

5. 我们的调查和动物实验证实了防老剂 D 的致癌性。最近的实验证明其主要成份 N-苯基-2-萘胺对小鼠致癌, 这澄清了国际上的争论。^[6,7]

参 考 文 献

- [1] 犹学筠等, 实验生物学报, 14, 139—144(1981).
- [2] 王衡文等, 实验生物学报, 14, 79—86(1981).
- [3] 王衡文等, 实验生物学报, 14, 129—138(1981).
- [4] 王衡文等, 四氯化碳和防老剂 D 的协同致肝硬变及肝癌作用实验生物学报(待发表).

- [5] Innes, J. R. M. et al., *J. Natl. Cancer Inst.*, **42**, 1101—1114 (1969).
- [6] NTIS (National Technical Information Service), *Evaluation of Carcinogenic, Teratogenic and Mutagenic Activities of Selected Pesticides and Industrial Chemicals*, Vol. I, Washington DC, US Dept. of Commerce, 1968. See also: *IARC Monographs on the Evaluation of Carcinogenic Risk of Chemicals to Man.*, Vol. 16, 325—341, 1978.
- [7] Green, U. et al., *J. Cancer Res. Clin. Oncol.*, **95**, 51—55 (1979).

病毒治虫的安全问题与环境保护*

梁 东 瑞

(武汉大学病毒研究所)

四十年代以来,以 Balch 和 Bird (1944) 等人利用核型多角体病毒防治欧洲云杉叶蜂 (*Diorion hercyniae*) 获得成功后,世界各国利用病毒治虫蓬勃兴起,至 1977 年已发现近 1,000 种无脊椎动物病毒,50 多种被用于大面积害虫防治。至少 6 种以上病毒杀虫剂已工业化生产,进入商品农药阶段,成为一种通常的防治手段^[1]。

昆虫病毒作为害虫生物防治的重要手段,已日益受到人们的重视。至 1980 年我国已从农、林、果、茶、蔬等作物害虫中发现近 80 种病毒。1973 年,以桑毛虫核型多角体病毒成功地进行大田防治以来,至今已有 20 多种病毒用于较大规模的田间试验。四种以上病毒被研制成为病毒杀虫剂(如菜粉蝶 GV(W1-78)、棉铃虫 NPV、小菜蛾 GV、大尺蠖 NPV)。病毒治虫面积约数十万亩,效果显著。

随着病毒治虫日益广泛的应用,人们自然会提出这样一个问题:在自然环境中大量散布高浓度的病毒,在研究和生产病毒制

剂的过程中又长期地接触病毒,它究竟给人和环境带来怎样的影响和后果?这是引人关注的问题。在病毒的分类系统中,除杆状病毒科外,其它种类的昆虫病毒在形态学和生物化学上具有某些相同之处^[2]。尽管这些病毒,用于防治害虫数量极少,也必须考虑它们与环境保护的关系。

理想的杀虫剂应当是对害虫防治有显著效果,对人、家畜、家禽、水生生物、害虫天敌、经济昆虫及植物等无害,且不污染环境。如果某种杀虫剂对害虫防治效果很好,对人畜等也有毒性和致病性或污染环境,这种制剂则是不能使用的。

关于病毒杀虫剂的安全性问题,国外比较重视。如 Ignoff 和 Heimpel (1965) 用美洲棉铃虫 (*Heliothis zea*) 和烟夜蛾 (*Heliothis virescens*) 核型多角体病毒感染小白鼠和豚鼠,未发现病变^[3]。Ignoff (1975) 用 51 种病毒对 20 种脊椎动物,36 种无脊椎动物,24 种

