

# 昆虫病毒研究的回顾与展望

胡远扬

(武汉大学病毒研究所, 湖北武汉 430072)

## Insect Virus Research and Prospects in China

HU Yuan-yang

(Institute of Virology, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

关键词: 昆虫病毒; 杆状病毒

中图分类号: S432.1

文献标识码: A

文章编号: 1003-5152(2004)03-0303-06

在病毒学研究一个多世纪的发展史中,以昆虫作为宿主,并在宿主种群中发生流行病的昆虫病毒研究起步较迟,落后于植物病毒、动物病毒、细菌病毒。但是近五十年来,昆虫病毒研究得到很大的发展。据国际病毒分类委员会第七次报告的统计,至今已报告的昆虫病毒有 1600 多种,涉及昆虫纲几乎所有的目。这些昆虫病毒分属于 13 个病毒科、2 个病毒亚科和 21 个病毒属。按病毒核酸类型划分,可分为: 1) 双链 DNA 病毒,其中有杆状病毒科、痘病毒科、多分病毒科、泡囊病毒科和虹彩病毒科; 2) 单链 DNA 病毒中的细小病毒科; 3) 双链 RNA 病毒,其中有呼肠孤病毒科、二分 RNA 病毒科; 4) 单链 RNA 病毒,其中有微 RNA 病毒科、野田村病毒科和 T 四病毒科; 5) DNA 和 RNA 的反转录病毒,包括前病毒科和变位病毒科<sup>[2]</sup>。昆虫病毒已经成为病毒研究比较活跃的领域之一,它在生命科学研究中占有显著的地位并显示出广阔的发展前景。

我国的昆虫病毒研究实际上始于二十世纪 50 年代中期高尚荫、曹诒荪等人对家蚕核型多角体病毒(NPV)病研究<sup>[3]</sup>。近五十年来,在昆虫病毒——昆虫细胞离体培养系统;昆虫病毒资源的识别鉴定;昆虫病毒分子生物学;昆虫病毒生物防治技术等研究领域得到很大的发展,取得长足进步,并在国际上产生重要影响。

### 1 昆虫病毒-昆虫细胞离体培养系统

Enders 等 1949 年用非神经性组织、体外培养脊髓灰质炎病毒获得成功和 Dulbecco 1952 年建立的细胞单原培养蚀斑技术对病毒学研究发展产生

过重要的推动作用,在昆虫病毒研究领域,我国高尚荫等 1957 年开始进行了家蚕各种组织的体外培养,并且在卵巢组织培养物中接种家蚕 NPV,在其细胞核内观察到多角体的形成。这一科学成就被国际上认为是无脊椎动物组织培养中最重要的突破和开创性的工作。

在二十世纪七十和八十年代,中国的昆虫组织培养技术发展很快,并达到了很高的水平,中国科学院武汉病毒所谢天恩等深入进行了家蚕培养细胞和家蚕核型多角体病毒(NPV)复制的研究并进一步开展了棉铃虫幼虫血球细胞培养和棉铃虫 NPV 感染实验,蓖麻蚕 NPV 感染蓖麻蚕原代血球细胞和建立了蓖麻蚕血球细胞系,油桐尺蠖血球细胞系。潘李珍、陆荣华等白纹伊蚊细胞株研究和朱关福、黄满涛、李雪东等分别利用不同的白纹伊蚊细胞系分离登革热病毒,获得满意结果。这一时期,谢荣栋等的蓖麻蚕、桑毛虫、粘虫幼虫血球细胞,蛹卵巢细胞的原代培养和刘栖干等建立的茶尺蠖蛹卵巢细胞株等研究工作取得重要进展。

华中师范学院昆虫病毒研究室李琮池、陈曲侯等对棉铃虫成虫各种组织细胞及幼虫血球细胞进行了原代培养,陈曲侯等分别从棉铃虫雌蛹和小菜蛾全蛹中建立了细胞株。

我国此阶段建立的有影响的昆虫细胞系或昆虫细胞株还有北京第二医学院的 3 株白纹伊蚊细胞株、中科院上海昆虫所建立的茶尺蠖卵巢细胞系棉铃虫蛹细胞系、棉铃虫幼虫细胞系、粘虫幼虫血球细胞株。华中师范学院生物系建立的棉铃虫全蛹细胞系、小菜蛾全蛹细胞系(1986)、中科院武汉病

