

# 开发农用 生物制剂

禾大 2023年5月

生物制剂是替代化学农药的可持续产品，但如何面对生物制剂带来的诸多挑战呢？



incotec

the seed enhancement company

CRODA

# 目录

引言 - 机遇	3
我们所说的生物制剂是指什么？	4
为什么开发生物制剂很难？	5
生物制剂产品面临的挑战	6
种子	7
叶片	8
RNAi	9
测试验证新型生物产品	12
结论：成功配制制剂	14
禾大如何提供帮助	15

## 特此鸣谢以下人士对本报告的支持

- Rosa Dominguez-Espinosa, 先正达公司首席生物科学家
- Carlos Eduardo Oliveira da Silva, 盈可泰首席研究员
- Carola Peters, 盈可泰首席研究员
- Gregory Lindner, 禾大研究与技术总监
- Andy Fowles, 禾大研究和专家
- Marcia Werner, 盈可泰研究和专家

## 引言 - 机遇

**目前化学产品仍广泛用于农业生产，但向更可持续产品的转变已成为明显趋势 - 其中之一就是向生物制剂产品的转变。**

其转变原因显而易见- 长期以来，用化学方法制备农药和解决土壤富集问题，都是以环境作为代价。环境法和消费者需求所带来的压力提高了使用化学产品的成本。欧盟委员会的目标是，到2030年，减少50%的化学农药和有害农药，而且对于某些作物来说，可用的化学产品非常有限。

因此，种植户们在寻找替代产品。为了满足这一需求，农化产品企业正在积极探索新的方法，对其现有的产品组合进行环境成本效益分析，并考虑绿色的替代策略。农化产品企业、初创企业和学术界也在广泛探索将生物制剂作为一些化学制剂的替代品，同时制定各种作物和害虫管理策略。

这有来自合理的长期经济和监管的原因，但也有道德上的要求。许多农业和化学品企业都制定了可持续发展的目标(包括禾大)- 承诺关心人类健康、生态系统和环境。如果我们不提倡使用化学产品的替代品，就无法实现这些目标。

生物制剂是含有生物(非化学)有效成分的产品，产品范围广泛，包括从天然提取物、微生物到多肽和蛋白

质，当这些有益成分被正确地传递到靶标，能从刺激植物生长到杀死害虫等各个方面改变植物生态系统。

与传统农药的施用方式不同，这些生物产品需要传递活的生命体或复杂大分子。新方法改变了配制制剂的游戏规则。这些活性物质-比化学有效成分更复杂-不仅需要正确的时间包装和使用，还需要在准备施用前保持活力，最大程度保持活性。

这些产品是天然物质，而非来自实验室的人工设计。所以能够将它们调整成适应农业需求的产品是一项重大挑战，不过，这也正是促使化学品行业开展创新的良机。我们期望最终能创造出更好的产品，实现农业更可持续发展。

在本文中，我们将讨论开发和使用时生物制剂面临的挑战，并希望，能够(1)为那些已发现生物活性物质并正在考虑将其转化为商业化产品的企业和学者提供指导。(2)帮助整个农业价值链上的企业-包括那些乐于合作的企业-了解这一过程和挑战，并向其供应商提出要求，以确保企业开发出长期稳定且有效的生物制剂产品。



## 我们所说的生物制剂是指什么？

生物制剂所指的范围很广。本文中讨论的是微生物(如真菌、细菌)或大分子(如多肽、蛋白质、RNA)，这些成分可以用于开发作物保护产品，并在农业场景中发挥有利作用。

### 生物制剂包括:



#### 生物肥料:

应用于种子、植物或土壤的微生物或分子的制剂，可使植物更易获得养分，从而促进植物生长。



#### 生物刺激素:

改善植物的应激反应、提高产量和/或质量的微生物或分子。



#### 生物农药和生物控制剂:

杀死或削弱害虫的(微)生物体或大分子。

微生物虽然仍是一个相对较新的领域，但却是比较成熟的市场，我们可以从中分享许多应对制剂配方挑战的实践经验，这些经验也是我们讨论的主要内容。将大分子用于商业化农产品生产，仍处于早期阶段，但我们将针对整个研发过程中可能遇到的难题展开探讨，并在最后章节讨论RNA干扰技术面临的具体挑战。

