

蝗虫生物防治发展现状及趋势

石旺鹏^{1,2*}, 谭树乾²

(1. 新疆师范大学生命科学学院/中亚区域跨境有害生物联合控制国际研究中心, 乌鲁木齐 830054; 2. 中国农业大学植物保护学院, 北京 100193)

摘要: 自 20 世纪 60 年代以来, 作为有害生物综合治理主要手段的生物防治取得了许多突破性成果, 生物防治的比例逐年提高, 其支配地位越来越明显。蝗虫是世界性的重大害虫, 给发生地区的农牧业生产带来巨大威胁和损失。在蝗虫生物防治中, 人们早期主要开展寄生性天敌和植物源药剂等在防治蝗虫中的应用, 当前防治蝗虫的病原微物的研发和应用占据了越来越重要的地位, 如真菌、蝗虫微孢子、杀蝗金线虫、蝗虫痘病毒、苏云金杆菌、类产碱假单胞菌、蜡状芽胞杆菌等可有效控制蝗虫的生物防治因子, 这些杀蝗生物制剂在蝗虫防治中发挥了重要作用。但是与速效的化学农药相比, 生物防治制剂快速致死作用较低, 对种群的密度调节较慢, 特别是可以完全替代化学农药的应急治蝗生物制剂品种相对较少、剂型相对较为单一、成本较高加之防治效果受环境影响较大等问题, 在一定程度上制约了蝗虫生物防治技术的发展和运用。但生物防治制剂的环境友好、生态安全和对靶标不易产生抗性等优点越来越被重视, 决定了生物防治制剂必然成为全球农药产业发展新趋势, 推动了蝗虫生物防治朝低耗、多元化品种和绿色剂型方向发展, 如可以垂直传播的蝗虫微孢子生物制剂、蝗虫信息化合物制剂、防蝗真菌制剂与经典的蝗虫天敌生物制剂和生态调控技术等协同应用, 速效与长效结合, 确保蝗虫的可持续控制。

关键词: 蝗虫; 综合治理; 生物防治; 生物制剂

中图分类号: S482.38; S433.4 **文献标识码:** A **文章编号:** 1005-9261(2019)03-0307-18

Current Status and Trend on Grasshopper and Locust Biological Control

SHI Wangpeng^{1,2*}, TAN Shuqian²

(1. College of Life Science, Xinjiang Normal University/International Cooperative Research Center for Cross-border Pest Management in Central Asia, Urumqi 830054, China; 2. College of Entomology, China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: Biological control has been principal choice in integrated pest management since 1960s. Lots of achievements on biological control technologies were developed and applied. The proportion of biocontrol in IPM increased each year and started to dominate. Grasshoppers and locusts are important pests in the world, they caused lots of losses and are a threat for agricultural and husbandry area. In the study and application on biological control of grasshoppers and locusts, the parasites of grasshoppers and plant pesticides were applied more at early period as agents controlling grasshoppers and locusts, but at present, the entomopathogenies, such as fungus, microsporidia, nematodes, virus and bacteria and so on, these biological agents played more important role in the practices. These problems such as less variety and formulation, high cost and unstable effects partly restricted the development and application of grasshopper biocontrol, but the advantage of bio-agents including environmental friendliness, ecological safety and unease to form resistance for pest have made the industry become a necessary trend in global pesticide industry, which have promoted the development of grasshopper biocontrol to low cost, diversified variety

基金项目: 国家自然科学基金(31272092); 国家重点研发专项(2017YFD0201200); 国家国际科技合作专项(2015DFR30290)

作者简介: 石旺鹏, 教授, E-mail: wpshi@cau.edu.cn; *通信作者。

DOI: 10.16409/j.cnki.2095-039x.2019.03.020

and formulation for the future, for example *Paranosema* that could transmitted vertically, semiochemicals of locusts, fungi agents, natural enemies of grasshoppers and locusts and ecological managements, they are applied coordinately, and then keep complimentary effects and sustainable control for grasshoppers and locusts.

