

蚊虫幼虫生物防治研究进展

张光学 王静 于爱莲 张忠

蚊虫是重要的病媒生物,是登革热、疟疾、乙型脑炎等多种疾病的传播媒介。由于其传播疾病和骚扰吸血的原因,严重危害人类健康,蚊虫的防治一直受到人们重视。目前,人类一般用杀虫剂和驱避剂对其进行防治。但是随着人们对生存环境质量的要求越来越高,高毒、高残留、易产生抗性、易污染环境的化学杀虫剂正逐渐被淘汰,蚊虫生物防治开始越来越受到人们的重视。现在公认的生物防治的定义是:直接或间接地使用天敌或天敌的代谢产物,以防治包括人类疾病媒介在内的有害生物。蚊虫的生物防治,是通过增加蚊虫天敌的数量或种类,打破自然界的相对平衡,从而抑制蚊虫种群的增长,将蚊虫的幼虫和成虫数量控制在较低的数量,使之不致于传播疾病和骚扰人类。主要包括捕食性天敌(如食蚊鱼、中剑水蚤、捕食性蚊等),病原体(细菌、真菌、线虫),转基因工程蓝藻^[1]。

近年在蚊幼虫的生物防治方法上有了新的进展^[2],蚊虫生物防治作用物主要包括病原微生物、食蚊水生生物和基因工程蓝藻等,本文就蚊幼虫生物防治的进展情况作一综述。

一、病原微生物灭蚊

1. 细菌制剂灭蚊:病原细菌对蚊虫生物防治最令人瞩目,其中,发展最快研究最深入的是苏云金杆菌以色列变种(Bti)和球形芽胞杆菌(Bs),均用于孳生水体的多种蚊幼虫的防治^[3]。病原细菌制剂对蚊幼虫的杀灭作用如同化学杀虫剂,利用细菌所产生的活性成分,经人工修饰工厂化生产加工而成,又称为生物杀虫剂。其作用机制是利用蚊幼虫取食 Bti 和 Bs 产生的伴胞晶体毒素来发挥杀蚊作用。现已有商业化产品并有多种剂型,常用的有细菌原液、可湿性粉剂、乳化剂、漂浮颗粒剂、块剂和发泡剂。国外已研究出各种漂浮颗粒型,如 Vectobac 系列,有较好持效^[4]。我国已研究出漂浮缓释型,用于现场防治蚊幼虫^[5]。(1)苏云金杆菌(Bti)是一群重要的兼型病原细菌。可分为 40 个血清种和 54 个血清型亚种,对蚊幼虫有毒效的菌株有 3 种,血清型为 H-14(以色列亚种)、PG-14(摩氏变种)和 73-E10-2(达姆施塔特变种),应用最广的是苏云金杆菌以色列亚种。BtiH-14 由 Goldbery(1972)和 Margalit(1977)在以色列分离出。Bti 杀虫蛋白由两种组分形成:Cry 家族和 Cyt 家族。本品内毒素分子量在 65~67 kD 之间,可耐受 80℃ 高温,在 19℃~33℃ 的范围内,幼虫病死率不受温度的影响,但在 19℃ 以下或 33℃ 以上,与水温呈正相关。游离氯能抑制或破坏内毒素,冷冻干燥和紫外线照

基金项目:泰安市大学生科研引导计划(2006D1087)