毒所建立的蓖麻蚕幼虫血球细胞系和油桐尺蠖幼虫血球细胞系(1987),油桐尺蠖卵巢细胞系(1989)刘淑珊等建立的椿蚕精巢细胞及蓖麻蚕蛹卵巢细胞系(1997)和李国勋建立的粘虫卵巢细胞系(1997)<sup>[14]</sup>。

昆虫组织培养技术的发展,促进了病毒感染机制,病毒形态发生,病毒与宿主的相互作用、病毒毒株分离等研究的发展,并为大规模培养昆虫细胞生产病毒奠定了基础。随着各种杆状病毒基因工程载体系统的构建,昆虫体外表达系统已是必不可少的重要工具。

1984年,陈曲侯等又详细研究了棉铃虫多粒包埋核型多角体病毒(HaMNPV)在离体细胞中的复制。1986年,余泽华等人又用中国棉铃虫多粒包埋病毒VHA-273感染了小菜蛾(Px)细胞系。中科院上海昆虫所也对HaMNPV—昆虫细胞离体系统进行诸多报道,同时也比较了HaNPV在同源和异源寄主细胞内复制及其感染性的异同。1992年钱锋报道了支持芹菜夜蛾核型多角体病毒复制的五种昆虫细胞系,1996年彭建新及龙小纯等人报道了Px细胞系和粉纹夜蛾(BTI-TN-5B1)同为芹菜夜蛾NPV的敏感细胞系,1996年喻修敏筛选出对中国棉铃虫单粒包埋核型多角体病毒HasNPV敏感细胞系——美国棉铃虫(*Heliothis Zea*) Hz—IB3细胞系。昆虫细胞离体培养研究是十分重要的基础工作,它推动了昆虫病毒研究的发展。

## 2 昆虫病毒资源的识别鉴定

昆虫病毒资源是我国自然资源的一个组成部分,是发展昆虫病毒学、开展病毒生物防治工程的重要基础。昆虫是地球上最庞大的生物类群,近年的研究表明,地球上的昆虫可能达1000万种,约占全球生物多样性的一半。目前已经被命名的昆虫在100万种左右,中国估计有昆虫60万—100万种,但目前有记载的仅7万种左右。迄今为止,至少知道已有1600多种昆虫能被病毒感染,主要集中在鳞翅目、双翅目、鞘翅目等少数几个昆虫类群。至今国际病毒分类命名委员会(ICTV)登记在册的杆状病毒有631种,其中被ICTV授予种分类地位的有15种NPV,4种GV。尚待分类的NPV有483种,GV有132种。但有资料表明,约200,000多种鳞翅目昆虫有被杆状病毒感染的迹象,保守的估计在鳞翅目昆虫中至少存在数千种杆状病毒。此外,已发现的昆虫病毒种类多为体型较大、易于分离的包涵体病毒(核型多角体、质型多角体、颗粒体病毒等),可以推测,自然界存在的病毒粒子体型较小的

非包涵体病毒中未被发现的数量一定不少。

我国早期的昆虫病毒研究始于“三蚕”(即家蚕、柞蚕和蓖麻蚕)脓病病毒。1955年镇江蚕研所就开始对家蚕脓病病毒进行研究,李广泽等对柞蚕脓病病毒,匡达人等对蓖麻蚕脓病病毒研究在这一时期占有重要地位。60年代谢天恩、蔡秀玉、张立人等对粘虫核型多角体病毒研究已涉及到病毒组织病理学、病毒生物学性质和病毒形态结构。

20世纪70年代和80年代,是我国昆虫病毒研究发展最快的时期,我国从事昆虫病毒研究的队伍迅速壮大。很快就从170多种昆虫中分离出200多株病原病毒,其中90多株为国际上首次报告。中科院动物所蔡秀玉等先后分离了黄地老虎GV,中国绿刺蛾NPV、GV,甜菜夜蛾NPV等29株昆虫病毒。武汉大学梁东瑞等报道了50余株昆虫病毒的分离鉴定结果。这些研究结果集中反映在1986年出版的《中国昆虫病毒图谱》(梁东瑞、胡远扬、蔡育能、刘岱岳等编著)和张立人主编的《中国昆虫病毒电子显微镜图谱》(1988年科学出版社出版)中。中国科学院武汉病毒所彭辉银等仅从1992—1995年期间就在我国西南地区分离鉴定了17种昆虫病毒。

