sup>[1]</sup>。

#### (4) 便于操作和使用

微生物农药在施用过程中,通常有两种因素影响其效果:施药机械和剂型。这两种因素相互关联,互相配合才能充分发挥微生物农药的施用效果。在微生物农药制剂中加入某些助剂能使其更容易操作和使用,如球孢白僵菌分生孢子外表面的类疏水素蛋白质使分生孢子呈疏水特性,孢子不易进入水相,常导致喷头堵塞和喷雾不均匀,在白僵菌制剂中加入亲水性强的乳化剂可降低孢子的固液面张力,使孢子粉均匀分散于水相,提高了白僵菌制剂的喷施效果<sup>[2]</sup>。

## 2 影响微生物农药剂型选择的主要因素

### (1) 微生物的生理生化特性

将某种微生物加工成何种剂型,取决于对其生理生化特性的充分了解,如其生长所需的温度、湿度、酸碱环境、喜氧或厌氧,能否产生孢子,产生孢子的条件,及其孢子萌发和休眠的条件等。

### (2) 有害生物的生理特征

研究有害生物的生理生化特点以及在接触到微生物农药后所产生的生理变化,有助于筛选合适的剂型,以便更好地发挥生防微生物或其代谢物对有害生物的效果。

Forcada<sup>[3]</sup>等研究烟青虫的不同株系时发现,烟青虫饲喂 Bt 的初期,抗性株系和敏感株系的中肠均表现明显的损伤,3~48 h 抗性株系出现修复,到 48 h 已完全恢复,而敏感株系则没有出现修复。因此在生产过程中,可通过病原昆虫的移接防止生产菌株的退化,还可通过抗性昆虫的转接,使低毒力细胞被淘汰,提高菌株对抗性昆虫各种抵御机制的适应力,从而提高生产菌株的活力和毒力。

### (3) 使用技术及使用目的

使用技术要求不同,选择的剂型也不同。使用的剂型要与现有的药械设备相适应。应根据不同的使用方式和目的,选择适当的剂型。如使用方式有飞机施药、地面喷洒、拌种、撒施和灌根等,使用目的有速效性和长效性。一般常量喷雾应选择乳油、可湿性粉剂和悬浮剂;超低容量喷雾应选择油剂。速效性要考虑剂型的内吸性,长效性要考虑剂型的缓释性。

### (4) 加工成本及市场竞争力

微生物农药是商品,因此,选择剂型必须考虑加工成本及在市场上的竞争力,否则,即使是优良的剂型,推广也会遇到许多困难<sup>[32]</sup>。例如,缓释剂是一种非常好的剂型,如持效期长、安全、对环境污染小,但由于加工成本高,市场竞争力差,因此,开发成功 10 余年后仍发展缓慢。今后如欲迅速发展,必须选择廉价的囊皮材料和简易的加工工艺,以降低成本。

(上接第 3 页)

颜料和新一代变色颜料,如 BASF 公司的 Variocrom 系列颜料,一般都用在油墨制造中。

④ 发展荧光颜料,比较突出的有氮杂香豆素系列荧光颜料、苯并硫或氧杂蒽系列荧光颜料和吡咯并吡咯二酮系列荧光颜料等,Ciba 精化、BASF 和 Clariant 公司都有商品进入市场。

⑤ 开发数字印刷特别是数字喷墨印刷用墨水的颜料。在办公室和家庭中使用的数字喷墨印刷用墨水一般是用特殊染料制得的,它们具有鲜艳性和高的墨水稳定性,但对商业数字喷墨印刷特别是室外的对象来说较好的选择还是用颜料制成的墨水。

⑥ 发展用于电子照相调色剂的颜料,这也是 Clarant 公司发展的重点专用化学品之一。

在过去几年建造的有机颜料制造厂都是以批量方式进行生产,制造工艺的革新主要是改进控制、分离和混合等方法,从而降低制造过程对环境的冲击。近年有机颜料的制造技术有了新的突破,Ciba 精化