作者单位:271000 泰安市,泰山医学院基础医学部病原学教研室

通讯作者:张光学 Email: zh. tsmc@ yahoo. com. cn

射,可使存活芽孢数减少至0.1%。该菌对幼虫有较高的专一性,在宿主肠道内,原毒素在高pH值和适合的酶的作用下,很快转变为较小的有毒亚单位,蚊幼虫吞入晶体后,引起中肠细胞破裂而死亡。世界各地对Bti进行了系统的研究,几项现场研究充分肯定了Bti的生物防治作用^[6]。刘相萍等将苏云金杆菌cryIVD基因在大肠埃希菌中进行表达^[7]。我国20世纪70年代开始对以色列亚种进行中试生产,生产的"孑孓灵"在野外污水池、稻田以浓度1~3 mg/L应用,24 h杀灭库蚊,对伊蚊幼虫防效达90%以上,对按蚊也有良好效果。血清型H-14对我国埃及伊蚊、白纹伊蚊等幼虫的毒效已有详细测定,分别为103.5~150.0 ITU/L和57.0~112.5 ITU/L,因蚊虫种类而异。目前该制剂年产数百万吨,主要用以杀灭容器积水中的伊蚊幼虫,特别是饮水水缸中的埃及伊蚊幼虫^[8]。我国南北方有较大面积的应用,施药1~2 d后蚊幼虫密度下降,有效率约为92.5%~99.25%。20世纪90年代国内就研制了如Bti-187漂浮颗粒剂防治中华按蚊,持效可达16 d;对致倦库蚊持效可达23 d;块剂在水缸中防治埃及伊蚊,持效可达38 d;Bs(C3-41)块剂对致倦库蚊的持效可达3个月^[9]。美国等多个国家研制的产品已经应用于实际^[10]。但目前生产应用的Bti菌仍存在杀虫范围窄、有效成分(无残效)易降解、易受环境因素影响等缺点;(2)球形芽孢杆菌(Bs):1965年Kellen首次分离到对蚊幼虫有毒力的球形芽孢杆菌,其属于芽孢杆菌科芽孢杆菌属球形芽孢杆菌种(简称Bs),是一种普通的革兰阳性菌。目前为止,国内外分离的Bs有毒株约100株,各菌株对蚊幼虫的毒力不同。根据毒效大小,可将菌株分为3组:①弱毒或可能在寄生物上增殖的菌株;②芽胞弱毒,致死快,具有良好的杀虫活性的菌株;③芽胞毒力强致死快的高毒株,如2362株。在常用Bs菌株中,2362菌株毒力较高。我国也相继分离筛选出BsC-10、BsC3-41等高毒球形芽孢杆菌菌株^[11]。球形芽孢杆菌杀虫毒素是二元毒素蛋白质,主要位于芽胞和细胞壁,有些位于伴孢晶体,菌株产生分子量为51.4 kD和41.9 kD的两种毒素原蛋白,当被蚊幼虫吞食时,毒素蛋白在蚊幼虫肠道中活化而成为毒素,并发挥作用使幼虫死亡。

球形芽孢杆菌有毒菌株的杀虫谱较窄,但对库蚊幼虫有很好的防治效果,对大劣按蚊和中华按蚊幼虫也有较高的毒力,对骚扰阿蚊亦有良好效果,而对白纹伊蚊和埃及伊蚊效果很差,对伊蚊幼虫的毒力不及苏云金杆菌。在污水中有较长持效期,适用于防治污水中的淡色库蚊和致倦库蚊。经巴斯德研究所等单位对我国分离的BsC3-41和WHO推荐的标准高毒株(2363)进行评比实验,结果BsC3-41的毒力是2362的3.5倍,认为是最有潜力的菌株,BsC3-41和BsC3-10已工业化生产,并在我国应用且取得良好的防治效果。通过以BsC3-41杀蚊幼制剂对致乏库蚊的毒杀效果最好,对中华按蚊次之,对白纹伊蚊的效果较差。野外水体灭蚊使用3 ml/m²的浓度防治淡色库蚊,有效率可达98.88%~100.00%,使用10 ml/m²的浓度防治中华按蚊有效率可达96.81%~100.00%,使用200 ml/m²的浓度防治白纹伊蚊有效率也可达90.64%以上^[12]。非洲现场实验证明应用Bs一