这一时期有重要影响的研究工作有,蒲蛰龙等在广东首次发现马尾松毛虫质型多角体病毒。湖北、上海、江苏等地几乎是同时都分离出棉铃虫核型多角体病毒,华中师范学院生物系、复旦大学生物系、中国科学院武汉病毒研究所、河北农大植保系等单位都开展了该病毒的研究,其主要原因之一是由于棉铃虫是我国重要经济作物棉花的重要害虫,在棉铃虫的寻找新的生物防治途径工作受到各方面重视。复旦大学苏德明等对棉铃虫质型多角体也进行深入研究。

戴冠群1973年在广州地区首次分离到斜纹夜蛾核型多角体病毒,随后黄冠辉、中山大学、中国科学院武汉病毒所也分离到此病毒,1998年该病毒由中山大学转化成有较大影响的昆虫病毒杀虫剂“虫瘟一号”。

武汉大学刘年翠课题组1978年开始系统研究了菜青虫颗粒体病毒(PrGV)。包括病毒的分离提纯,形态、病理、毒力测定、核酸、蛋白质、血清学、安全性、生产工艺,并且在应用方面开展大规模田间试验,获得满意的效果<sup>[13]</sup>。

## 3 昆虫病毒分子生物学

20世纪70年代后期开始的杆状病毒分子生物

学研究为标志的昆虫病毒分子生物学研究, 后来成为病毒学乃至整个生命科学研究热点之一。

杆状病毒进化生物学研究结果表明杆状病毒具有共同的起源。从这个共同的祖先开始, 杆状病毒的差异程度随着病毒基因组上的许多单基因或基因片段的获得或缺失不断增大。目前已经全基因组测序的 22 株杆状病毒中, 发现都具有的共有保守基因有 30 个, 它们可能也是杆状病毒的核心基因。其中 23 个基因的功能已得到初步了解。杆状病毒蛋白质组学的研究已经比较深入, 对 AcMNPV 的包涵体来源病毒粒子 (ODV) 的蛋白质组学研究首次全面的揭示了 ODV 病毒类型的蛋白质组成。在其中发现了属于 ODV 膜蛋白的组份有 10 个, 与 DNA 复制相关的蛋白有 5 个, 存在于核衣壳及未确定定位的结构蛋白有 29 个, 共计 44 个病毒编码的蛋白<sup>[1]</sup>。

从 70~80 年代, 我国的昆虫病毒研究围绕已分离发现的昆虫病毒特别是各种核型多角体病毒、颗粒体病毒开展了病毒结构多肽、基因组物理图谱、碱性蛋白酶、核酸酶的研究。90 年代以后我国集中围绕比较有代表性的几种昆虫病毒, 如棉铃虫 NPV、粘虫 NPV、油桐尺蠖 NPV、茶尺蠖 NPV 和黄地老虎 GV 等进行了基因克隆、基因定位及基因分析的研究。涉及的昆虫病毒基因有多角体蛋白基因、颗粒体蛋白基因、DNA 聚合酶基因、几丁质酶基因、egt 基因 (皮甾体尿苷二磷酸葡萄糖转移酶基因) 和增效因子序列等。

当 1983 年美国 Summers 研究组首次报道重组杆状病毒体外表达外源基因成功后, 以苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒 (AcMNPV) 和家蚕核型多角体病毒 (BmNPV) 为基本研究模型的杆状病毒表达系统已经成为功用最多的、高效率的真核细胞表达载体系统。我国也先后开展了用中国自己分离的杆状病毒构建表达载体系统的研究。中山大学昆虫研究所、中国科学院上海生化所、北京预防医学科学院病毒所、武汉大学病毒系、华中师大昆虫研究所、南京大学生物化学系、中国农业科学院蚕业研究所等单位先后都开展了昆虫杆状病毒表达载体系统的研究。

近 10 多年来, 我国在昆虫病毒分子生物学研究中比较引人注目的工作有, 武汉大学齐义鹏在杆状病毒表达载体和基因工程重组病毒构建以及粘虫核型多角体 (LsNPV) 基因组以及 P<sub>10</sub>、VP<sub>39</sub>、P<sub>35</sub> 和海灰翅蛾 NPV SLP<sub>49</sub> 基因的研究。中山大学庞义等在 AcNPV、粉纹夜蛾 (TnNPV)、斜纹夜蛾 NPV、甜菜夜蛾 SeNPV 进行的基因表达, 调控元