Key words: grasshopper; IPM; biocontrol; bio-agents

蝗虫是农、林、牧业生态系统的重要组成部分,全世界的蝗虫已知有 1 万种以上,其中对农、林和牧业可造成严重为害的蝗虫有 300 种左右。据 FAO 统计,全世界常年发生蝗虫的面积达 4680 万 km²,全球 1/8 的人口经常受到蝗灾的侵扰。蝗灾是一种世界性的生物灾害,有生物炸弹之称,全世界有 100 多个国家或地区不同程度地受到蝗灾的威胁,其中尤以非洲和亚洲的一些国家发生最为频繁、受害最为严重。世界上发生为害最严重的蝗虫为沙漠蝗 *Schistocerca gregaria*,其最大扩散面积可达 2800 万 km²,包括 66 个国家或地区的全部和部分,约占全世界陆地面积的 20%,受灾人口约占全世界人口的 1/10 以上。蝗灾一旦发生,蝗群往往覆盖数百公里,内含数十亿个个体,涉及面广,来势凶猛,致灾严重。2004 年,西北非暴发大规模沙漠蝗灾,仅联合国粮食及农业组织用于抗灾的资金就高达 4 亿美元,直到 2005 年才被控制。到 2007、2010、2012、2014 年沙漠蝗又连续暴发成灾,蝗灾波及到亚洲的也门、巴基斯坦、印度等地区。其次是澳洲疫蝗 *Chortoicetes terminifera*、飞蝗 *Locusta migratoria* 等成灾种类^[1]。澳洲疫蝗主要发生于澳大利亚,最早的成灾记录在 1844 年。进入 20 世纪以来,澳大利亚有数十次澳洲疫蝗的成灾记录,多次特大暴发,其中 2010 年澳大利亚遭遇史上最严重的一次蝗害,泛滥速度快,蔓延面积大。统计报道,蝗虫吞吃掉维多利亚州比例高达 1/4 的农作物,造成的农业经济损失可达 20 亿澳元^[2]。飞蝗分布范围最广,遍布非洲、泰加林以南的大部分欧亚大陆、东印度群岛、大洋洲热带部分和新西兰,也是我国及东南亚等国家的头号害虫。我国蝗灾最早的记录是公元 707 年,见于《春秋》中,到 1911 年,蝗灾大发生的次数共 538 次。到 1935 年,发生蝗灾的年份共 796 年。从西周末春秋时代起到 1950 年的 2600 多年中,平均每 2~3 年有一次地区性蝗灾发生;每隔 5~7 年有大型蝗灾猖獗;到 20 世纪 40 年代因为旱涝灾害交错,内忧外患,黄淮海地区几乎年年发生蝗害,累计发生蝗灾 700 多次。因此,蝗灾是我国数千年来遭受的最大自然灾害之一,与水灾和旱灾并称三大自然灾害。飞蝗数量巨大,暴食期长,曾给我国造成不可估量的经济损失,至今仍严重威胁着农牧业生产。近年来,蝗灾又出现严重发生的趋势。还有非洲的红翅蝗 *Nomadacris septemfasciata*、中南美洲的南美蝗 *Schistocerca paranensis*、北美的落矶山蝗 *Melanoplus spretus*、欧洲的意大利蝗 *Calliptamus italicus* (L.)、我国北方草原上的亚洲小车蝗 *Oedaleus asiaticus*、农田上的中华稻蝗 *Oxya chinensis* (Thunb.)、竹林上的青脊竹蝗 *Ceracris nigricornis* Walker 等均曾在不同地区、不同时期暴发成灾,给当地的农牧林业生产带来巨大损失^[3]。