般可以有效控制蚊幼虫 1~2 周^[13]; (3) 细菌制剂复合型: 各种生物和物理因素可显著影响两种细菌制剂的蚊虫防治效果, 如幼虫密度、水 pH 值、阳光照射、水质污染程度、水流速度、株力强弱, 蚊幼虫龄期大小、取食方式和中肠细胞的敏感性有关。不同的剂型效果也不相同, 物理因素影响 Bs 的效果较为明显。球形芽胞杆菌和苏云金杆菌以色列亚种均用于灭蚊幼虫, 每种菌单独使用, 各有其长处和短处, 球形芽胞杆菌对库蚊效果好, 残效期长^[14], 但杀虫谱窄; 苏云金杆菌以色列亚种杀虫谱广, 但残效期短^[15]。为了弥补这两种菌单独使用的不足, 采用球形芽胞杆菌和苏云金杆菌以色列亚种两菌混合发酵工艺, 生产的双效微生物灭蚊幼虫制剂, 现场灭蚊效果较好。从室外实验分析持效原因, Bti 菌剂在后期(15 d)出现蚊虫生长, 分离细菌未发现有芽孢伴胞晶体, 而 Bs51(25 d)及复合型(35 d)后, 才出现蚊虫生长, 并且一直可以从死亡的蚊虫中分离到 Bs 菌株, 现场使用以复合型的速效和持效作用更好^[16]。徐勇等采用液浸法, 用苏云金杆菌(BTH-14)和球形芽胞杆菌(BS-10)混合液按不同浓度对不同龄期、不同种蚊幼虫进行敏感性测定, 结果表明蚊幼虫龄期越小, 对生物制剂越敏感, 相同浓度的生物制剂对龄期较小的幼虫有较强的杀灭率^[17]。双效微生物灭蚊幼虫制剂, 具有控制多种蚊幼虫的良好效果。球形芽胞杆菌和苏云金杆菌以色列亚种均为微生物杀虫剂, 对非靶生物、水生生物安全, 无毒无害, 不污染环境, 并有净化水质作用。球形芽胞杆菌和苏云金杆菌以色列亚种两菌混合发酵液两菌作用互补, 兼有球形芽胞杆菌和苏云金杆菌以色列亚种的优点, 增强了灭蚊幼虫的效果, 极具推广和应用价值。

2. 真菌类: 近几年真菌类灭蚊已经在世界上得到了广泛的应用^[18,19]。(1) 大链壶菌: 兼性寄生, 具无性和有性两个世代, 既可在水生环境腐生生长, 又可寄生于蚊幼虫体内, 正是利用后者, 大链壶菌可以成为生物防治的途径之一。该菌的寄生阶段由游动孢子附着在蚊幼虫体壁开始, 随后萌发产生芽管, 芽管末端释放水解酶, 并连同机械挤压作用穿透蚊幼虫体壁或咽壁, 而后生长成菌丝, 菌丝在血腔中生长而导致宿主在短期内死亡。感染大链壶菌后致蚊幼虫出现血淋巴细胞数量、分类及形态的变化, 该菌消耗其营养物质, 还对蚊幼虫组织造成破坏, 引起水解酶活性变化, 影响蚊幼虫体内蛋白质、氨基酸和微量元素的含量^[20], 同时大链壶菌感染引起蚊幼虫体内脂类含量减少, 而与脂类水解相关的酯酶和脂肪酶活性升高, 导致体内脂肪代谢紊乱, 最终幼虫的营养代谢和生理功能紊乱, 阻碍蚊幼虫的正常发育和生命活动^[21]。在蚊体内产生孢子囊, 最后排出游动孢子, 再营寄生生活。有性世代形成具有厚壁的卵孢子, 能抵抗不良环境的眠期甚至可以越冬。孢子应用于水体都可直接或间接使多种蚊幼虫感染。致倦库蚊和白纹伊蚊是大链壶菌的易感蚊种, 而中华按蚊不易被感染。大链壶菌感染初期对蚊幼虫的体重、龄期、病死率的影响不明显; 而被感染 24 h 和 48 h 后, 蚊幼虫体重、体长显著低于对照组, 龄期发育延滞, 病死率显著升高; 受感染的 4 龄蚊幼虫不能化蛹并最终全部死亡^[22]。不同分离菌株的宿主易感性不同, 同一菌株对不同蚊虫的感染性和毒力亦不同; (2) 雕蚀菌: 早在 1921 年 Keilin 首先在按蚊、库蚊、阿蚊等中

发现雕蚀菌感染。雕蚀菌又称体腔真菌,种类很多,在自然界中分布甚广,是蚊虫体内的寄生真菌,在按蚊体内含量最多,其次为伊蚊和库蚊。Jenkins 等(1964)报道,有 51 种蚊虫可作为 24 种雕蚀菌的宿主。在自然界,冈比亚按蚊幼虫的感染率可高达 90% 以上。观察印度雕蚀菌感染三带喙库蚊,其寄生于蚊虫的血腔,在自然条件下受感染的蚊虫肿胀,活动迟缓,对外界反应迟钝,不但影响蚊幼虫的发育与变态,致病死率可达 100%^[23]。汪政仪等对印度雕蚀菌在三带喙库蚊幼虫体内的发育进行了观察,表明 1 龄幼虫可被真菌所感染,菌体在蚊幼虫血腔内随虫体长大和变态而产生大量孢子囊,即完成其孢子增殖阶段,不再继续发育^[24];(3) 白僵菌、绿僵菌:白僵菌宿主范围很广,对按蚊和库蚊防治效果最好,对伊蚊无效^[11]。绿僵菌曾认为最有希望的杀蚊真菌。按蚊,伊蚊和库蚊三属的幼虫皆对该菌种非常敏感,生物测定中,它对斯氏按蚊、冈比亚按蚊等多种蚊虫的幼虫引起高度死亡。它不在体内生长,施用后不能引起循环感染,但该菌储存、运输的剂型尚需进一步研究,大规模应用仍有一定的难度。