为了表述清晰，本文中主要探讨的是需要配制的生物成分，不探讨益虫的使用问题，益虫有时也被称作生物农药。

## 为什么开发成功的生物制剂有难度？

一些生物制剂的功能与当前的化学制剂相似，施用方式也很类似。而有些产品的方式则截然不同。无论哪种方式，都需要将有效生物成分加工成稳定的配方，应用到种子或作物上。整个过程中，需要小心将助剂与活性物质结合起来，可能需要的助剂包括：

- 增稠剂，创造良好的结构，避免相分离
- 分散剂，使生物有效成分均匀分散在制剂中
- 乳化剂，确保制剂中的油相在稀释时能均匀地分散到水相中
- 润湿剂，有助于粉状生物颗粒入水润湿，和在靶标表面的铺展
- 保护剂，如紫外线稳定剂，可减少生物降解

用化学有效成分开发配方已经是一个成熟和完善的系统，而用生物成分配制制剂却充满挑战，其中最主要的挑战来自保持生物成分的活性(如微生物)或避免生物成分分解(如大分子)，例如被田间天然的酶分解。

这些都是技术上遇到的难题，本质上也是复杂问题。生产过程中使用的刺激性化学物质或制剂中的其他组分，可能会伤害生物成分。在此过程中，生物制剂还可能被过量的水、高温或紫外线破坏。

虽然一种化学有效成分可能在任何地方都有一致的表现，

但生物的效力可能会受到环境条件、土壤类型、天然微生物种群，甚至其生长方式(例如，在充足食物和光照下生长、可最大限度提高产量的真菌，可能不如在恶劣条件下生长的真菌具有生物活性)等因素的影响。因此，不同的环境条件需要不同的生物制剂和不同的保护制剂。

这种复杂的相互作用和生存挑战会造成制剂的性能不稳定，如果不通过优良的配方、测试数据和明确的标签来解决这一问题，势必挫败种植户的信心。





# 生物制剂 面临的挑战

本文讨论的重点是配方开发与应用。

创造新的生物有效成分本身是一个不同且复杂的课题。在本文中，我们提出的问题是：“一旦确定将某一有效成分用于靶向目标上，您如何将其开发成配方，并能够在储存和运输过程中保持稳定？”

为了说明过程中面临的挑战及其解决方案，我们将针对在种子处理和叶片应用中微生物制剂带来的挑战进行研究，然后对开发新型RNAi产品面临的具体挑战展开讨论，这也是大分子研究中最令人兴奋的领域之一。

## 种子

微生物可以作为种子增强剂，在播种时对种子产生有利影响。

在北欧，农业生产通常始于10月，这就要求种植户们在4/5月播种，因此，生物制剂通常需要保持6个月的生命力，最好保持18个月。这样，未售出的种子在下一季仍能保持活力（其他地区虽然开始播种时间不同，但进度类似）。如果寿命较短的微生物具有特殊优点，且从工厂快速运至农场的额外成本合理，那么生物制剂的活力保存期也可相应缩短。

种子处理制剂通常将活性生物制剂和辅助制剂成分整合到液体包衣中，并粘附在种子上。这种制剂的设计是为了确保活性微生物在使用之前保持活性，一旦被激活就能保持效力。

首先，配制时不能杀死微生物。许多常见的成分可能对生物体具有毒性，因此需要仔细选择和测试用于制剂中的组分。

将制剂应用于种子上时，微生物应是非活性的，且在播种前保持休眠，这意味着要在适宜种子和微生物生长的条件下储存处理过的种子。

保持微生物干燥和安全，这样就可以借助包裹微生物的薄

膜，将其涂抹在种子上。到达农场时，释放微生物，开始生长。

大多数种子采用薄膜包衣处理，这是一种工业上广泛使用的成熟工艺，也是规模化处理种子的最具成本效益的方式，且很容易运用在现有的基础设施上，因此，应尽可能首选这种方式。

但如果微生物太大，或者种子储存在非干燥条件下，就不适合使用薄膜，而选择其他方法可能会更好，比如丸粒或结壳。这种方法是将成分加入到更厚的涂层中，起到更好的保护作用，使种子免受外部因素的影响，或将相互干扰的成分隔开。