早在先秦时期,中国人民就已经知道驱除蝗虫保护作物的重要性,“去其螟螣,及其蟊贼,无害我田稚。”——《小雅·大田》,其中“螣”是蝗虫,“田祖有神,秉畀炎火”,这是世界上最早记载的用火防治蝗虫的记录。我国有世界上最早治虫法规《熙宁诏书》(公元 1075 年)和最早的治蝗手册《捕蝗法》(公元 1193 年以前),徐光启的《除蝗疏》里“捕蝗要诀”二十则(公元 1857 年)中最早提出开展利用蝗虫的习性来防治蝗虫,如种植飞蝗不喜食的黑豆、芝麻等作物。解放前基本没有有效的治蝗措施。解放后我国制订了“改治并举、根除蝗害”的治蝗方针,通过十几年的努力,到 20 世纪 60 年代末期终于结束了飞蝗灾害频发的历史,但是化学农药一直是主要治蝗手段。20 世纪 80 年代以来,全球连年气候变化异常,造成河道断流、水库脱水频繁,致使新蝗区不断产生,老蝗区出现反复,蝗区面积不断增加,蝗区的分布也发生了很大的变化。化学农药的滥用,天敌被杀伤,生态被破坏,蝗虫发生频率上升,为害程度加重。为此,越来越多的生物防治技术被研究开发并应用到蝗虫防治中来。1985 年,美国西部 3 亿多亩草原暴发蝗灾。由于大量喷洒化学农药带来了严重的生态和环境问题,1987 年美国农业部启动了以生物防治为主的蝗虫综合治理计划,多部门多学科联合攻关开展蝗虫生物防治等环境友好的蝗虫防治技术研发和推广;紧接着欧洲、澳洲等地区纷纷设立专门机构开展蝗虫监测和绿色防控理论与技术的研究与示范推广。1986 年,我国通过中美政府之间的合作从美国引进了蝗虫微孢子,开展了我国蝗虫生物防治新理论和新技术的研发应用。进入 21 世纪,相关单位又开展了传统的真菌、细菌、病毒等防治蝗虫的研究和应用,取

得了很大进展。2014 年底农业部明确提出在“十三·五”期间我国化学农药零增长的发展目标,为未来我国病虫草鼠害防控的发展指明了方向。

1 蝗虫生物防治发展现状

尽管目前化学防治在蝗虫应急防治实践中占据主要地位的现象短时间内难以改变,但是化学合成农药对非靶标生物的为害、对环境的负面影响、对生态系统的破坏作用以及化学防治成本居高不下并且用药越多病虫害发生越严重等现象持续被社会所关注,这促进了环境友好的病虫害防治理论和技术推广应用,特别是生物防治被作为可以替代化学农药的最主要手段被要求加快推进,因为生物防治具有对非靶标生物和环境安全、经济成本低,且能够持续控制病虫害的发生和为害等优势。

近年来蝗虫生物防治技术发展迅猛,产生了许多新技术和新产品。依据被当前主要数据库检索到的蝗虫生物防治文献中被引频次较高部分文章的内容分析,其中主要生物防治技术和产品包括(1)蝗虫病原微生物,如真菌、微孢子、细菌、病毒等;(2)蝗虫的捕食性或寄生性动物,如蝗虫病原线虫、天敌昆虫、蜘蛛、鸟类和螨类等;(3)杀蝗天然产物,如真菌毒素、信息化学物质和植物源农药等;(4)蝗虫综合治理,如生态调控技术、生物多样性的应用技术等。这里分类综述相关蝗虫生物防治领域的国内外现状。

1.1 蝗虫病原微生物

感染昆虫并使其发生疾病的微生物称之为昆虫病原微生物,它是自然界控制昆虫种群数量的重要因子。以昆虫病原微生物开发的微生物杀虫剂具有与环境的相容性、易于工业化生产、可自然扩散以及持续控制害虫等优点而作为化学农药的替代品,备受国内外学者及产业界的重视。蝗虫的病原微生物主要包括微孢子、真菌、细菌、病毒等类群的很多重要种类。

1.1.1 蝗虫微孢子 蝗虫微孢子最显著的特点是它能够通过感病雌性蝗卵传播给下一代。微孢子属 *Nosema* (*Paranosema*) 和变形微孢子属 *Vairimorpha* 被认为是最有前景的可以替代化学农药防治蝗虫的微生物制剂,其在蝗虫的综合治理中发挥了重要作用^[4]。

