

# 澳大利亚在应用免疫不育技术防治 有害脊椎动物研究上的最新进展\*

张知彬

(中国科学院动物研究所农业虫鼠害综合治理研究国家重点实验室, 北京, 100080)

摘要: 小家鼠、欧洲兔和红狐是在澳洲危害最为严重的 3 种有害脊椎动物。1992~1999 年间, 澳大利亚共投资了 5 000 多万澳元用于研究防治小家鼠、欧洲兔和红狐的不育疫苗, 有关免疫不育技术的研究已有很大进展, 主要体现在重组病毒性不育疫苗已接近实用化。有关不育控制的生态学理论研究也有了很大的进展, 初步确定了合适的不育水平, 这为不育疫苗生态风险评估和大田释放实验工作奠定了基础。相比之下, 非病毒或细菌性的、口服性的毒饵疫苗的研制尚无大的突破, 但这仍然是研究的重点。

关键词: 有害脊椎动物; 免疫不育; 不育控制; 澳大利亚

中图分类号: Q958.1 文献标识码: A 文章编号: 1000-1050 (2000) 02-0130-05

生物外来种入侵一直是制约澳大利亚农业、牧业及生态旅游业持续稳定发展的重要因素之一。很多物种经人们有意或无意地引入澳洲以后, 由于逃逸原来天敌捕食、寄生及竞争等方面的压力, 在与土著种的竞争中占有明显优势, 其种群数量及分布空间迅速扩大并形成危害。有些种类在农区对农作物造成巨大损失, 有些种类破坏草场, 影响畜牧业生产。更为严重的是, 这些入侵种对澳洲原始的生物多样性构成严重威胁, 大量的土著种因此而处于濒临灭绝的境地。

小家鼠 (*Mus domesticus*)、欧洲兔 (*Oryctolagus cuniculus*) 和红狐 (*Vulpes vulpes*) 是在澳洲危害最为严重的 3 种有害脊椎动物。小家鼠入侵澳洲后, 迅速蔓延至维多利亚州、新威尔士州、昆士兰州的农区, 每隔 2~7 年不定期大暴发, 给当地小麦、大麦、苜蓿生产带来巨额损失。欧洲兔大约每隔 10 年大发生一次, 其危害主要是破坏草场。红狐的危害主要是捕杀土著种如袋鼠 (*Macropus* spp.)、考拉 (*Phascolarctos cinereus*)、负鼠 (*Philander* spp.) 等。对欧洲兔的防治, 过去曾使用粘液瘤病毒防治, 最初效果十分理想, 但兔种群很快对这种病毒产生了免疫力, 目前主要依赖对巢穴内的兔进行熏蒸灭杀的办法。对小家鼠和红狐的防治, 主要采用投放含有化学杀鼠剂的毒饵。

随着公众对环保及动物权益等方面意识的增强, 传统的机械捕杀、化学毒杀等方法已越来越难以适应这一新的要求。除此之外, 简单的灭杀还存在专一性差、灭效短、种群恢复快等缺点。这就迫切要求发展较为人道的、无公害的、专一性强且持续时间久的

\* 基金项目: 国家杰出青年科学基金项目 (9825105) 提供部分资助

作者简介: 张知彬 (1964-), 男, 博士, 研究员。主要研究方向: 鼠类种群生态及生态系统功能

收稿日期: 1999-03-22; 修回日期: 1999-08-23

防治新技术与新策略。国际上最近出现的免疫不育 (Immuno-contraception) 控制技术就是顺应这一要求而出现, 有关详细情况已有不少介绍报道<sup>[1-4]</sup>。免疫不育是指利用基因重组等分子生物学技术制造使有害动物产生不育的疫苗。由于疫苗的抗原部分可以具有种的特异性, 因而不育疫苗具有极强的专一性。如果再能选择专一性强的病原微生物携带和传播, 那么, 不育疫苗对防治对象的专一性具有了“双保险”的特性。由于不育疫苗是蛋白质或核酸类物质, 因而对环境没有污染。从生态学上考虑, 不育个体还继续占有领域和配偶、消耗资源、保持社群压力, 因此不育控制还具有持续压低种群数量的潜力<sup>[5]</sup>。基于上述优点, 免疫不育控制技术已成为当前有害生物控制研究的一个新的热点领域。