件基因结构及重组病毒研究。中科学武汉病毒所胡志红、陈新文对中国棉铃虫 NPV 病毒进行的 Polyhedrin, egt, p10, p6.9, lef-2 基因以及全基因组序列及分子进化分析; 浙江大学张传溪和吴祥甫等在 BmNPV 基因组全序列测定及基因结构、外源基因表达以及茶尺蠖 NPV (EoNPV) 的基因组多角体蛋白基因、egt 基因方面的工作等。

细胞凋亡对生命体在生长发育、机体自我更新和抗感染的自我保护具有重要作用。而昆虫杆状病毒的抗细胞凋亡抑制蛋白被认为在提高病毒的感染力和决定病毒的宿主域中产生作用。

对昆虫杆状病毒凋亡抑制基因的研究是 1991 年从苜蓿银纹夜蛾 NPV 中发现 p35 基因开始的, 我国彭艳华等 (1996) 在粘虫 NPV 中, 施先宗等 (1997) 在粉纹夜蛾 NPV 中, 王业富等在棉铃虫 NPV 中相继发现了 p35 基因, 李小锋等研究了凋亡抑制基因 p35 对杆状病毒复制的影响。代小江等 (1999) 报道了棉铃虫 NPV 能诱导 Hi-5 细胞产生凋亡而且这种凋亡能被 TnMNPV 的 p35 所抑制。

王华林、陈新文 (2000) 报道了棉铃虫 NPV 另一类凋亡抑制基因 iap3 的序列分析。杜全胜等 (1998) 在海灰翅夜蛾核型多角体病毒 (SINPV) 中发现一种新的凋亡抑制基因 S1p49。

目前为止, 在我国分离发现的昆虫病毒中, 有五株病毒已完成全基因组序列测定, 它们是斜纹夜蛾核型多角体病毒 (SplMNPV), 基因组全长 139,341 bp<sup>[5]</sup>。黑胸大蠨浓核病毒 (PfdNV), 基因组全长 5454nt<sup>[6]</sup>。棉铃虫单粒包埋核型多角体病毒 (Ha sNPV), 基因组全长 131403 bp<sup>[7]</sup>。张传溪等也几乎同时完成另一株棉铃虫核型多角体基因组全序列测定并在 GenBank 注册登录。2003 年, 彭辉银等完成了马尾松毛虫质型多角体病毒的序列测定。茶尺蠖小 RNA 病毒的全序列测定也同时完成 (王小纯、胡远扬等 2003)。

#### 4 昆虫病毒生物防治

杆状病毒防治害虫最早开始于 20 世纪 30 年代初用核型多角体病毒防治欧洲锯蜂 (*Diprion hercyniae*), 从 70 年代初, 杆状病毒就被 FAO/WHO 推荐为一种安全的生物杀虫剂用于害虫防治。杆状病毒杀虫剂应用最成功的例子是巴西的黎豆夜蛾 NPV, 它在近 100 万公顷的大豆上应用<sup>[4]</sup>。棉铃虫 NPV 在中国和北美各地也有近 100 万公顷的应用。据不完全统计, 至今国际上已有 30 多个国家和地区开展了昆虫病毒防治工作, 已有 50 多种农林害

虫得到了有效的防治。

中国的昆虫病毒防治开始于 1973 年左右,蒲蛰龙等在广东首次发现马尾松毛虫质多角体病毒 (DpCPV) 后,1978 年利用 DpCPV 在广东斗门县防治马尾松毛虫,面积约 133 hm<sup>2</sup>,防效达 92%。1980-1990 年之间,在广东、山东、云南、江苏、浙江、安徽等省利用松毛虫 CPV 防治松毛虫,总计面积约在 30 万亩以上。在山东、江苏和广东还先后进行了飞机喷洒防治试验,林间使用后持续效果达 6 年之久(陈昌洁,1990)。在松毛虫病毒防治中,我国先后从马尾松毛虫、油松毛虫、赤松毛虫、德昌松毛虫、文山松毛虫、云南松毛虫、思茅松毛虫中发现了质型多角体病毒(蒲蛰龙等,1976)、核型多角体病毒(陈世维等,1981)、颗粒体病毒(陈廷纬等,1979)、浓核病毒(梁东瑞等,1983)、T<sub>4</sub>病毒(胡远扬等,2001)。在昆虫生物防治中,另一项应用广泛的病毒是棉铃虫 NPV 病毒。在 70 年代,我国产棉区广泛开展了利用棉铃虫 NPV