蝗虫微孢子 *Nosema* (*Paranosema*) *locustae* 是一种可以侵染 100 多种直翅目昆虫的单细胞真核病原微生物,其在田间的应用范围非常广泛,是最早开发和登记在蝗虫生物防治中应用的微生物制剂,也是目前唯一的一种已经开发成为微生物防治害虫的微孢子^[5,6]。蝗虫取食了被蝗虫微孢子污染过的食物后,孢子即在蝗虫消化道中萌发,暴发性地突出极丝尖端,穿进寄主细胞和中肠肠壁细胞,到达血腔,进入感受性组织细胞如在脂肪体中开始无性裂殖生殖,将孢子的孢原质释放出来,开始在寄主的细胞内大量繁殖,消耗蝗虫体内的能源物质,导致虫体总脂含量和血淋巴甘油含量大幅度下降及血淋巴脂肪酶活力大幅度上升,使蝗虫出现畸形,发育期延长,寿命缩短,丧失生殖能力^[7]。另外,微孢子还可侵染蝗虫的唾腺、围心细胞及神经组织;在其病虫体内的卵细胞、侧输卵管、中输卵管中均发现有微孢子,产卵量下降约 50%,孵化率极低,取食量下降,随着微孢子在寄主体内不断增殖,使寄主的生理机能等遭到破坏而死亡^[8]。蝗虫微孢子不污染环境、不杀伤天敌、对人畜安全,不产生对其他生物的二次毒害,有利于保护生物多样性^[9,10]。1972 年, Henry^[11]研究了自然情况下的蝗虫微孢子虫病的流行,认为该病的流行与各地区的蝗虫种类组成及丰富度有关;在季节动态中感染率的高低与引起的死亡率有关,与蝗虫的迁飞扩散有关;如果蝗虫虫口密度太低则无法传播流行。1980 年,美国科学家研制出蝗虫微孢子饵剂和水剂并首次获得美国环保部的登记,2008 年又重新在美国获得登记,2011 年蝗虫微孢子被加拿大批准登记并应用,这促进了蝗虫微孢子在北美的推广应用和研究。在美国、加拿大、阿根廷等地,应用蝗虫微孢子防治蝗虫取得了显著持续效果,正在越来越被人们接受和应用。目前,蝗虫微孢子已经在世界上主要蝗区推广应用,显示出良好的控蝗效果,当年的防治效果可达 50%~90%以上,即使是存活的蝗虫也有 20%~50%被微孢子病原感染,可以持续控制蝗虫种群,逐步得到各国认可,具有广阔的应用前景。通过对微孢子应用区域微孢子病原在蝗虫种群中流行规律长期跟踪研究发现,微孢子病原在南美草原蝗群中至少可以持续流行 6~7 年。自 1986 年我国从美国引进蝗虫微孢子以来,我国学者开展了蝗虫微孢子病在草原蝗虫种群中流行规律试验研究,结果表明,草场引入蝗虫微孢子后有两个明显的发病高峰,蝗虫高密度利于微孢子虫病的流行;较高浓度的微

孢子虫可以侵染 50%~80% 的蝗虫^[12-15]。自我国开展了蝗虫微孢子治理蝗虫的理论与应用技术以后, 累积示范推广应用微孢子防治蝗虫的面积达 1000 多万亩, 取得了良好的经济效益、社会效益和生态效益^[16]。在内蒙古和青海草原上施用微孢子 9 年后, 微孢子在多种草原蝗虫体内仍有较高寄生率, 并且有效抑制蝗虫种群数量增长^[17,18], 证明蝗虫微孢子能在自然种群中定殖, 能达到长期控蝗效果, 并且一直将蝗虫控制在经济为害水平以下, 施用一次, 6~10 年不需再施药防治, 持续控制蝗虫的作用明显^[19-22]。应用蝗虫微孢子防治蝗虫可以大量降低材料和人工的耗费, 是蝗虫可持续治理的理想生物制剂。

蝗虫微孢子除了直接的致死作用外, 更重要的是其对蝗虫的亚致死作用, 如抑制蝗虫的生长发育、产卵和群集行为。在研究蝗虫微孢子抑制飞蝗群集迁飞行为的机制中发现, 蝗虫微孢子可显著抑制飞蝗的群集迁飞行为, 主要是通过干扰合成调控飞蝗群集和型变的神经递质血清素和多巴胺等基因的表达来达到抑制飞蝗群集的目的; 同时, 蝗虫微孢子也可以通过抑制参与飞蝗聚集信息素合成的肠道细菌的生长发育来阻止飞蝗的群集行为。该病原不仅可以干扰飞蝗的行为型变, 也可以抑制飞蝗的形态型变, 即抑制飞蝗向群居的形态和促进飞蝗向散居形态转变, 从而阻止了飞蝗的群集迁飞为害, 从可持续控制作用上理解, 这种亚致死作用比直接的致死作用更为重要^[23]。