3. 索线虫:近几年国内外对罗索线虫研究比较深入^[25]。罗索属线虫属索科线虫的一个属。该属线虫寄生期幼虫在蚊幼虫宿主体内寄生并发育,不仅摄食宿主的营养物质,而且严重破坏宿主的体壁,导致宿主幼虫死亡,是蚊幼虫的天敌,在自然界对稻田孳生的蚊幼虫种群,特别是中华按蚊和三带喙库蚊起着自然调节作用,也是一种有前途的生物防治剂。国外对该属的食蚊罗索虫的研究做了大量工作,已能大规模商品化生产^[26]。罗索线虫的生活史短,有 I ~ IV 期发育阶段, I 期幼虫孵出时在卵内脱膜成为 II 期幼虫,即寄生前期幼虫。水中作蛇形活动,找到宿主,钻入宿主体腔内,寄生生活,称为寄生期幼虫,即 III 期幼虫,吸取宿主的血淋巴,夺取营养物质使自己发育成长,虫体增大。一般线虫幼虫寄生在蚊幼虫的胸部,每条蚊幼虫寄生一条线虫幼,盘旋成团,也有的寄生 2 条以上。郴州罗索虫可随蚊虫羽化而在成蚊体内寄并逸出,对罗索线虫的扩散传播有重要意义^[26]。罗索线虫对环境的适应性较强,易于人工培养,对库蚊和伊蚊有较强的感染性;但对按蚊的感染性比较弱。在稻田、污水塘、污水沟、人工水池中投放罗索线虫的寄生前期幼虫防治库蚊蚊虫,收到了较为理想的效果。在贵州省荔波县立化乡进行调查发现,三带喙库蚊、伪杂鳞库蚊、环带库蚊、二带喙库蚊、希氏库蚊和棕头库蚊体内均有线虫幼虫寄生,其自然感染率分别为 26.4%、18.5%、17.8%、17.4%、10.7% 和 4.7%^[27]。上海郊区现场用旌德罗索虫释放感染期幼虫 2000 条每平方米,可使中华按蚊的感染率达 80.85%;在四川乐山用四川罗索虫防治中华按蚊取得成功^[28]。罗索线虫防治蚊虫也存在一定的问题:寄生前期幼虫在自然界存活时间较短(1 ~ 2 d),罗索线虫感染蚊幼虫所需的时间较长,而且对高龄的蚊幼虫感染效率不高,它们与宿主蚊幼虫的关系也受密度的制约。要达到防治目的,必须人工释放大量的寄生物。更值得注意的是寄生物与宿主幼虫的发生并非是同步的,幼虫密度通常先达到高峰,因而实际应用就受到限制。