公司于 2000 年在美国特拉华州的 Newport 开工的喹吡啶酮颜料制造工厂就是一个很好的例子,它是一个包含 65 只反应器和加工容器的全自动化工厂,生产能力增加了 25%。这些容器的容积从 100 加仑(1 加仑 = 3.785 L)到 5 000 加仑不等,中间体的分离采用压力式过滤器,颜料滤饼的分离使用膜式过滤器,所有的溶剂密闭循环使用,副产品甲醇回收后对外销售。为了减少对环境的冲击,采用一种新的、有专利权的氧化技术;为了提高产品纯度,使用几种分离和纯化加工技术,如反渗透与超过滤、溶剂重结晶或研磨、离子交换和高效液相色谱柱分离等。

## 参考文献

- [1] Peter Bamfield, Rev Prog Color, 2001, 31: 5.
- [2] Seewald N. [J]. Chem Week, 2000, 19(7): 40.
- [3] Short P L. [J]. Chem Eng News, 2000, (10): 21.
- [4] Gaines H. [J]. Am Ink Maker, 1998, (6): 24.
- [5] 今江基文. [J]. ファインケミカル, 2000, 29(3): 8-12. ■

### (5) 环境保护的要求

与使用者和环境相容性能好的农药剂型日益受到重视。今后以水为基质、不用或少用有机溶剂的液态制剂,如悬浮剂、水乳剂、水剂、气雾剂、静电喷雾剂以及无粉尘污染的固态制剂,如水分散粒剂、颗粒剂、可溶性粉剂等,将得到迅速发展。

## 3 现有微生物农药剂型的种类

微生物农药的剂型加工好坏或制剂化程度的高低,已成为微生物农药开发成功的瓶颈。目前我国已商品化的一些微生物农药品种见表 1。这些产品剂型已涵盖了目前化学农药所涉及的剂型,但是相

当多微生物农药制剂产品的指标,达不到标准的要求,或其标准所规定的指标比国外同类品种的指标要低得多,于是出现了含水量偏高、悬浮率低、稳定性差等现象,使微生物农药的效果得不到充分的发挥。解决这些问题的根本办法是要加强对微生物农药的基础性研究<sup>[4]</sup>,减少外界因素对微生物农药剂型的加工限制。如加强微生物的物理化学特性和生理机制的研究,微生物农药作用机理的研究等。还可以利用现代生物技术改善生防微生物的一些性能,如对紫外光的敏感性、对湿度的要求、微生物菌体的黏度,或提高次生代谢物的效价等。

表 1 我国已商品化的微生物农药主要品种及剂型种类

活体微生物名称	剂型种类	抗生素名称	剂型种类
地衣芽孢杆菌	水剂	春雷霉素	可湿性粉剂、水剂
假单孢菌	可湿性粉剂	多抗霉素	可湿性粉剂、水剂
荧光假单孢菌	可湿性粉剂、水分散粒剂	井冈霉素	可湿性粉剂、水剂、可溶性粉剂
蜡质芽孢杆菌	可湿性粉剂、悬浮剂	赤霉素	膏剂、可湿性粉剂、结晶粉、乳油、水溶性粒剂、水溶性片剂
苏云芽孢杆菌	颗粒剂、可湿性粉剂、水分散粒剂、悬浮剂	硫酸链霉素	可湿性粉剂、可溶性粉剂
棉铃虫 NPV	可湿性粉剂、悬浮剂	中生菌素	可湿性粉剂、水剂
斜纹夜蛾 NPV	可湿性粉剂	宁南霉素	水剂
苜蓿银纹夜蛾 NPV	悬乳剂	农抗 120	水剂、可湿性粉剂
小菜蛾病毒	可湿性粉剂	土霉素	可湿性粉剂
枯草芽孢杆菌	可湿性粉剂、悬浮种衣剂	武夷霉素	水剂
木霉菌	可湿性粉剂	浏阳霉素	乳油
块状耳霉菌	悬浮剂	阿维菌素	可湿性粉剂、乳油、微乳剂
厚孢轮枝菌	母粉、微粒剂	双丙氨磷	可湿性粉剂