防治棉铃虫的田间实验,并在湖北兴建了第一座国家投资建设的年产能加为 30 吨的棉铃虫 NPV 制剂工厂(1983)。至今已有 4-5 个生物农药厂生产棉铃虫 NPV 杀虫剂。武汉大学刘年翠、梁东瑞等 1978 年开始对菜粉蝶颗粒体病毒 PrGV 进行了系统深入的基础和应用研究。该制剂在中国 29 个省市、216 个单位进行了 20 多万亩田间试验,标志着昆虫病毒杀虫剂应用研究和产业化基本模式已经形成<sup>[13]</sup>。戴冠群等在广州地区首次发离到斜纹夜蛾核型多角体病毒(PINPV)后,中山大学昆虫学研究所利用一种人工半合成饲料,常年批量饲养斜纹夜蛾、甜菜夜蛾、银纹夜蛾、粉纹夜蛾等多种夜蛾科昆虫。为 PINPV 杀虫剂的小试和中试生产研究以及工厂化生产提供了保证。利用中山大学的 PINPV 研究成果,广州市中达生物工程公司于 1998 年生产出商品化的“虫瘟一号”病毒杀虫剂,杀虫效果良好,年产量达 30 吨以上<sup>[11]</sup>。我国已进入田间试验或应用的昆虫病毒见表 1。

表 1 我国进入田间试验或应用的昆虫病毒种类

| 昆虫病毒名称<br>Insect virus | 寄主昆虫<br>Host                          | 使用情况<br>Application | 参考文献<br>Reference                      |
|------------------------|---------------------------------------|---------------------|----------------------------------------|
| 棉铃虫核多角体 HaNPV          | <i>Helicoverpa armigera</i>           | 大田                  | 荆州地区微生物所 1975<br>张光裕等 1979, 1982, 1991 |
| 油桐尺蠖核多角体 BsNPV         | <i>Buzura suppressaria</i>            | 大田                  | 谢天恩等 1985                              |
| 茶尺蠖核多角体 EoNPV          | <i>Ectropis obliqua</i>               | 大田                  | 侯建文等 1987, 陈棣华等 1987                   |
| 斜纹夜蛾核多角体 PINPV         | <i>Prodenia litura</i>                | 大田                  | 戴冠群等 1973, 陈其津等 1985                   |
| 茶毛虫核多角体 EpNPV          | <i>Euproctis pseudoconspersa</i>      | 田试                  | 洪华珠等 1985                              |
| 舞毒蛾核多角体 LdNPV          | <i>Lymantria dispar</i>               | 大田                  | 东北林学院等 1982                            |
| 木毒蛾核多角体 LxNPV          | <i>Lymantria xyliina</i>              | 大田                  | 福建林学院 1980, 田华松等 1995                  |
| 甘蓝夜蛾核多角体 MbNPV         | <i>Mamestra brassicae</i>             | 大田                  | 孙发仁等 1984, 李长友等 1989                   |
| 杨尺蠖核多角体 AcNPV          | <i>Apochemia cinerarius</i>           | 田试                  | 王志贤等 1979, 1981                        |
| 大蓑蛾核多角体 CvNPV          | <i>Cryptothelea varigata</i>          | 田试                  | 孙企农 1985                               |
| 灰茶尺蠖核多角体 EgNPV         | <i>Ectropis griseascens</i>           | 田试                  | 陈棣华等 1989                              |
| 文山松毛虫核多角体 DpwNPV       | <i>Dendrolimus Prunctatus wenshan</i> | 田试                  | 朱应等 1991                               |
| 菜青虫颗粒体 PrGV            | <i>Pieris rapae</i>                   | 大田                  | 刘年翠、梁东瑞等 1978, 1984                    |
| 黄地老虎颗粒体 AsGV           | <i>Agrotis segtum</i>                 | 大田                  | 吴祖银等 1979, 1986                        |
| 茶蚕颗粒体 AbGV             | <i>Andraca bipuncta</i>               | 大田                  | 丁永官等 1980, 1991                        |
| 杨扇舟蛾颗粒体 CaGV           | <i>Clostera anachoreta</i>            | 田试                  | 李雁春等 1984                              |
| 玉米螟颗粒体 OfGV            | <i>Ostrinea furnacalis</i>            | 田试                  | 殷永升等 1988                              |
| 马尾松毛虫质多角体 DpCPV        | <i>D. punctatus</i>                   | 大田                  | 陈世维等 1997                              |
| 文山松毛虫质多角体 DpwCPV       | <i>D. punctatus wenshan</i>           | 田试                  | 陈世维等 1986                              |
| 德昌松毛虫质多角体 DptCPV       | <i>D. dpunctatus techangensis</i>     | 田试                  | 黄跃跃等 1985                              |