为促进蝗虫微孢子在蝗虫生物防治工作的进一步深入, 世界各国科学家开展了蝗虫微孢子控制蝗虫的生理生化及分子机理的研究。科学家免疫定位了感病蝗虫脂肪体细胞内的蝗虫微孢子己糖激酶, 同时发现该蛋白也可在鳞翅目细胞 Sf9 中异源表达, 证明了蝗虫微孢子分泌的己糖激酶可进入寄主细胞核累积表达, 为进一步明确其对寄主的致病分子机制提供了资料^[24]。

1.1.2 蝗虫病原真菌 昆虫病原真菌是昆虫病原生物中的最大类群。据野外调查越冬昆虫发现, 昆虫疾病中约有 60% 是由真菌引起的, 病原真菌也是最早被系统地利用来控制害虫的昆虫病原微生物。

20 世纪 80 年代至 21 世纪, 国际生物防治研究所开展了蝗虫生物防治专项研究, 大规模筛选对蝗虫致病的真菌, 在国际热带农业研究所的协作下, 从西非、也门、马达加斯加等地区的土壤或病蝗中筛选出 300 多个有效控制蝗虫的菌株, 通过测试其对蝗虫的毒性、遗传稳定性、产孢能力、孢子稳定性、对紫外线和高温的抗性、田间有效性、对非靶标生物的安全性、对环境的影响和循环性等特性, 来评价其推广应用前景, 其中金龟子绿僵菌 *Metarhizium anisopliae* var. *acridum* Metsch. Sord. 是毒性较强的菌株, 同时也分离得到一些其他有效菌株, 如球孢白僵菌 *Beauveria bassiana* (Bals.) Vuill. 和小团孢属 *Sorospora* sp. 等^[25]。

蝗虫的病原真菌主要分布于接合菌亚纲和半知菌亚纲, 结合菌亚纲的蝗虫病原是复合体, 研究较少, 目前研究和应用较多的是蝗噬虫霉菌复合体 *Entomophaga grylli* complex, 其至少包括 4 种致病型菌类 *E. calopteni* (Bessey) Humber、*E. macleodii*、*E. praxibuli* 和 *E. asiatica*, 这 4 种致病型的寄主、生活史和环境要求等都不同, 其中 I 型 *E. macleodii* 主要寄生斑翅蝗亚科 Oedipodinae 的蝗虫; II 型 *E. calopteni* (Bessey) Humber 主要寄生黑蝗亚科 Melanoplinae 的蝗虫; III 型 *E. praxibuli* 均可寄生; IV 型 *E. asiatica* 是从日本的一种蝗虫体分离得到的^[26], 现在可以采取分子生物学手段来区别这 4 种病原真菌^[27,28]。我国主要是 I 型蝗噬虫霉菌, 虫体培养可以发现白色的外部菌丝。半知菌亚纲广泛存在于自然界, 是蝗虫的主要病原真菌, 包括绿僵菌 *M. anisopliae*、白僵菌 *B. bassiana*、黄绿僵菌 *M. flavoviride*、黄曲霉菌 *Aspergillus flavus* 等。这些真菌的分生孢子要比蝗噬虫霉菌孢子小, 但它们的形态也各不相同, 区别它们最好的手段还是分子探针^[29,30]。

科学家们经过多年的跟踪调查发现, 真菌病害在蝗群中的自然流行比率很低, 在非洲草原蝗群中的自然感病率大约在 2%~6%。因此, 要将蝗虫控制在经济为害水平以下, 必须要人工增殖并应用到蝗群中, 提高蝗虫的感病率并降低其种群密度。目前, 人工增殖应用的对蝗虫有毒杀作用的病原真菌主要有绿僵菌、白僵菌和黄绿僵菌等。此外还有小团孢属、蝗噬虫霉 *E. grylli* 和轮状镰刀霉菌 *Fusarium verticillioides*^[31-33] 的相关报道, 在田间示范应用较多的是绿僵菌和白僵菌。杀蝗绿僵菌在非洲大面积试验, 用于沙漠蝗虫的防治, 有很大应用前景。