* 本文撰写中得到刘年翠教授的指导与修改,特此致谢。

植物进行试验,结果无致病性^[4]。Heimpel 和 Buchanan (1967) 用美洲棉铃虫病毒给自愿受试者每人(男、女各 10 人)五天内吞食 5.82×10^9 多角体,从第 10 天开始体检,经过两年,发现身体健康,无异常症状^[5]。又对从事病毒制剂生产人员进行体检,亦未发现任何异常症状。Ignoff 和 McIntos (1975) 曾用实夜蛾核型多角体病毒接种于三种人的细胞系和三种脊椎动物细胞系中,经电镜观察未见病毒在细胞内复制^[4]。1973 年联合国粮农组织农业研究报告第九十一号曾推荐美国环保局提出的《在美国评价微生物制剂安全性指导说明书》和美国农业部昆虫病理实验室《试验昆虫病理所遵循的议定书》,明确规定病毒杀虫剂的安全条例。1975 年 9 月联合国世界卫生组织在日内瓦召开的一次有关医学病毒学的讨论会上,将病毒杀虫剂的潜在生态危险列为一项课题。许多国家在使用病毒杀虫剂前,普遍进行了较为系统的、广泛的安全试验,并向国家登记,经批准后使用。美国在研制实夜蛾核多角体病毒杀虫剂的过程中,用在安全试验的代价占研究费用的半数以上^[6]。

七十年代初期,在我国对昆虫病毒的安全问题开始引起注视,曾对斜纹夜蛾 NPV 和桑毛虫 NPV 的安全性做过一些零星的试验^[7-8]。至目前为止,约对 10 种病毒开展程度不同的安全试验,其中有菜粉蝶 GV,棉铃虫 NPV,大尺蠖 NPV,白杨天社蛾 GV,黄地老虎 GV,小菜蛾 GV 等。从目前所掌握的资料看来,除菜粉蝶 GV 等参照国际上提出的安全试验标准和测试的病毒用量(以每人体重为 70 公斤采用 10 英亩的病毒量)以外^[9-10],其余大都是自由选择。

现将我国利用病毒治虫的安全问题研究状况归纳如下。

1. 对脊椎动物的影响

菜粉蝶 GV: 供试的 14 种动物中,哺乳

动物 5 种,禽类 2 种,鸟类 2 种,两栖类 1 种,水生生物 4 种。方法是通过口服、喷喉、滴眼、皮试、肌肉和静脉注射。经 45—120 天对体温、体重、生育和后代的观察,剖检和取心、肝、肺、肾、脾、肠、胰、脑和淋巴等样品匀浆、组织包埋切片和光学镜检以及电镜观察,未见致病性。某些动物后代(如鸡、羊等)发育正常^[9]。

白杨天社蛾 GV: 供试动物有家兔、小白鼠、豚鼠、狗、鸡、鸭、鸽、鱼、蛙、鸟等 10 种,经剖检和组织病理切片检查,尚未发现致病性。

黄地老虎 GV: 供试动物有家兔、家鼠等,经皮下、腹腔注射,剖检未发现病变^[11]。

小菜蛾 GV: 供试动物有家兔、小白鼠、金鱼、草鱼、家鸽等经口服、皮下和静脉注射,未发现病毒。

此外,用马尾松毛虫 CPV 对小白鼠和家兔口服,扁刺蛾 NPV 对小白鼠静脉注射,大蓑蛾 NPV 对家鱼,斜纹夜蛾 NPV 对鸡胚,粘虫 NPV 对家兔、小白鼠、金鱼、草鱼、家鸽等口服、滴眼、皮下注射,棉小造桥虫 NPV 对家兔静脉注射,均未发现致病性^[7,13,14,19]。

2. 对经济昆虫的影响

家蚕: 采用菜粉蝶 GV,桑毛虫 NPV,大尺蠖 NPV,黄地老虎 GV,棉铃虫 NPV,白杨天社蛾 GV,大蓑蛾 NPV,扁刺蛾 NPV,小菜蛾 GV,油松毛虫 CPV 等 11 种病毒感染家蚕,未见致病性^[8,9,11-14]。

但用马尾松毛虫和赤松毛虫 CPV 分别添食感染家蚕时,则发现家蚕感病死亡率为 3.3—18.3%。而用家蚕 CPV 感染马尾松毛虫时其死亡率为 33%。由此表明两者之间有交叉感染性。上述两种病毒的安全问题,尚待进一步试验^[19]。