## 4 微生物农药剂型研究的发展趋势

### 4.1 与微生物农药剂型相关的基础研究将越来越受到重视

(1) 加强微生物的物理化学特性和生理机制的研究,有助于研制出高效、合理、安全的微生物农药剂型。

通过对微生物生理机制的研究,有助于选择合适的助剂。微生物农药制剂中的各种辅加成分、pH 值及含水量等在很大程度上影响着微生物农药的稳定性和活性。如球形芽孢杆菌的杀虫毒力与其芽孢的形成状况有很大关系,在芽孢形成过程中,提供充足的氧气,控制合适的 pH 值,并提供充足的氨基酸或蛋白质作为碳源和氮源,有利于芽孢形成和毒素

产生。在球形芽孢杆菌悬乳剂的生产应用中,关键要注意产品的酸碱度,否则会因制剂的 pH 值不合适,导致制剂发生二次发酵,产生异味和杀虫活性降低。进一步明确了在酸性或中性环境下,杀虫活性虽有降低,但相对稳定;而在碱性环境中,杀虫活性迅速降低<sup>[5]</sup>;因此产品制剂的最适 pH 值应控制在 6~8。另外研究明确了 Bt 产生菌的一些理化特性:如其芽孢和伴胞晶体成熟后,菌体即发生裂解;暴露的晶体蛋白在野外应用过程中,易受紫外线及其他因素的影响,半衰期往往只有 4~7 天等。所以将 Bt 伴胞晶体蛋白基因转移到无芽孢细菌中,不仅可以构建出晶体产量高、具良好发酵性能的工程菌,而且在发酵后用适当方法处死菌体,使细胞壁将晶体蛋白包裹住,制成生物囊制剂,持效期将会大幅度

提高<sup>[6]</sup>。

(2)加强生防微生物与靶标生物之间生态学关系的研究,可通过产品剂型的特殊加工,达到提高活体微生物农药药效的目的。

通过研究生防微生物与靶标生物之间的生态学关系,可采取相应的措施加强生防菌在生态上的优势,从而提高其防效。如木霉菌与植物病原菌在土壤中争夺生存空间和营养源,有效地利用果蔬表面或侵入位点附近低浓度营养物质而生长存活,占领病原菌的入侵位点而不为病原菌的入侵留下空隙。木霉由于有较强的存活竞争力,可使病原菌菌丝生长混乱,出现环行生长、菌丝顶部变细、扭曲等现象,细胞内含物减少,最后被木霉菌丝覆盖。所以在木霉菌剂中加入麸皮作稀释剂为木霉菌提供了营养载体,可提高木霉菌在土壤中的各种能力,使其成为优势种群定殖于植物根际<sup>[7]</sup>。

(3)加强微生物农药作用机理的研究,可有针对性地制定出不同的产品剂型。

一种生防微生物可以同时有几种作用机制,已知的作用机制有拮抗作用、交叉保护作用 and 诱导抗性作用等。通过充分了解一种生防微生物的作用机制,可确定它的应用策略是活体应用还是产物应用。生防微生物活菌制剂作为一种产品应用时的主要障碍是其生态稳定性和遗传稳定性。随着对生防微生物作用机制的深入了解,已发现生防微生物产生的拮抗物质有抗生素、细菌素、噬铁素等;产生的激发子有寡糖类、脂肪酸类、蛋白和糖蛋白化合物。因为这些产物是单一化学物质,所以可选择的剂型种类也比较多,可以像加工化学农药一样对其进行加工,产品的质量和效价均较为稳定。

通过对微生物作用机制的深入分析,可采用基因工程方法改良野生菌。但野生的荧光假单胞杆菌只产生抗生素吩嗪酸(PCA)和2,4-二乙酰滕黄酚(Phl)两种抗生素的一种。用生物技术方法可将PCA生物合成的质粒导入到和Phl产生菌株中,可使产生菌同时产生以上两种抗生素,大大提高了荧光假单胞杆菌的生防活性<sup>[8]</sup>。

(4)加强助剂对微生物协调作用功能的研究,可提高制剂产品的稳定性和药效。

在农药制剂中,除活性成分以外的其他成分均称为助剂。包括载体、稳定剂、增效剂、渗透剂及表面活性剂等。稳定剂有抗沉降、抗结块、防分解及防紫外线辐照等功能;增效剂能增加制剂的防效;渗透剂可增强制剂的内吸性能。