二、捕食性天敌灭蚊

1. 食蚊鱼:食蚊鱼吞食蚊幼虫,可以用于蚊虫控制^[29]。食蚊鱼防蚊优点如下:(1)自然性,自然界中只要存在食蚊幼虫的鱼类就可以发挥防治蚊虫的作用;(2)无污染性,没有化学农药和环境污染;(3)人工干预性强,人工放养人工投放便利;(4)生殖力高,生活史短,嗜食蚊类幼虫,能进入水生植物群丛捕获猎物,能逃避天敌,能忍受大的温差,耐酸碱及杀虫剂污染等。全世界可以吞食蚊幼虫的鱼类多达200多种,只有少数被实际利用。公认的柳条鱼最有效,其次为鳊鱼及草鱼^[11]。另外,放养柳条鱼、网斑花和胡子鲶,可防治稻田、蓄水池、水井、沟渠、污水和小型积水潭的蚊幼虫。食蚊鱼吞食蚊幼虫防治蚊虫在我国已有很多成功的例子。其中应用较多的是在稻田单一或混合放养和用水缸养鱼,养的是有经济价值又能吞食蚊幼虫的家鱼,如鲤鱼、鲫鱼、草鱼等。这些鱼类杂食,在有蚊虫幼虫时捕食蚊幼虫,当蚊幼虫减少后,以其他水生生物为食。在江苏、江西、浙江、湖北、湖南、广西、四川等省养鱼稻田现场调查发现,养鱼稻田的蚊幼虫密度一般比对照田下降70%以上。在贵州用食蚊鱼在稻田中灭蚊,以250尾/亩密度投放,可降低蚊幼虫密度67.02%在菜地积水坑中,以3~5尾/m²投放,蚊幼虫密度下降96.52%^[11]。稻田养鱼防治蚊虫,取得了理想效果。养鱼灭蚊另一成功例子是用于容器型媒介白纹伊蚊和埃及伊蚊的防治。饮用水缸是我国伊蚊的重要孳生场所,20世纪年代黄健人等采用水缸放养食蚊鱼塘角鱼和尼罗罗非鱼防治埃及伊蚊取得显著效果^[29]。另外,美国、伊朗、东南亚及太平洋地区都使用过食蚊鱼灭蚊,并取得了很好效果^[30]。

2. 中剑水蚤:属于甲壳亚门、剑水蚤壳的一种生物,广泛分布于乡村池塘等自然界的多种淡水水体中,目前已知约40余种,在富营养水中更易生长。国外研究证明某些中剑水蚤完全可以用于生物防治,它体积小,游动快,食性广,繁殖力强,繁殖周期短,可在蚊虫孳生地快速繁殖,尤其嗜食蚊幼虫,易于在蚊虫滋生地建立自己的种群,施用各种无污染或轻度污染的水质,易大规模生产,可长期防治蚊虫。各种研究发现,中剑水蚤对低龄幼虫捕食效果较好。崔贤等在实验室内对淡色库蚊I、II龄幼虫的杀灭率,24 h为91.88%(80%~100%)、48 h为96.13%(92.50%~100%)^[31]。中剑水蚤对高龄幼虫捕食力较差。其原因是中剑水蚤需要一定的时间建立自己的种群,对幼虫的捕食作用仅能捕食低龄幼虫,而高龄幼虫易逃避羽化成蚊。我国从20世纪90年代开始研究中剑水蚤,利用中剑水蚤控制淡色伊蚊,5周内蚊幼虫密度降低率达62%左右,可显著地降低伊蚊的密度,持效期长于蚊虫活动季节。与其他生物制剂合用,一次施用能够在整个蚊虫季有效防治蚊幼虫,且蚊幼虫和蛹的密度降低率均在89%~98%。有人应用中剑水蚤进行现场试验,将中剑水蚤与Bti合用防治白纹伊蚊幼虫,也有研究中剑水蚤与Bs合用防治淡色库蚊幼虫,使细菌制剂的速效作用和中剑水蚤的长持效相结合,取得了非常理想的效果^[32]。澳大利亚调查发现,中剑水蚤的存在与埃及伊蚊和盾板伊蚊幼虫的降低有显著关系。中剑水蚤在澳大利亚调查发现,含中剑水蚤的

水箱中伊蚊幼虫密度为 (0.3 ± 0.7) 条/桶,不含中剑水蚤的水箱中伊蚊幼虫密度为 (21 ± 43) 条/桶。美国发现多种中剑水蚤,在轮胎内可有效控制白纹伊蚊幼虫一年多时间。在越南北方也有成功利用中剑水蚤在整个村庄范围内有效控制埃及伊蚊的报告。虽然中剑水蚤生物防治作用已得到公认,但大规模地应用还须解决一系列问题,如饲养、运输、对水质、温度以及水中化杀虫剂的耐受性、抗干燥特性及储存等,也需进一步分离具有更高灭蚊效果的当地新种属。但是,中剑水蚤可作为有前途的蚊虫生物防治物,经济投入少,效果稳定,不伤害其它生物,不破坏生态平衡,不污染环境,具有较好的开发应用价值。