近年来, 科学家在真菌致病机理方面取得很大进展。昆虫绿僵菌可以产生大量的酶和次生代谢物质帮助其渗透昆虫的体壁或者其他组织, 以达到侵染和寄生的目的。专门寄生蝗虫的蝗绿僵菌 *M. acridum* 可以分泌一系列蛋白如蛋白酶、几丁质酶、细胞色素 P450 等, 这些蛋白能带给自身更加强大的能力以适应多

变的生存环境^[34]。同时在菌株选育、生产工艺、剂型和防治对象上已有显著进步,多国杀蝗绿僵菌生物农药的研制取得了重要的成果,产品已在国内外多个地区示范试验。不仅如此,生防工作者还尝试向真菌农药中添加附带物质如苦楝籽油等以开发新的剂型^[35,36],提高病原真菌农药的杀蝗毒性。

1.1.3 蝗虫病毒 广义上讲蝗虫病毒是指一切能以蝗虫为宿主的病毒,有些病毒虽然能在蝗虫体内增殖,但一般对蝗虫不表现病原性。狭义地讲,蝗虫病毒是指以蝗虫为宿主并对蝗虫有致病性的病毒。蝗虫病毒经口感染宿主后,可以在个体与个体之间实现有效的传染,并且蝗虫病毒的宿主专一性比较强,安全性高,对人、家畜、家禽和农作物等都安全无害^[37]。

目前,从蝗虫和蟋蟀体内分离出来的病毒包括痘病毒 poxvirus 和列晶病毒 crystalline array virus 类群。我国最早在 1981 年黄传贤^[38]报道的新疆西伯利亚蝗虫痘病毒,该病毒无纺锤体,是 B 属病毒。蝗虫痘病毒是应用于蝗虫生物防治的主要昆虫痘病毒,是由 Henry 于 1966 年从黑血蝗 *Melanoplus sanguinipes* 体内分离获得。自此之后,又有十几种蝗虫痘病毒被相继发现^[39],如西伯利亚蝗痘病毒(*Gomphoceru sibiricns* EPV)、亚洲小车蝗痘病毒(*Oedaleus asiaticus* EPV)、意大利蝗痘病毒(*Calliptamus italicus* EPV)等^[40,41]。蝗虫痘病毒是细胞内寄生,相较于病原细菌和真菌,蝗虫痘病毒较难大量生产^[42],是限制应用于实际防治工作的主要问题。目前,在众多筛选和鉴定出的蝗虫痘病毒中,研究最多的是黑血蝗痘病毒 *M. sanguinipes* EPV,也是目前唯一实现了体外量产的蝗虫痘病毒^[43],是应用于蝗虫生物防治中的最主要种类^[44-47],但是其复制机制、病理机制以及寄主范围等问题仍然存在许多未知^[48]。

列晶病毒与脊椎动物的小 RNA 病毒高度相似,所以不太可能作为蝗虫的生物制剂开发应用^[49]。核型多角体病毒(Nuclear polyhedrosis viruses, NPV's)是最有前景的昆虫病毒,但从蝗虫中没有有效分离出来。有报道称来自于非洲棉叶虫 *Spodoptera littoralis* 的一种核型多角体病毒可以传递给沙漠蝗和非洲飞蝗,但未见进一步的深入研究报道^[50]。

蝗虫痘病毒虽然已在实验室或户外进行了小规模生物防治试验,但是,蝗虫痘病毒与脊椎动物痘病毒的许多性质相同,因此其使用时的安全性还需慎重考虑,即使有限的数据显示蝗虫痘病毒是安全的,也还需要做更多的工作对其安全性进行科学、严密的把关。