(5)加强新基因的克隆与功能研究,可减少生防微生物在剂型加工中受到的限制。

通过对新基因的克隆与功能研究,有助于寻找新的生防思路,使生防微生物在剂型加工上受到较少的限制,增加选择的范围。另外重组病毒可形成多角体(OCC<sup>+</sup>),且能通过口服方式大规模感染昆虫,克服了传统方法中只能通过注射感染昆虫的难题,极大地方便了筛选纯化以及剂型加工<sup>[9]</sup>。由于现代生物技术的飞速发展,大量的重要抗虫、抗病基因已经被克隆并得到应用。目前被应用的主要抗虫基因有Bt *cry1A(b)*(B,S)基因、豇豆胰蛋白酶抑制剂基因、凝集素基因、几丁质酶基因、色氨酸脱羧酶基因等;主要抗病基因有外壳蛋白基因、病毒复制酶基因、溶菌酶基因、细菌毒素基因、核糖体失活蛋白质基因、防卫蛋白基因等。

#### 4.2 具有防治病、虫、草害的转基因植物或基因工程菌将成为最好的、最高级的微生物农药剂型

(1)加强抗虫基因工程植物的研究和开发,使其成为最高级、最有效的植物杀虫制剂。

抗虫的转基因植物可对整个植物体,特别是外部施用的农药无法到达的部位,提供有效的防卫;它只毒杀以其为食的特定的害虫,而对其他的非目标动物包括害虫的天敌无副作用;同时因其所产生的毒蛋白是存留在植物体的组织内部,不会对周围的环境造成污染。1987年7月比利时Belgian生物技术公司研究小组首次报道了将Bt *cry1A(b)*与卡那霉素标记基因*npt II*融合,通过Ti质粒整合到烟草植株内,成功地获得了抗烟天蛾转基因烟草植株<sup>[10]</sup>。该植株毒蛋白含量在30 ng/g叶蛋白就足以杀死烟天蛾一龄幼虫。除Bt毒蛋白的应用获得成功之外,还有蛋白酶抑制剂基因(*cptI*)的应用,用根癌农杆菌Ti质粒介导反带有CaMV35s启动子,*cptI*和3'端NOS终止子基因转入烟草。转基因的烟草对烟芽夜蛾有显著抗性<sup>[11]</sup>。1995年,头一批转基因作物,包括表达*Cry1A(b)*毒蛋白的玉米、表达*Cry1A(c)*毒蛋白的棉花,以及表达*Cry3A*毒蛋白的马铃薯等,都在美国通过了市场销售审批。在美国表达Bt毒蛋白的转基因农作物的种植面积已超过120万公顷。

(2)加强抗病基因工程植物的研究,将制造出最高级、最有效的植物杀菌制剂。

科学工作者不仅能从细胞和分子等不同层次上探索植物病原菌的致病本质以及病原菌与寄主植物之间的相互作用机理,而且还能重组转化抗病基因

工程菌和培育出转基因抗病植物,可以解决一些常规的农药制剂难以防治的植物病害,如植物病毒病和细菌性病害。

Wei<sup>[12]</sup>等发现 Harpin 是一种能在许多植物上引发过敏反应的诱导物。Harpin 本身是一种蛋白质,具有无毒不污染环境的优点,但它也存在易于被降解失效的缺点。因此将此种蛋白质加工成某一种合适稳定的农药剂型比较困难。如何通过经济、简便的方法把它施用到植物上,既有有效的诱导抗性,又安全可靠,是一个重要课题。而许多草生欧氏杆菌菌株产生多种多样的抗生物质,这些菌在植物体上定殖力也比较强<sup>[14]</sup>。向具有良好生防作用的草生欧氏杆菌中导入 Harpin 基因,使 Harpin 基因能够稳定遗传和适量表达,就能构建出具有直接拮抗病菌和诱导植物抗性双重作用的重组生防菌,可以解决以上难题。