(据李荣森 2000 年资料)<sup>[10]</sup>

我国已正式登记注册的昆虫病毒杀虫剂的品种有斜纹夜蛾 NPV、菜青虫 GV、棉铃虫 NPV、甜

菜夜蛾 NPV、苜蓿夜纹夜蛾 NPV、马尾松毛虫 CPV、茶尺蠖 NPV、樟螂 DNV 等 8 种。

在卫生害虫防治领域, 胡远扬等 1990 年从黑胸大蠊中分离获得的非包涵体细小病毒, 是国内外第一个正式分类鉴定的蟑螂病毒。在完成 10 年的基础研究及安全性试验后, 已进行产业化并被列为国家重点新产品 (2001)。

中国农业科学院生物技术研究中心与中山大学合作, 通过人工合成一种对昆虫专性的蝎子麻痹神经毒素 AaIT 基因及苜蓿丫纹夜蛾核多角体病毒 (AcNPV) 膜蛋白 gp64 信号肽编码序列, 构建了一株既能表达该毒素又能形成包涵体的重组粉纹夜蛾 *Trichoplusia ni* 核多角体病毒 vTn-AaIT3。由于重组病毒表达麻痹神经毒素, 使受感染昆虫在 2~3d 内麻痹, 停止为害作物, 但病毒照常可以增殖, 最后杀灭害虫。该重组 TnNPV 保留了多角体的启动子和结构基因, 表达量约为 P10 蛋白的 70%, 对粉纹夜蛾幼虫比野生型 TnNPV 缩短半致死时间  $LT_{50}$  近 50%, 并可正常产生多角体。庞义等将该重组 TnNPV 对粉纹夜蛾、棉铃虫、甜菜夜蛾、银纹夜蛾 3-4 龄幼虫作了杀虫效果观察, 表明杀虫时间可由野生型 TnNPV 的 5-7d, 缩短至 2-3d, 这是我国构建成功的第一株有实际应用价值的基因工程杀虫病毒<sup>[12]</sup>。

通过不同核多角体病毒的异源重组技术, 已得到多株扩大了杀虫谱的杂交病毒, 并发现斜纹夜蛾 NPV 基因缺失 1.7 kb 的 DNA 片段后, 扩大感染范围至甜菜夜蛾幼虫及其离体培养细胞 SE-1。这对研究杆状病毒寄主专一性的分子机制可能具有重要的意义。

孟小林等 (2000, 2001) 证实, 从棉铃虫 GV 基因中扩增表达的 P<sub>102</sub> 融合蛋白能提高苏云金杆菌对棉铃虫幼虫的感染率, 从粉纹夜蛾 GV 基因组中扩增表达的 P96 蛋白显著提高了 HaNPV 对锦铃虫的毒力<sup>[9]</sup>。

我国近年来已批准商业化生产和环境释放的转基因昆虫病毒有中国科学院武汉病毒所的重组棉铃虫核型多角体病毒 (HaCXW) 杀虫剂, 双重重组棉铃虫核型多角体病毒杀虫剂, 武汉大学病毒所转苏云金杆菌杀虫晶体蛋白的重组杆状病毒, 中国农科院蚕业所的转植酸酶基因的重组家蚕核型多角体病毒。

迄今为止, 昆虫杀虫剂在我国每年 28 万吨杀虫剂市场中仅占极少份额, 影响甚微, 尚未形成优势和规模。我国地域辽阔, 生态复杂, 昆虫种类繁多, 有十分丰富的昆虫病毒资源。利用我国的昆虫病毒资源, 通过多种高新生物技术, 发展我国昆虫