1.1.4 蝗虫病原细菌 蝗虫病原细菌在蝗虫病原微生物区系中占很大比例,在不同环境条件下对蝗虫种群数量能起到不同程度的调节作用。杀蝗细菌主要来自芽孢杆菌科 Bacillaceae、假单胞菌科 Pseudomonadaceae、肠杆菌科 Enterobacteriaceae、乳杆菌科 Lactobacillaceae 和微球菌科 Micrococcaceae 等细菌类群^[51]。最早报道应用细菌防治蝗虫的是墨西哥科学家 d'Herelle,他认为这种细菌在墨西哥、哥伦比亚和阿根廷的蝗群中流行,命名为蝗虫球杆菌 *Coccobacillus acridorum* d'Herelle,后来证明其是产气杆菌 *Aerobacter aerogenes*^[52]。还有一种是从沙漠蝗体表分离出来的黏质沙雷菌 *Serratia marcescens* Bozio,但应用发现其对蝗虫的控制作用不稳定^[53]。

实际上,利用病原细菌防治蝗虫研究远没有病原真菌多,主要研究集中在苏云金芽孢杆菌 *Bacillus thuringiensis* 和类产碱假单胞菌 *Pseudomonas pseudoalcaligenes* 两种细菌上,也有部分球形芽孢杆菌 *B. sphaericus* 的报道^[54]。对蝗虫有效的新细菌菌株的筛选屡有报道,但也主要集中在杆菌属 *Bacillus* sp.和假单胞菌属 *Pseudomonas* sp.^[55,56]。

最早从四川乐山自然死亡的黄脊竹蝗 *Ceracris kiangsu* 体内分离得到第一株类产碱假单胞菌,并确定了其对 3 种草地蝗虫(属于土蝗、亚洲飞蝗和蚁蝗)的感染力和毒力^[57]。与芽孢杆菌类似,类产碱假单胞菌产生的杀虫蛋白是对蝗虫产生毒性的主要原因,其分子量大约为 26 kDa 左右^[58,59]。增效剂型的研究一直是生物农药在开发和利用过程中的重要环节,尹鸿翔等^[60]分离出一株可以产生几丁质酶的黏质沙雷氏菌,并与类产碱假单胞菌进行了混合生物制剂的试验,显著提高了单一菌种杀蝗效率。

苏云金芽孢杆菌是一种可以对鳞翅目、双翅目、鞘翅目、同翅目、膜翅目和食毛目等众多昆虫有毒杀作用的病原细菌^[61-64],与此相比,关于对直翅目昆虫有效的 Bt 的报道很少。Prior 和 Greathead^[65]认为,蝗虫和蚱蜢肠液为酸性,不足以有激活 Bt 毒蛋白,故 Bt 毒蛋白对其无毒性。但是随着越来越多的 Bt 菌株和毒蛋白的发现,人们筛选出了对飞蝗有毒性的 Bt 菌株,如 BTH-13^[66],主要 δ -内毒素为 Cry7Ca1^[67]。并且, Moraga^[68]和 Barakat^[69]分别报道了 Bt 毒素对摩洛哥戟纹蝗 *Dociostaurus maroccanus* 和沙蝗 *Schistocerca*

gregaria 中肠组织的影响,开启了系统研究 Bt 毒素对蝗虫中肠的病理学影响的先河,具有一定的发展前景。

1.2 蝗虫的天敌

1.2.1 捕食性天敌昆虫 蝗虫的鞘翅目天敌昆虫为蝗虫的主要捕食性天敌,主要取食蝗虫的卵,如皮金龟科 Trogidae、步甲科 Caraboidea、拟步甲科 Tenebrionoidea 等^[70-73]。捕食蝗卵的还有芫菁科 Meloidae,斑蝥甲,在北美有 26 种芫菁幼虫被发现能够攻击蝗虫卵块,芫菁可吃完整个卵荚,如果吃完一个还没有发育成熟,再继续寻找第二个卵荚,一些种类需要两年才能完成一个生活史;蜂虻科幼虫也取食蝗卵,至少 26 个种类被记录,初孵化的幼虫寻找蝗卵,然后钻进卵囊取食卵粒,一般只取食部分卵,连续破坏 3 个卵囊,完成发育后钻入土中化蛹^[74];步甲成虫是广谱性的捕食者,而步甲幼虫捕食蝗卵,有些地区显示其对蝗虫有重要的控制作用;此外,还有郭公甲、拟步甲、皮金龟等。