还有一些处于研究阶段的新技术，如生物膜，即微生物在某些条件下产生生物膜-保护层。我们也许能够在配制过程中刺激产生这种效果。

每种微生物适用的制剂也各不相同，具体取决于微生物的参数，种子特性，施用方法，以及需要起到怎样的防护作用。我们应该从对微生物最有利的方面入手，但同时须考虑到，要改变行业做法并非易事。





## 叶片

**微生物叶面产品面临着与种子相似的问题，只是在配方挑战上略有不同。**

这类产品必须配制成能够停留在叶面上的喷雾剂，从而减少受风、雨和阳光影响造成的流失。这就需要制剂能够促进叶片快速吸收，并提供保护措施(如紫外线防护)。因此，开发配方时，需要列出能满足所有这些需求且对生物活性物质没有毒性的成分清单，无论是单独使用还是混合使用都应如此。

最终产品的形态是液体喷雾，这意味着我们不能像对待种子那样，选择厚厚的保护层来安全地包裹微生物，以免受水分和其他有害因素的影响。不过可以将许多微生物配制可溶性粉剂，并且真空密封，创造一个安全、干燥的环境，使微生物在需要溶解前相对容易地保持非活性状态。

与种子处理剂一样，这些产品也需要储存6个月以上，因此，除了可能需要冷藏的特定产品外 - 大多数微生物必须考虑其在环境温度下的生存能力。



“

配制制剂时，需要列出能满足所有这些需求、且对生物活性物质没有毒性的成分清单

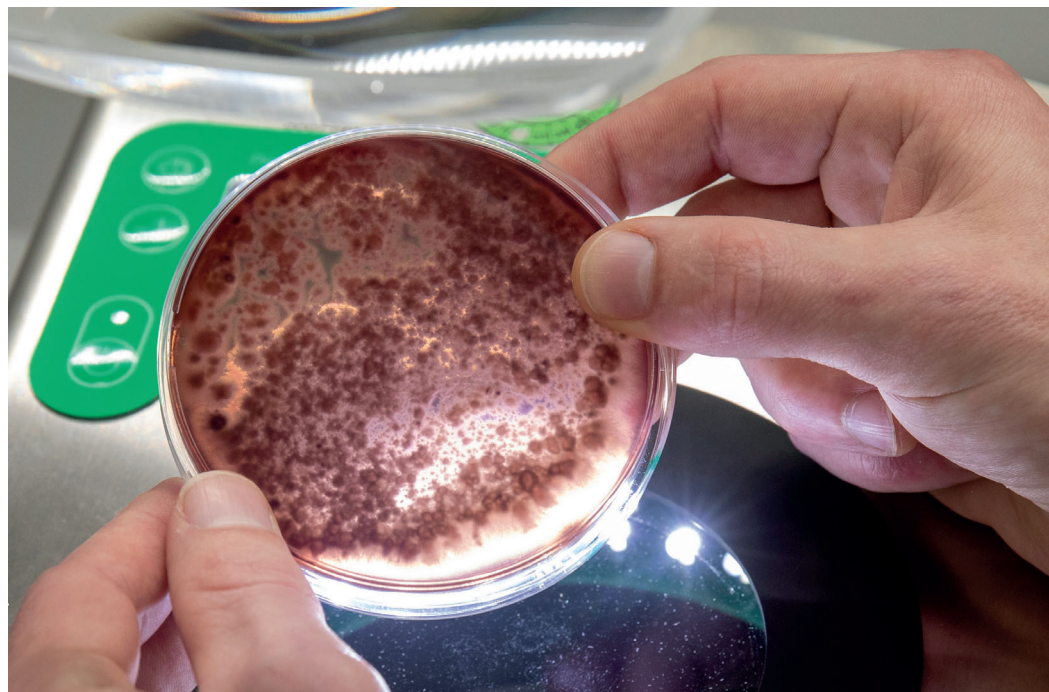
## RNAi

**RNA干扰(RNAi)技术是大分子生物制剂的重大颠覆性创新。该技术是将RNA送入植物或昆虫细胞中，利用自然过程使基因沉默，而不改变植物的遗传特征，被称为“SIGS”或喷雾诱导基因沉默。例如，沉默表达抗除草剂的植物基因，或破坏产生害虫生存所需的蛋白质。**