病毒杀虫剂产业具有十分有利的条件。不仅可以满足化学农药杀虫剂市场更新换代需要, 还可以逐步在本领域形成中国特色产品并走向国际市场。

## 5 国际昆虫病毒学发展趋势及我国的差距

昆虫病毒不会像医学病毒学那样是病毒学研究的中心和主角, 因为医学病毒学直接涉及人类自身的健康和疾病。但是昆虫病毒作为地球上的一类生物资源, 一种理想的分子生物学模型, 一种高效表达外源基因的载体系统, 控制害虫的生物防治的工具将会有更大的发展。未来 10 年中昆虫病毒的分子生物学研究将仍就是昆虫病毒学发展的主流, 预计将在以下领域有较大的发展:

1) 昆虫病毒蛋白质组学和功能基因组学仍然是研究热点之一。虽然杆状病毒的基因组复制研究比较深入, 但还有许多环节有待进一步深入。而在昆虫病毒分类涉及的另外 15 个科的病毒中, 基因组复制机制和表达调控研究还是远远不够, 有些处于空白状态。

2) 昆虫病毒的进化生物学是另一个重要的研究方向。病毒的进化生物学是国际病毒学大会新的主题之一。病毒的进化能够成为当前和今后一段时间的热点研究表明病毒学一些领域的原始资料积累足以进入综合分析阶段。但昆虫病毒学中除了杆状病毒外, 其它 15 个科的病毒的分子生物学资料还远远没有弄清, 今后一段时间, 将是积累这些类群病毒分子生物学资料的阶段和发展的重点。

3) 昆虫杆状病毒表达载体系统是迄今为止最成功的外源基因表达系统之一, 已成为在真核宿主中表达各类基因的最好的工具<sup>[8]</sup>。已经在病毒学、分子生物学、药理学、病理学、生物药物领域广泛应用, 已有数百种外源基因在这一系统中表达。但是作为外源蛋白包括疫苗、各种治疗因子和诊断试剂的大规模商业化生产还存在着缺陷和局限性。比如, 由于外源蛋白在该系统中只是瞬时表达, 而且外源基因表达常发生在感染晚期, 宿主细胞许多功能受阻, 蛋白质加工能力降低; 此外, 昆虫细胞蛋白加工途径与更高等的真核细胞不完全一致; 还有多次感染循环会产生缺损干扰病毒, 它影响并限制该系统有效生产时间等问题都有待进一步解决。目前科学家们已提出一些方法, 像用病毒启动子发展昆虫细胞表达系统和构建微型病毒复制子等。进一步改进完善昆虫杆状病毒表达载体系统将是一项

艰巨的任务。

#### 4) 基因工程病毒杀虫剂的研究

用不同类型的外源毒力基因(各种昆虫神经毒素、肽类激素、Bt 毒素蛋白、蛋白酶抑制因子等)通过 DNA 重组技术来增加昆虫病毒的杀虫效果,能够克服昆虫病毒作为杀虫剂作用时间慢的弱点。杀虫速率的改进是昆虫病毒杀虫剂能够更广泛应用的十分关键的问题。而宿主特异性过高是阻碍昆虫病毒杀虫剂发展的另一个问题,因为农民总希望用一种杀虫剂能防治某一作物的所有害虫。由于决定杆状病毒宿主域的分子生物学基础研究进展,已证实家蚕 NPV 和苜蓿银纹夜蛾 NPV 的 DNA 解旋酶基因与扩大宿主域有关。通过基因操作,构建扩大宿主域的昆虫病毒杀虫剂将是基因工程病毒杀虫剂构建的另一种发展方向。此外,某些颗粒体病毒(GV)中的增强蛋白能提高幼虫对病毒的感受性并加速 NPV 的发病过程,并能提高其它生物杀虫剂(诸如苏云金杆菌  $\delta$  内毒素)的效率。已证实增强蛋白在 GV 中普遍存在,粉纹夜蛾 TnGV 增强蛋白基因已被克隆。它是昆虫病毒感染中有比较重要意义的一类蛋白,也是今后基因工程病毒可能组装的配件之一。