蓖麻蚕: 用菜粉蝶 GV,小菜蛾 GV,赤松毛虫 CPV,油松毛虫 CPV 等添食感染蓖麻蚕,未发现致病性^[9,19]。

柞蚕: 用油松毛虫 CPV,午毒蛾 NPV

感染柞蚕,未发现染病死亡^[15]。

蜜蜂: 用白杨天社蛾 GV, 大蓑蛾 NPV 喷毒感染蜜蜂, 证明对蜜蜂无害^[12-15, 19]。

3. 对昆虫天敌的影响

赤眼蜂、线虫、绒茧蜂、黑茧蜂(蝶蛹小蜂)对菜粉蝶 GV 无敏感性, 田间喷施病毒杀虫剂 9 天后, 发现草蛉、蜘蛛、瓢虫等虫口增长率为 16—28%。棉铃虫 NPV 对后 3 种天敌同样无害。大蓑蛾 NPV 对伞裙追寄蝇, 木毒蛾 NPV 对蜘蛛、七星瓢虫、益椿、蝇类等亦属无害^[9, 15-17]。

4. 在人体和脊椎动物离体细胞中的接种试验

将菜粉蝶 GV 接种到离体培养形成单层的人胚肺、乳兔肾、鸡胚三种细胞中, 经 7 天培养, 有的育传三代, 经光学镜检和超薄切片观察, 未发现细胞病变^[9]。

5. 在人群和动物血清中昆虫病毒抗体的调查

菜粉蝶 GV: 将菜粉蝶 GV 制备的 IgG, 用酶联免疫直接法 (ELISA) 对接触菜粉蝶 GV 最多的 10 名工作人员(男 8, 女 2)检测和在武汉地区 233 例人群血清中发现: 前者血清均为阴性反应, 而后者却有 1.7% 出现阳性反应。表明有极少数人身上存在着菜粉蝶 GV 抗体^[9]。

棉铃虫 NPV: 将棉铃虫 NPV 制备的抗血清, 用对流电泳法, 检测多年从事棉铃虫 NPV 工作的人员 (5 人), 均呈阴性反应。

大尺蠖 NPV: 用大尺蠖 NPV 制备的病毒粒子为抗原, 检测与大尺蠖病毒无接触的人, 健康兔、豚鼠的血清却出现沉淀反应。

上述异常现象, 可能是由于环境中与抗原性质相关的病毒存在, 应追踪随访。MacCallum 等人 (1979) 用微量琼脂双扩散法

检测马来西亚和英国等地不同人群血清中的 Darna trina 病毒抗体(一种非包涵体 RNA 昆虫病毒), 在检测的 699 例中, 阳性反应者 38 例, 占 5.4%。而且抗体的持续最长可达 36 个月之久, 但没有病症。MacCallum 等认为, 这种有抗原性相关的病毒的存在与疾病无关, 可能是一种隐性感染^[20]。

6. 对植物的影响

就目前所知, 所有的病毒杀虫剂在大田使用后, 都未发现对作物造成药害者。如菜粉蝶 GV 杀虫剂喷洒于十字花科蔬菜、油菜作物上, 无任何伤害, 由于杀虫的效果使蔬菜产品增加 5—33%。白杨天社蛾 GV 喷洒于杨、柳、松、杉、梧桐、桂花、白菜、丝瓜、豆角等植物。未发现伤害迹象^[9]。

7. 剔除和避免其他有致病性微生物的污染

根据 Pinnock (1979) 报道, 美国加利福尼亚州曾发现有三种病毒混杂在核型多角体病毒中, 并且这种病毒的抗体在人、羊和山羊体内也能检查出来。为此, 病毒制剂的生产曾一度停止。Kurstak (1972) 等人报道, 大蜡螟非包涵体浓核病毒 (*Galleria mellonella* Densovirus) 可感染小鼠 L-系细胞^[21]。武汉大学 1980 年在研制“菜粉蝶 GV (W1-78) 杀虫剂”中, 曾发现一种非封闭型细小病毒 (*Parvovirus*) 混杂在颗粒体病毒中, 同时也在菜青虫体中增殖。在这种病毒的安全性尚未摸清之前, 采用差异离心法和丙酮-乳糖共沉法以及干燥法在杀虫剂的生产工艺中将其剔除, 以使病毒杀虫剂得到一定程度的纯化, 避免受到其它有害微生物的污染。要对每批产品进行检验, 然后再使用于大田^[9]。