这样做的好处是，只针对单一细胞高度定制，并不影响环境中的其他作物和生物，不像一些化学农药可能造成连带损害。

这是一项新型技术，目前尚无商业解决方案。较为理想的RNAi产品仍处于研发阶段，但到目前为止，基于RNAi的活性物质是“裸露的”--在实验室的表现没有问题，但在实际环境中表现不稳定，而且很难达到目标的关键性要求。

随着这些技术的发展，要使其行之有效，需要把它们配制可以在农业环境中使用的产品。挑战主要来自三个方面：(1)将RNAi输送至相关细胞中；(2)在施用和吸收之间保持完整和施用到位(如在叶面上)；(3)使用前，在储存期间保持稳定(避免微生物降解)。



挑战

1

将RNAi输送至细胞中



喷洒制剂后，RNA需要穿过叶片表层、细胞壁和细胞膜来完成其工作，即，渗入植物体内，或进入在叶片上的昆虫体内。

学术文献中的证据表明，我们可以做到使RNA进入植物细胞中，但目前尚无商业化的农业产品。新冠mRNA疫苗使用了纳米脂质体(LNP)，这种微小的脂肪球可以包裹RNA链并将其安全送入细胞。聚乙烯多聚物是另一种潜在的途径。

这些是制药业中相对成熟的技术，但价格昂贵。然而，农业没有像制药业那样的纯度要求，开发过程也会因此具有一定的灵活性，我们可以借鉴医药行业的研究成果，也可以尝试使用递送机制的低成本方案。

挑战

2

田间应用



为了对农作物具有实用性，我们主要研究的是将其配制成喷雾剂。

这就要求RNA长时间粘附在叶片上才能达到效果(例如被昆虫吃掉)。更加重要的一点 - 许多喷雾剂会有高达30%流失到土壤中，而对于一项昂贵的技术来说，应该避免这种情况。此外，应保护药液不受紫外线以及植物和自然生态系统中的酶的影响(这两种都是造成RNA降解的因素)。

对RNA的保护比转染更容易实现。可以将现有的叶面防雨牢度和紫外线稳定技术引入配制制剂中。但这些需要经过认真考量和测试，以确保引入的物质本身不会对RNA产生不应有的影响。

挑战

3

储存



我们都听说过复杂的疫苗冷链，需要在非常低的温度下保存mRNA疫苗，而储存农产品需要一年或更长时间，这种方法显然不太实用。

庆幸的是，农业生产具有更大的灵活性，我们可以添加稳定剂和保护剂。还可以通过改变分子(例如增加RNA有效载荷中的碱基对数量)，来延长降解时间。除此之外，通过就近生产加工可能更能发挥这些技术的作用。

RNAi是一项前沿技术，解决方案仍在探索之中，目前尚未寻找到现成的答案，仍需对如何将RNA开发成商业化的产品进行探索和研究。目前，我们的目标是验证传输系统，但最终需降低原材料的成本，以实现大规模生产。禾大热衷于加入如何实现这一目标的行业对话。



## 测试验证新型生物制剂

在开发配方时，经验可以起到指导作用。但由于生物制剂比较复杂，很难确定结合使用多种成分的效果。因此，一切都需要经过测试。

首先，需要对制剂中的每一种组分进行单独测试，评估其生物兼容性-即，每种成分如何影响生物活性，以及在何种浓度下可能会成为有毒物质。

测试包括查看助剂的纯度-低纯度可能意味着存在有害的残留物，因此提高助剂纯度可以减少危害或增加有效成分的配方浓度。高纯度助剂有时可以加倍提高微生物存活率。

高纯度助剂有时可  
以加倍提高微生物  
存活率。

然后我们需要在制剂中一起测试所有成分。有些成分单独使用时没有问题，但几种成分结合使用时，会对微生物的存活率产生负面影响。如果我们对所有成分分别进行严格的测试，就可以高度肯定混合后不会造成有害影响，但仍不能100%确定，所以我们还需对最终制剂进行测试。

对于微生物产品，我们在一段时间内，模拟真实环境条件进行三种测试(RNAi和其他大分子生物的具体测试方法将在未来有所发展，但这些测试的重点是设计输送系统，所以这里不再赘述)。