1992年, 澳大利亚政府联合研究中心 (Cooperative Research Center, 简称CRC) 资助成立有害脊椎动物控制中心 (Vertebrate Pest Control, 简称VB-CRC)。VB-CRC有来自澳大利亚科学与工业组织 (CSIRO) 的野生动物与生态所 (Division of Wildlife and Ecology)、澳大利亚国立大学 (Australia National University) 和澳大利亚西部农业局 (Agriculture Western Australia), 土地利用与保护局 (Department of Conservation and Land Management) 的50名科学家及30名研究生组成。VB-CRC的主要任务是研制实用的、人道的、专一性的免疫不育疫苗和释放技术 (包括不育疫苗和重组微生物), 用于降低有害动物种群的生育率和数量, 减少入侵种对澳大利亚农业、牧业及生物多样性的破坏。1992~1999年间, CRC及参加单位向VB-CRC共同投资了5000多万澳元用于研究防治小家鼠、欧洲兔和红狐的不育疫苗。目前, VB-CRC已经成为世界公认的有害脊椎动物免疫不育控制研究方面的一个中心\*。现将其最新进展简要介绍如下:

## 1 小家鼠

关于小家鼠的研究, 主要分成3个部分: 研制疫苗、释放技术、生态模拟和风险评估。

### 1.1 重组不育疫苗

目前, 已研制成功2种有苗头的小家鼠基因重组病毒疫苗, 即 $ZP_3 - rMCMV$ 和 $ZP_3 - ECTV$  ( $ZP$ 代表卵透明带,  $ECTV$ 代表畸脚病毒 Ectromelia Virus,  $MCMV$ 代表细胞肥大病毒 Murine Cytomegalovirus)。室内实验证实,  $ZP_3 - rMCMV$ 重组病毒可使小家鼠产生 $ZP_3$ 抗体。感染 $ZP_3 - rMCMV$ 重组病毒50d后的小家鼠的生育力已显著降低, 有的品系的不育率达100%, 但有的品系的不育率仅达40%~50%。品系间变异的原因正在进一步的研究。感染 $ZP_3 - ECTV$ 重组病毒35周后, 小家鼠的胎仔数降低至0.7, 而畸脚病毒和空白对照组的胎仔数分别为2.7和3.4。

### 1.2 专一性疫苗

研究人员通过查寻基因文库在寻找专一性的抗生育基因片段。目前已找到2种有苗头的基因片段 (12~25个氨基酸), 以此为基础而形成的疫苗能显著地降低小家鼠的胎仔数 (降低约70%左右)。

\* Vertebrate Biocontrol CRC. Annual report 1997~1998. Cooperative Research centre for Biological control of Vertebrate Pest Population. Canberra, Australia, 1998, 1~82.

### 1.3 细胞肥大病毒流行病学

有关细胞肥大病毒对野外小家鼠的感染实验表明,细胞肥大病毒的流行与小家鼠密度水平相关。在小家鼠种群大发生年,细胞肥大病毒血清阳性率高达80%左右,而在普通情况下仅为10%。由于细胞肥大病毒的流行依赖于小家鼠个体之间的接触,了解小家鼠的活动范围及空间重叠是有必要的。通过遥测跟踪188只小家鼠的活动,求得小家鼠的巢域在0.0002至8.024  $\text{hm}^2$ 之间。异性个体之间巢域重叠较大,但同性个体之间巢域重叠性变化较大。

### 1.4 不育水平及生态学

这部分的工作主要是评估病毒性或毒饵性的不育疫苗在降低小家鼠种群生育率及密度水平上的效果,包括两部分:理论模型和实验模拟研究。理论模型研究基于16年来在维多利亚州的一个干旱农业定位研究站(Mallee Research Station, Victorian Institute for Dry Land Agriculture)系统收集的小家鼠种群变动资料,分析不同的不育控制水平下小家鼠种群的恢复情况。实验模拟研究主要在围栏内进行。采用手术方法“模拟”不育。不育处理组再分成两组:第一组仅使67%的初始雌性个体和第一代雌性个体绝育,第二组使67%的初始雌性个体及所有代雌性个体绝育。对照组及不育处理一、二组均设两个重复。实验为期8.5个月。实验表明,不育处理一组的平均雌性不育率由最初的67%下降至26%,这是由于新生个体不断补充所造成的,种群数量与对照组相比只减少了14%。不育处理二组的平均雌性不育率一直保持在67%左右,而种群数量与对照组相比减少了50%。这说明,病毒性不育疫苗要比毒饵性不育疫苗有更大的作用,同时,本研究对今后确定投放不育疫苗的力度提供了依据。