(3)加强植物内生菌基因工程的研究,可直接开发出高级、有效的植物杀虫剂和杀菌剂。

植物内生菌是存在于植物维管束中的一类对植物无害的微生物群落,其中主要为细菌,可在植物组织中存活并能转运。由于植物内生菌在体内具有稳定的生存空间,不易受外界环境的影响,作为潜在的生物资源,已广泛受到重视<sup>[13]</sup>。Clavibacter xyli subsp. cynidontlis(CXC)是一种能在玉米体内维管束系统定植的内生菌,其种群数量开始时为 10<sup>3</sup>(CFU/g),10 周后可达 10<sup>6</sup>(CFU/g)<sup>[14]</sup>,随后,将苏云金杆菌的 δ-内毒素基因 cry1A(c)整合到 CXC 的染色体中,构建了转基因工程菌。此种工程菌可系统定植在玉米的茎、叶和叶鞘的木质部内,植物组织内的菌落水平可达 10<sup>7</sup>(CFU/g)。在其体外生测中显示了对玉米螟的杀虫活性<sup>[15]</sup>。美国 CDI 公司用此种工程菌接种玉米种子,伴随玉米的生长,可减轻玉米螟的为

害。而且当幼虫转移进入叶鞘或茎秆中为害、化学药剂或 Bt 的任何剂型都不再发挥作用时,这种内生转基因工程菌仍能发挥良好的作用。

随着对微生物分子生物学和遗传学的深入研究,构建具有综合优良性能的重组菌株成为国内外微生物农药制剂发展的一个重要方向,构建内生基因工程菌也是微生物农药制剂研究的热点。这些生防重组工程菌以及转基因的抗虫、抗病植物在某种程度上代替了微生物农药剂型的作用,对环境无污染,而且更彻底、更长久地起到防治效果。因此可以说它是一种更高级的微生物农药剂型。

### 参考文献

- [1] Couch T L, Ignoffo C M. Formulation of insect pathogens, in Microbial Control of Pests and Plant Diseases 1970 - 1980. London: Academic Press, 1981, 621 - 634.
- [2] 应盛华,冯明光.[J].植物保护学报,2001,28(4):345 - 351.
- [3] Foreada C, et al.[J]. Arch Insect Biochem Physiol, 1999, 42(1):51 - 63.
- [4] Burges H D, Jones K A. Trends in formulation of microorganisms and future research requirements, in Formulation of Microbial Biopesticides 1998, 9 - 21.
- [5] 袁志明,刘娥英,等.[J].中国生物防治,1994,(2):95 - 98.
- [6] 喻子牛.苏云金杆菌.[M].北京:科学出版社,1990.
- [7] 田连生,石万龙,等.[J].河北省科学院学报,2001,18(2):114 - 117.
- [8] Pierson F A.[J]. FEMS Microbiology Ecology, 1996, 136:101 - 108.
- [9] Steware I M D, Hirst M.[J]. Nature, 1991, 352:85 - 88.
- [10] Vaeck M A, et al.[J]. Nature, 1987, 328:33 - 37.
- [11] 张智奇,周音,等.[J].吉林农业大学学报,1996,18(1):91 - 95.
- [12] Wei Z M, Laby R J, Zumoff C H, et al.[J]. Science, 1992, 257:85 - 88.
- [13] Misaghi I J, Donndelinger C R.[J]. Phytopathology, 1990, 80: 808 - 811.
- [14] Reester P W, Kostaka S J.[J]. Phytopathol Soc Abstr, 1988, 223.
- [15] Lampel J S, et al.[J]. Microbiol, 1994, 60(2):501 - 508. ■

## 2002 年度《现代化工》优秀读者名单

在 2002 年底《现代化工》读者意见调查活动中,许多读者给我们返回意见调查表,并提出了宝贵的意见和建议。经评选,以下读者被评为 2002 年度优秀读者:

郑建勇 梁 锋 崔世龙 丁剑昆 马 坚 孔宪清

杨 鸿 王福安 潘丁文 畅钰霞 李红燕

以上读者获赠 2003 年全年《国际化工信息》(月刊)一套。 ——本刊编辑部