3. 捕食性蚊虫:(1)巨蚊:在我国20世纪80年代初有人对长白巨蚊的部分生物学和生态学特性进行了研究,但在国外30年代就引入或试图应用巨蚊防治孳生在容器中的埃及伊蚊和白纹伊蚊。我国的实验结果表明正常发育的长白巨蚊幼虫共捕食迷走库蚊 (95.67 ± 19.40) 只,滞育的巨蚊幼虫共捕食 (196.50 ± 6.96) 只。1990年中国预防医学科学院病毒学研究所从美国引进安汶巨蚊,发现该蚊幼虫每天捕食35只白纹伊蚊幼虫。但是,在容器积水中投放蚊卵孵出的幼虫,如果缺乏食料时,它们会出现自相残食或残杀,巨蚊的大规模应用应注意这个问题;(2)贪食库蚊:幼虫孳生于盆罐积水、污水坑、洼地、池沼、稻田、河渠、石穴、树洞积水等处,捕食孑孓,以I龄幼虫的捕食性最强。李军等^[33]采用人工单个和群体饲养贪食库蚊幼虫的方法,计算平均每条幼虫的捕食数量,并对有和无贪食库蚊孳生的积水进行幼虫密度计数。结果发现单个和集体饲养,每条IV龄贪食库蚊幼虫24 h平均捕食IV龄致倦库蚊幼虫分别为5.6和6.0条;该蚊幼虫不食IV龄致倦库蚊幼虫的头壳和呼吸管;III龄贪食库蚊幼虫可捕食与之等大的其他蚊幼虫,贪食库蚊幼虫之间有相互厮咬现象;有贪食库蚊孳生的积水,其幼虫密度为3.3条/勺,且只有I、II龄幼虫;无贪食库蚊孳生的积水其幼虫密度为29.7条/勺。由此可见,贪食库蚊幼虫可抑制甚至中断其他蚊幼虫的孳生;(3)褐尾库蚊:褐尾库蚊的幼虫可捕食许多有害蚊类的孑孓。幼虫孳生于水坑、池塘、石穴及容器积水中,偶也见于树洞积水。国内外对褐尾库蚊及其同属其他天敌的生物学和生态学特性已进行了研究,发现这几种天敌在野外经常与许多有害蚊类幼虫共栖;蚊虫天敌的嗜食性可能受猎物的大小、密度以及游动、反抗或逃避能力的影响。褐尾库蚊幼虫经常与白纹伊蚊、致倦库蚊等幼虫共同孳生于有积水的地方,且能够捕食许多有害蚊类龄期的幼虫。实验室观察每个IV龄幼虫1 d平均可捕食孑孓50条以上,据报告其产卵习性颇似致倦库蚊。I龄幼虫即开始捕食致倦库蚊的孑孓,每个幼虫在其发育期中平均可捕食孑孓363.8条^[34]。所以,褐尾库蚊可作为蚊虫的生物防治物。

三、转基因工程蓝藻防治蚊虫

蓝藻在蚊虫孳生地中广泛存在,也是蚊幼虫的食物之一。自然界水体中广泛生长着这种可作为蚊幼虫食物的蓝藻。基于此可将Bti和Bs杀虫毒素基因转移到蓝藻中,使杀蚊工程蓝藻在蚊虫孳生地正常生长、繁殖并杀灭蚊幼虫。转基因

工程蓝藻防治蚊虫即是基因工程和蚊虫生态学相结合的产物,体现了现代全新的蚊虫生物防治观点,为今后蚊虫的生物防治提供了新的前景。一方面可在蓝藻中转入不同杀虫谱的毒素基因谱,防止蚊虫抗性的产生;另一方面,也可将灭蚊毒素基因转入易于生产的蓝藻中,可扩大杀蚊面积。法国、以色列、美国以及我国山东省寄生虫研究所研究人员将苏云金杆菌(Bti)的晶体毒蛋白基因转入蓝藻中表达,以提高基因工程藻的广谱杀灭多种幼虫的作用,在实验室及现场均得到了理想的结果。利用分子生物学技术,将含苏云金杆菌(Bti)毒蛋白基因CryIVD的表达质粒转入鱼腥藻中表达,建立新型转基因工程藻,进行灭蚊。该工程藻经大量培养后,有很好的灭蚊效果^[35]。球形芽孢杆菌由于其菌体在水体中不能繁殖,易于分解、沉淀,脱离蚊幼虫生活水层,因此持效短。但将菌体内的杀蚊幼毒蛋白基因转入丝状固氮鱼腥藻中表达,成功建立的转基因工程藻,不仅解决了以上难题,而且在实验室及现场应用中均证明具有非常高的杀蚊活性。Tandeaudel等首先将球形芽孢杆菌(Bs1593)晶体蛋白基因在组囊藻中表达,该工程藻经超声粉碎后,对淡色库蚊幼虫有一定的毒效。1993年,山东省寄生虫病防治研究所选用丝状固氮蓝藻进行了转基因工作,将Bs晶体毒蛋白基因导入其中进行表达,实验室证明具有明显杀蚊幼虫毒效,其表达能力及灭蚊毒效显示出良好的应用前景。1996年,刘相萍等将携带有球形芽孢杆菌晶体蛋白基因的pDC26穿梭质粒,通过接合转移导入多种鱼腥藻中进行表达,所得到的基因工程藻Anabaenasp. 7120、Anabaenacylidrica和Anabaenasubtropic对淡色库蚊幼虫有较高的杀毒作用。针对基因工程藻制品目前只有液体应用和运输不便等难以商品化等难题,刘相萍等研究工程藻贮存后,在一定浓度值以上时,其杀蚊活性在三年内没有较大影响,因而为工程藻的推广利用提供了良好前景^[35]。