从我国和国外研究的进展情况, 参照国际病毒分类系统可以看出, 杆状病毒科的病毒与已知的任何脊椎动物病毒或植物病毒, 在化学、物理和生物的性质都不尽相同^[2], 它

表 1 昆虫病毒的类型及其与其它病毒的类似性

类 型	寄主范围	核酸	包涵体	形态	与脊椎动物和植物病毒的类似性 (基于形态学和生化的标准)	
					脊椎动物	植 物
杆状病毒科 (Baculoviridae) 核型多角体病毒、颗粒体病毒、非包涵体杆状核型病毒	鳞翅目、膜翅目双翅目	DNA	+	杆状	无 (似乎只限于无脊椎动物)	无
呼肠孤病毒科 (Reoviridae) 细胞质型多角体病毒	鳞翅目、膜翅目双翅目	RNA	+	球状	呼肠孤病毒兰舌病毒	伤瘤病毒, 水稻矮缩病毒, 真菌病毒
痘病毒科 (Poxviridae) 昆虫痘病毒	鳞翅目、膜翅目鞘翅目、双翅目	DNA	+	砖形	痘病毒类群	无
虹彩病毒科 (Iridoviridae) 虹彩病毒	鳞翅目、膜翅目、鞘翅目、双翅目半翅目	DNA	-	球形	从鱼、蛙、蟾蜍分离的病毒非洲猪瘟病毒	真菌和藻类病毒
细小病毒科 (Parvoviridae) 浓核症病毒	鳞翅目	DNA	-	球形	细小病毒类群	无
细小核糖核酸病毒科 (Picornaviridae) 蜜蜂囊状锥病毒	鳞翅目、膜翅目鞘翅目、直翅目	RNA	-	球形	肠道病毒类群	细小核糖核酸病毒类群
弹状病毒科 (Rhabdoviridae) 果蝇西格马氏病毒	双翅目	RNA	-	杆状和子弹状	兔和鱼病毒(水泡性口膜炎病毒)	马铃薯黄矮病毒、莴苣坏死性黄化病毒等

们的形态结构和感染过程在病毒学中占有特殊的地位。到目前为止, 杆状病毒似乎只在无脊椎动物中增殖(表 1)。尤其是颗粒体病毒仅能使鳞翅目昆虫受到感染。这种专择特性, 在某种意义上说明, 利用这个科的病毒来防治害虫, 可能是较为安全的。因此, 国内外在病毒治虫中, 大都选择此科病毒——核型多角体病毒和颗粒体病毒, 并已取得良好的防治效果。

应当指出, 在安全问题的研究过程中, 通过血清调查, 已在极少数人体和动物血清中发现有极少数昆虫病毒抗体^[19,20], 其原因尚不清楚。Himeno 等人(1967)用家蚕核多角体病毒的 DNA 感染人的羊膜 (FL) 细胞株获得成功, 病毒在 FL 细胞株中增殖, 并能回复感染家蚕^[21]。然而此项研究, 迄今无人获得重复^[4]。又如大蚊虹彩病毒、油松毛虫病毒、马尾松毛虫 CPV、赤松毛虫 CPV 等分别感染家蚕, 均能引起家蚕致病。大蜡螟非包涵

体细小病毒能引起小鼠 L-细胞病变^[21]。同时表 1 说明, 昆虫病毒除杆状病毒外, 其他种类的昆虫病毒所属的 6 个科与脊椎动物病毒, 4 个科与植物病毒有类似性。甚至有的植物病毒能在昆虫体内繁殖, 在脊椎动物病毒中的虫媒病毒也有类似的现象, 有的昆虫病毒还带有尾部的类似噬菌体的形态^[1]。

上述问题虽非普遍性, 迄今尚在探索之中, 由于病毒具有遗传性和变异性, 它可以朝着有利于人类的方向发展, 也可能朝着不利于人类的方面变异。病毒之所以能以不同的方式进行变异, 是由于病毒生态的适应环境的结果。这样就更显示出病毒生物防治与环境保护紧密相连的关系。而昆虫病毒的研究和发展与其他动物、植物和细菌病毒相比较还是较年青和缓慢的。在没有准确的病毒鉴定手段, 研究病毒的各项特性和它在活体内及离体条件下的特异性, 并掌握其突变规律之前, 对昆虫病毒的安全性应持谨慎态度。全