## 2 欧州兔

### 2.1 抗原筛选和表达

目前已找到能使雌兔产生不育抗体的抗原ZPB。经ZPB免疫后的雌兔的抗体水平显著上升。但当将抗原ZPB基因插入粘液瘤病毒(Myxoma Virus, MV)后,抗体表达水平却下降至25%。

### 2.2 专一性

研究发现,南美的粘液瘤病毒比美国加州的毒株具有更强的专一性。目前主要在考虑使用加州的毒株。

### 2.3 流行病学

模型研究表明,野兔感染粘液瘤病毒后经常发生地区性灭绝,从而有可能阻止不育重组病毒的进一步传播及在宿主种群中保存。根据生态学和流行病性学原理,筛选适度感染力的毒株是必要的。

### 2.4 不育水平

1992~1996年间,在澳大利亚西部农区和东部牧区分别完成了两项大型的田间实验。实验均设两个重复。研究发现,采用手术不育使80%的雌性野兔绝育后,种群下降至20~40只  $\text{km}^2$ ,而对照组种群数量一直维持在20~140只  $\text{km}^2$ 。不育雌兔出现补偿现象,主要表现为寿命延长。

### 2.5 兔杯状病毒(Rabbit Calicivirus Disease, RCD)和粘液瘤病毒的交互作用

兔杆状病毒和粘液瘤病毒同时存在野兔种群中。兔杆状病毒主要在春季起作用,而粘液瘤病毒主要在秋季起作用。幼体对粘液瘤病毒比较敏感,而成体对兔杆状病毒比较敏感。了解二者是如何交替感染野兔种群,对最终确定不育疫苗的载体是十分必要的。

### 3 红狐

#### 3.1 防治红狐所产生的生态后果

本部分研究主要用于了解防治红狐对当地稀有、濒危物种的影响。实验分为2个部分。第1部分是在澳大利亚西部选取544 000 hm<sup>2</sup>的实验区,采用氟乙酰胺1 080毒杀红狐,每平方公里投放毒饵5.6块(每块含4.5 mg的氟乙酰胺1080),每年投放2~4次。另选103 500 hm<sup>2</sup>的对照区,定期调查红狐的数量及动植物群落变化。毛尾袋鼠(*Bettongia penicillata*)被分别移入实验区和对照区,采用无线电遥测法观察其数量变化及存活动态。研究结果表明,每年投毒4次,红狐的数量可降低到足以保证使毛尾袋鼠正常生存。但在森林和农田交错区,投毒的次数需增加至6次。第2部分是在东部研究捕食和被捕食者之间的关系,目的仍是确定合适的防治水平以更有利的保护土著种。研究发现,兔种群由于兔杆状病毒大流行崩溃后,增大了红狐对负鼠的捕食压力。红狐数量的减少,增加了野猫对负鼠的捕食压力。由此提示,对有害动物的控制不只涉及一个对象,而且还涉及到若干有关的竞争者、捕食者和被捕食者等。

#### 3.2 确定合适的不育水平

在东部的研究表明,不育和正常个体在生存力上没有差异。在西部的研究中发现,红狐种群毒杀后胎数(*corpora lutea*)从4.7增加到7.2( $P < 0.01$ )。模型研究表明,不育能有效控制红狐的数量,但在很大程度上受外部环境如降水等因素的影响。

#### 3.3 不育抗原

目前研究发现fZP<sub>3</sub>, fZP<sub>2</sub>或PZP对红狐均不能产生不育抗体,但将其插入兔杆状病毒后表达时,发现fZP<sub>3</sub>能有效地使雌狐不育。