5) 在昆虫病毒研究领域,迄今为止报道的病毒株中,核型多角体病毒 NPV、颗粒体病毒 GV、质型多角体病毒 CPV、虹彩病毒 IV 等大型病毒占到其中 80%以上。而涉及其它 10 个科的小型病毒类群报告的数量非常少。究其原因,一方面由于病毒太小不易发现分离,另一方面,这些小型病毒多为 RNA 病毒,研究难度大,参照文献少。但是这些未被认识的病毒类群在自然大量存在,这些昆虫病毒在长期进化中形成的超级进化群(supergroup),它们将是今后研究的热点。特别是双翅目昆虫中(如蚊虫等)发现的小病毒仅占报道病毒的 1/3,而近年陆续也发现的对人类有威胁的新病毒如西尼罗病毒等都被认为与蚊虫有关,这一类病毒也将是今后热点研究领域。

中国的昆虫病毒研究就整体水平而言在国际上处于比较先进的水平。其中部分研究产生过重要的国际影响。昆虫病毒资源分离鉴定,昆虫病毒生物防治应用,蚕病病毒研究等都具有很高的水平。但总的来看,研究的深度和广度还远远不够,创新性强和原创性的研究太少。近年来随着一批有影响

的老专家退休,部分研究单位出现青黄不接、后继乏人的情况,我国的整个昆虫病毒研究队伍呈现萎缩状态,希望引起有关单位重视。

以中国的昆虫病毒资源之巨,研究历史之久,研究人员之众,应该在昆虫病毒领域对人类有更大的贡献。

#### 参考文献

- [1] Fang M, Wang H, Wang H, *et al* Open reading frame 94 of *Helicoverpa armigera* single nucleocapsid nucleopolyhedrovirus encodes a novel conserved occlusion-derived virion protein, ODV-EC43[J]. *J Gen Virol*, 2003, 84:3021-3027.
- [2] Hunter-Fujita F R, Entwistle P F, Evans H F, *et al*. *Insect viruses and pest management*[M]. John Wiley and Sons. 1998.
- [3] Gaw Z Y, Liu N T, Zia T U. *Tissue Culture Methods for Cultivation of Virus Grasserie*[J]. *Acta Virologica*, 1959,3:55-60.
- [4] Moscardi F. Assessment of the application of baculoviruses for control of Lepidoptera[J]. *Annu Rev Entomol*, 1999, 44:257-289.
- [5] Pang Y, Yu J, Wang L, *et al*. Sequence analysis of the *Spodoptera lituratum* multicapsid nucleopolyhedrovirus genome[J]. *Virology*, 2001, 1; 287(2):391-404.
- [6] Guo H, Zhang J, Hu Y, Complete sequence and organization of *Periplaneta fuliginosa* densovirus Genome[J]. *Acta Virologica*, 2000, 44: 315-322.
- [7] Chen X, Zhang W J, Wong J, *et al*. Comparative analysis of the complete genome sequences of *Helicoverpa zea* and *Hilicoverpa armigera* single-nucleocapsid nucleopolyhedrovirus[J]. *J Gen Virol*, 2002, 83(Pt3):673-684.
- [8] O'Reilly D R, *et al*. Improvenmeny of a baculovirus pesticide by deletion of the egt jiyin[J]. *Biotechnology*, 1991,9:1086-1089.
- [9] 袁哲明, 孟小林, 刘树生. 粉纹夜蛾颗粒体病毒重组增效蛋白的增效作用[J]. *中国病毒学*, 2000, 15: 55-59.
- [10] 李荣森. 我国微生物防治研究与微生物农药产业化的近展[J]. *中国病毒学*, 2000, 15(SI): 1-14.
- [11] 陈其津, 庞义, 李广宏. 斜纹夜蛾核型多角体病毒杀虫剂—虫瘟一号[J]. *武汉大学学报*, 1998, 44: 183.
- [12] 姚斌, 范云六, 赵荣敏, 等. 表达昆虫特异性神经麻痹毒素 AaIT 的杀虫杆状病毒的构建[J]. *中国科学*, 1996, 26(1).
- [13] 刘年举, 梁东瑞. 菜粉蝶颗粒体病毒的分离、提纯、鉴定、超微结构和应用[J]. *病毒研究集刊*, 1984, 62-123.
- [14] 龚和. 我国昆虫分子生物学的回顾和展望[J]. *昆虫知识*, 2000, 37(1): 32-37.