### 1. 菌落形成单位法:

这是一种用于细菌和真菌的常用技术，用来测量生长在平板上的菌落，以确定具有活性的微生物数量。

### 2. 分生孢子萌发法:

用于测量真菌的生长情况，并作为其生存能力的指标。一段时间后，确定有活性的分生孢子(孢子)的百分比-表明有活性的细胞数量足以增殖和形成小菌落。

### 3. 测试分生孢子的活性:

衡量真菌微生物萌发的速度。通过处理光学显微镜获得的图像，来确定分生孢子随时间的活性变化情况。这是对上述测试的一个重要补充，因为有些成分不会杀死微生物，但会减慢微生物的生长速度，进而影响在田间应用的性能。这是由禾大开发并获得专利的一种新型测试方法。

这些试验通常在180天内完成(但也可能需要数年)，来获取数据并为配方的长期表现提供指导。这些测试旨在确认微生物的存活情况，了解存活所需的条件，以便使产品从中获益，从而总结储存和应用方法。

这种早期测试可以提供一个非常有力的指示，能够说明产品的稳定性、保质期、最佳储存和种植条件。种子和作物企业需要有自己的工厂、温室和田间条件下测试这些制剂，从而最终确定其应用效果，测试包括评估产品的效力(成功控制害虫，促进生长等)。

“

有些成分单独使用时没有问题，但几种成分结合使用时，会对微生物的存活率产生负面影响。

## 结论:成功开发生物制剂

以上讨论的所有案例中,我们谈论的是将生物制剂-具有不同的复杂性和脆弱性-整合到一个产品中,该产品将在不受控制的条件下在货架上放置数月,然后在更复杂的现实生态系统中使用。

将生物制剂开发成能够克服这些挑战的产品,对于确保最终用户-种植户-获得物有所值的产品,并反哺这一可持续发展的技术,至关重要。

要做到这一点,意味着要全方位探索配方技术,设立具有不同性质的可生物降解化学品库,寻找最佳解决方案,在某些情况下(特别是对于RNAi),探索新的传递系统。

利用配方方面的专业知识,将这些技术组合在一起,以保护和加强生物制剂性能,使其免受环境伤害,同时满足可持续、可大规模生产和成本效益的需求。

对制剂进行严格测试,确保在各种应用条件下发挥预期作用。

本文对开发生物制剂时需要思考的挑战提出了看法。有些可以通过已有的技术和知识来解决,有些则是全新的挑战,需要结合广泛的专业知识来解决。

无论面对什么样的挑战,我们都欢迎行业对话,共同解决这些难题。



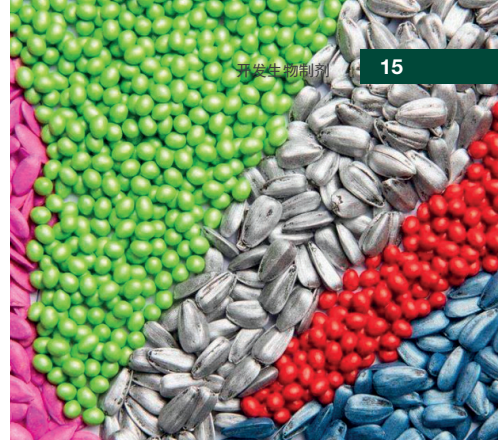
## 禾大如何提供帮助

禾大诚邀业界和学术界开展讨论和合作,探索将生物制剂商业化,解决制造过程中面临的难题。

对于这一领域的许多常见问题,禾大都会给出思路。在开发生物和化学产品,并将其应用到农业环境等方面,禾大有着深刻的理解。我们拥有庞大的特种化学品库,为新产品开发设计可持续的配方和传输系统。

我们拥有先进的测试设备,可以了解制剂如何影响生物活性物质,并确定最佳的储存和使用方法,从而最大限度地提高货架期和药效。

这是一个不断发展的领域,我们也在持续进步,不断输入新的知识和能力。对那些正在开发生物制剂,开发制剂解决方案的人们,我们愿意倾听您的心声,让我们团结起来,携手应对生物制剂开发面临的挑战。



“

在开发生物和化学产品、并将其应用到农业环境等方面,禾大有着深刻的理解