四、展望

蚊虫防治是一个复杂的问题,人类与蚊虫进行了长期斗争,虽然在蚊虫防治研究上取得了巨大成就,但迄今未取得彻底胜利。蚊虫生物防治作为蚊虫综合防治的一个重要组成部分,虽然已受到重视,但尚待继续发展,包括增加可持续性使用的生物防治物种。已研究发现的生物防治候选物种虽多,但实际可用的很少,已应用的更少。这是因为作为蚊类的生物防治物种,除了一个生物防治物必须具备的条件外,更须适合蚊类生物防治的特点。过去这方面的研究也往往忽视了实验室试验与自然界应用之间的差别,环境对靶标蚊虫及其寄生物或捕食者的影响以及它们的相互关系和作用,只有加强这些生态学的观点才能更有效地选择生物防治候选物,并正确理解和估价生物防治的效果,从而进一步发挥生物防治在蚊虫治理中的作用。

参 考 文 献

- 1 Das PK, Amalraj DD. Biological control of malaria vectors. Indian J Med Res, 1997, 106: 174-197.
- 2 黄健人. 蚊虫生物防治研究进展. 医学动物防治, 1999, 15: 445-448.
- 3 王美秀, 甄天民. 蚊虫的生物防治方法研究进展. 中国媒介生物学及控制杂志, 2000, 11: 71-73.
- 4 Yap HH, Lee YW, Zairi J. Indoor thermal fogging against vector mosquitoes with two *Bacillus thuringiensis israelensis* formula-