#### 3.4 不育疫苗载体

目前正在研究使用沙门杆菌(*Salmonella* spp.)携带狐的不育基因。

与90年代初相比,有关免疫不育技术的研究已有很大进展,主要体现在重组病毒性不育疫苗(如小家鼠的ZP<sub>3</sub>-rMCMV和ZP<sub>3</sub>-ECTV)已接近实用化,下一步就是进行生态风险评估和大田释放实验。有关不育控制的生态学理论研究(如不育水平、补偿力等)也有了很大的进展<sup>[4,6,7]</sup>,这为后面的生态风险评估和大田释放实验工作奠定了基础。相比之下,非病毒或细菌性的,口服性的毒饵疫苗的研制尚无大的突破,但这仍然是研究的重点。与非病毒或细菌性的疫苗不同,毒饵疫苗不是活的遗传修饰生物(Genetic Modified Organism, GMO),不存在无法预料的生态安全问题,一旦有所突破,比较容易进入市场。有关毒饵疫苗研制的难题在于如何保护蛋白性或核酸类的不育疫苗在经过消化道时免于破坏,并一次性使动物产生足够的抗体。

从近几年国外专利申请的情况看,有关有害脊椎动物免疫不育控制方面的专利申请呈明显上升趋势,这也说明免疫不育将具有广阔的市场潜力。由于种的特有性,克隆并注册重要有害动物的关键不育基因必将成为世界各国的争夺热点之一。如何尽快寻找我国重要有害生物的不育基因已显得十分必要,其重要性如同抢救和保护我国在医学、农

业等方面有重要价值的基因资源一样。目前,我国有关单位已着手开展这方面的研究,并正在与澳大利亚开展该方面的合作研究。

致谢:感谢澳大利亚 CSIRO 野生动物与生态所的 Grant Singleton 博士、Lyn Hinds 博士和 Roger Pech 博士等对本人的访问给予热情友好的接待,并提供有关材料。中国科学院教育局国际合作处提供大部分访问费用。

### 参 考 文 献

- [1] 张知彬. 免疫不育在动物数量控制上的应用前景 [J]. 医学动物防制, 1995, 11 (2): 194~197.
- [2] 张知彬. 鼠类不育控制的技术与策略 [A]. 见: 王祖望, 张知彬主编. 害鼠治理的理论与实践 [C]. 北京: 科学出版社, 1996. 367~378.
- [3] Kreeger T J. Contraception in Wildlife Management [R]. USDA APHIS Technical Bulletin No. 1853. 1~272.
- [4] 张知彬, 段崇文. 农业有害动物的免疫不育控制 [A]. 见: 中国科学技术协会编. 生命科学与生物技术 1992. [C]. 北京: 中国科学技术出版社, 1998. 188~191.
- [5] 张知彬. 鼠类不育控制的生态学基础 [J]. 兽类学报, 1995, 15 (6): 229~234.
- [6] Caughley G, Pech R, Grice D. Effect of fertility control on a population's productivity [J]. *Wildlife Research*, 1992, 19: 623~627.
- [7] Pech R, Hood G M, McIlroy J, Saunders G. Can foxes be controlled by reducing their fertility? [J]. *Reproductive Fertility Development*, 1997, 9: 41~50.

## ADVANCE OF IMMUNO-CONTRACEPTION IN VERTEBRATE PEST MANAGEMENT IN AUSTRALIA

ZHANG Zhibin

(National Key Laboratory of Integrated Pest Management in Agriculture,  
Institute of Zoology, the Chinese Academy of Sciences, Beijing, 100080)

**Abstract:** House mice, European rabbit and red fox are the three major vertebrate pests in Australia. From 1992 to 1999, Australia Cooperative Research Center sponsored 50 million Australia Dollars for developing immuno-contraceptives for managing these three pests. In contrast with the research in 1990's, much advance have been achieved by this program, e.g. the recombinant immuno-contraceptive virus vaccine (rMCMV-ZP<sub>3</sub> and ECTV-ZP<sub>3</sub>) for controlling house mice. Much progress have been also made in ecological aspects on the fertility control which is essential for assessing ecological risk and field release of vaccines. However, no breakthrough has been made in developing oral and non-GMOs vaccines. The oral delivery system is still the active research area for the immuno-contraception control.

**Key words:** Vertebrate pest; Immuno-contraception; Fertility control; Australia