面肯定或否定都是不科学的。只要大力开展昆虫病毒学的基础研究,对病毒的特性及其在各种条件下的表现愈了解,就愈是可以减少或完全避免应用中可能出现的危险性。我们要最大限度地发挥病毒杀虫剂的长处,不断克服它的短处,使这一新的害虫防治手段不断完善。

四十年代有机氯化学农药问世,由于它们具有强大的杀虫力,而且广谱、速效、使用和贮运方便,利于大工业生产。当时人们把消灭害虫的希望,寄托在这些农药上。这些农药在一定时期内对农业曾起过增产作用。跟着也出现了严重后患,即:一些作物的主要害虫发生抗药性,大量昆虫天敌受到伤亡,生态平衡被破坏,水质、土壤、大气亦遭污染,残留于农作物、畜产品、水产品中的农药残毒通过食品、饮料、呼吸进入人的血液、积存于肝、脑、脂肪等处,并且危及牲畜,造成公害。从使用有机氯农药到认识其危害,以致全面限制和禁止使用,经历了 20 亿年。结果促使人们致力于当今低毒、高效、低残留,甚至有选择性的化学农药的研究和应用。

七十年代以来,有的国家已由政府颁布安全试验准则,把包括昆虫病毒在内的杀虫剂都列入《杀虫剂法案》,并成立相应的专门机构,以监督上述法律条文的执行。当我国正广泛应用病毒治虫时,安全与环保问题应引起有关方面的重视,以逐步确立昆虫病毒杀虫剂的安全标准、检测技术和管理办法。凡具有经济价值的病毒品,应作安全性鉴定并向国家有关部门登记。这样,人畜安全和环境保护才有保障。

参 考 文 献

- [1] 高尚荫,中国病毒学研究三十年,科学技术文献出版社重庆分社,128—162 页,1980 年。
- [2] Tinsley, T. W., *Virology in Agriculture*, Chapter 8, pp. 117—133, 1976.
- [3] Ignoff, C. M. and Heimpel, A. M., *J. Invert. Pathol.* **7**, 329—339 (1965).
- [4] Ignoff, C. M., In *Baculoviruses for Insect Pest Control: Safety Considerations* (M. Summers Ed.) p. 52, American Society for Microbiology, 1975.
- [5] Heimpel, A. M. and Buchanan, L. K., *J. Invertebr. Pathol.*, **9**, 55—57 (1967).
- [6] Ignoffo, C. M., *Expt. Parasit.*, **33**, 380—406 (1973).
- [7] 戴冠群,昆虫学报, **16**(1), 89—90(1973).
- [8] 朱国凯等,微生物学报, **15**(2), 93—100(1975).
- [9] 刘年翠 梁东瑞 张起麟,武汉大学学报(自然科学版), **2**, 49—89(1981).
- [10] U. S. EPA, *Baculoviruses for Insect Pest Control: Safety Considerations* pp. 179—184 (1978).
- [11] 新疆农科院微生物室等,微生物学报, **12**(4) 355—356(1978).
- [12] 谢天恩等,病毒学集刊(1979 年专辑),中国科学院武汉病毒研究所版,18—20 页。
- [13] 梁东瑞等,昆虫知识, **18**(2), 65—67(1981).
- [14] 安徽省农科院植保所,微生物学通报, **6**(5), 12—14 (1979).
- [15] 岳书奎等,东北林学院学报, **2**, 63—70(1979).
- [16] 华中师范学院生物系生防组等,华师院学报(自然科学版), **1**—2, 42—53(1975).
- [17] 福建林学院森保组等,昆虫学报, **23**(2), 184—187 (1980).
- [18] 刘年翠等,病毒学集刊, (1980 年专辑), 科学出版社, 1981 年版。
- [19] 山东省沂南县东风林场,微生物学通报, **5**(1), 44—45(1978).
- [20] MacCallum, F. O. et al., *Interiviology*, **11**, 234—237 (1979).
- [21] Kurstak, E., *Advan Virus Research*, **17**, 207—241 (1972). Academic Press, New York and London.
- [22] Himeo, M. et al., *Virology*, **33**, 507—512 (1967).