- tions Vectobac ABG 6511 water-dispersible granules and Vectobac 12AS liquid. J Am Mosq Control Assoc, 2002, 18: 52-56.
- 5 陆保麟. 生物防治在综合蚊虫治理中的应用. 中国寄生虫病防治杂志, 1990, 3: 242-246.
- 6 Mittal PK. Biolavicides in vector control: challenges and prospects. J Vector Borne Dis, 2003, 40: 20-32.
- 7 刘相萍, 张昕, 闫歌, 等. 苏云金杆菌 cryIVD 基因的表达及杀蚊毒效测定. 中国寄生虫病防治杂志, 2004, 17: 234.
- 8 陆宝麟. 我国 50 年来蚊虫防治研究概况. 中华流行病学杂志, 2000, 21: 153-155.
- 9 张吉斌, 徐博钊, 袁方玉, 等. 苏云金芽孢杆菌以色列变种的两种漂浮颗粒剂灭中华按蚊幼虫效果比较. 中国媒介生物学及控制杂志, 1995, 6: 334-336.
- 10 FCCMC. Florida mosquito control: The state mission as defined by mosquito controllers, regulators, and environmental managers. Florida Coordinating Council on Mosquito Control, 1998, University of Florida, Gainesville, FL.
- 11 景晓. 蚊虫的生物防治技术. 山东卫生, 2005, 10: 59-60.
- 12 汤历, 郑常格, 陆小军, 等. BsC3-4 杀蚊幼制剂对蚊幼虫毒杀效果研究. 昆虫天敌, 2004, 26: 183-187.
- 13 Fillinger U, Knols BG, Becker N. Efficacy and efficiency of new *Bacillus thuringiensis* var *israelensis* and *Bacillus sphaericus* formulations against Afrotropical anophelines in Western Kenya. Trop Med Int Health, 2003, 8: 37-47.
- 14 Blanco Castro SD, Martínez Arias A, Cano Velásquez OR, et al. Introduction of *Bacillus sphaericus* strain-2362 (GRISELESF) for biological control of malaria vectors in Guatemala. Rev Cubana Med Trop, 2000, 52: 37-43.
- 15 Mittal PK. Biolavicides in vector control: challenges and prospects. J Vector Borne Dis, 2003, 40: 20-32.
- 16 Federici BA. Insecticidal bacteria: an overwhelming success for invertebrate pathology. J Invertebr Pathol, 2005, 89: 30-38.
- 17 徐勇, 赵桂荣. 苏云金杆菌(BTH-14)和球形芽孢杆菌(BS-10)混合液对营口市库蚊幼虫的毒力测定. 现代预防医学, 2006, 33: 384-385.
- 18 Blanford S, Chan BH, Jenkins N, et al. Fungal pathogen reduces potential for malaria transmission. Science, 2005, 308: 1638-1641.
- 19 Scholte EJ, Ng'habi K, Kihonda J, et al. An entomopathogenic fungus for control of adult African malaria mosquitoes. Science, 2005, 308: 1641-1642.
- 20 莫非, 包怀恩. 感染大链壶菌后致倦库蚊幼虫血淋巴细胞的观察. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2001, 19: 330-332.
- 21 潘卫, 包怀恩. 大链壶菌感染对致倦库蚊幼虫体内蛋白质及游离氨基酸的影响. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2002, 15: 180-182.
- 22 牟荣, 包怀恩, 李建华, 等. 感染大链壶菌后蚊幼虫脂肪、酯酶和脂肪酶的变化. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2004, 22: 280-282.
- 23 刘素兰, 汪政仪, 孙建华, 等. 印度雕蚀菌感染三带喙库蚊幼虫病理组织和血淋巴细胞的观察. 上海医科大学学报, 1994, 21: 11-13.
- 24 汪政仪, 刘素兰, 连惟能, 等. 印度雕蚀菌在三带喙库蚊幼虫体内的发育. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1995, 13: 104-106.
- 25 Lacey LA, Lacey C M. The medical importance of riceland mosquitoes and their control using alternatives to chemical insecticides. J Am Mosq Control Assoc, 1990, 6 (Suppl): 1-93.
- 26 林立辉, 方美玉. 蚊幼虫天敌-罗索线虫的研究. 中国媒介生物学及控制杂志, 2004, 15: 233-235.
- 27 罗幸福, 许锦江. 贵州省荔波县稻田内三带喙库蚊自然感染郴州罗索线虫情况的调查. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1998, 16: 153-154.
- 28 钟玉林, 王国秀. 我国昆虫寄生索科线虫研究近况. 中国生物防治, 2001, 17: 35-39.
- 29 黄健人, 李继龙, 唐光坤, 等. 广西生物控制埃及伊蚊研究. 中国媒介生物学及控制杂志, 1991, 2: 225-228.
- 30 Mohamed AA. Study of larvivorous fish for malaria vector control in Somalia, 2002. East Mediterr Health J, 2003, 9: 618-626.
- 31 崔贤, 谢元忠, 沈锡悦. 淡色库蚊刘氏中剑水蚤灭蚊效果观察. 中华卫生杀虫药械, 2003, 9: 33-34.
- 32 王美秀, 甄天民. 蚊虫的生物防治方法研究进展. 中国媒介生物学及控制杂志, 2000, 11: 71-73.
- 33 李军, 邹亚莉, 李灯华. 贪食库蚊捕食蚊幼虫的初步研究. 衡阳医学院学报, 2000, 28: 138-139.
- 34 黄恩炯, 吴珍泉. 褐尾库蚊幼虫捕食行为的初步研究. 福建农林大学学报(自然科学版), 2005, 34: 177-180.
- 35 刘相萍, 闫歌, 甄天民, 等. 干燥贮存的基因工程藻杀灭淡色库蚊幼虫的实验研究. 中国媒介生物学及控制杂志, 2002, 13: 263-264.

(收稿日期: 2007-06-22)

(本文编辑: 王丹静)

张光学, 王静, 于爱莲, 等. 蚊虫幼虫生物防治研究进展[J/CD]. 中华实验和临床感染病杂志: 电子版, 2008, 2(2): 80-87.