捕食蝗蛹的天敌昆虫,还包括双翅目花蝇科昆虫,大小与家蝇类似,报道有两个种捕食蝗虫卵^[75]。食虫虻科 Asilidae,这个科的种类是典型的捕食者,近千种被报道,至少有 26 种被记录可以捕食蝗虫,其中有 6 种嗜好捕食蝗虫,在蝗区分布广泛,研究认为至少有 3 个种类 *Stenopogon coyote* Bromely、*S. neglectus* Bromley 和 *S. picticornis* Loew 可以取食草原蝗虫,与其他种类一起控制蝗虫种群的数量。膜翅目 Hymenoptera,蚁科 Formicidae,蚂蚁捕食正在孵化中的蝗蛹等,属于本地化天敌,对蝗虫的种群数量变动影响不大。有 4 种蚂蚁 *Formica rufa obscuripes* Forel、*F. obtusopilosa* Emery、*Myrmica sabuletti americana* Weber 和 *Solenopsis molesta validiuscula* Emery 被证明是草原蝗虫的常规捕食者。另外蜂虻科 Bombylioidea 和食虫虻科 Asilidae 也有报道^[76]。

我国对蝗虫的捕食性天敌昆虫的研发起步较晚,报道较少。记录的飞蝗天敌约 20 余种,记录的捕食性天敌昆虫主要包括芫菁、步甲、虎甲、皮金龟、虻类、马蜂、泥蜂等^[77],但是没有详细应用的报道。

利用捕食性天敌昆虫对蝗总科的防控研究是世界性课题,我国蝗虫天敌资源丰富,利用前景良好,应积极研究和推广天敌防控技术。

1.2.2 寄生性天敌昆虫 蝗虫的寄生性天敌昆虫主要来自于双翅目和膜翅目等,包括花蝇科、麻蝇科 Sarcophagidae、寄蝇科 Tachinidae 和缘腹细蜂科 Scelionidae 等^[78-80]。寄生性天敌昆虫对蝗虫的自然种群寄生率很高,澳大利亚的 *Kosciuscola tristis* 自然种群中的双翅目寄生率高达 20%^[81]。

寄生蝗卵的寄生蜂目前只记载了黑卵蜂科的寄生蜂,寄生于一粒蝗卵内完成发育,主要包括蝗黑卵蜂属 *Scelio* 和 *Synoditella*,共记录了 20 余种。一般雌性寄生蜂的数量多于雄性,研究发现,雌性寄生蜂可能对特定蝗虫种类的卵囊挥发物有吸引作用,寄生蜂定位卵囊后咬破卵囊挖一个隧道直到接触到卵粒为止,然后退出将产卵器插入产卵,尽可能多产,卵孵化后取食卵内的营养物质,完成幼虫发育后化蛹,最后羽化,成虫寄生蜂飞出寻找合适寄主^[82]。

寄生蝗蛹或成蝗的天敌昆虫,主要包括双翅目花蝇科、丽蝇科、寄蝇科、网翅虻科和泥蜂科等的昆虫。花蝇科昆虫大小与家蝇类似,报道有一个种可以寄生蝗虫,如 *Acridomyia canadensis* Snyder^[83],*A. canadensis* 至少可以寄生蝗科中的 16 种蝗虫,如 *Melanoplus bivittatus* 和 *M. packardii* 是喜欢被寄生的种类。寄生蝇用口器刺破蝗虫的体表并吸食其体液,然后通过伤口将卵产入到蝗虫体内,卵很快就开始孵化,在蝗虫体内完成幼虫龄期的发育,成熟幼虫从蝗虫体内钻入到土壤中化蛹,蝗虫往往在寄生蝇钻出来以前就死亡。丽蝇科 Calliphoridae,如红头丽蝇,与麻蝇科 Sarcophagidae 类似,也是蝗虫的重要天敌寄生物。记载的麻蝇科有 21~23 种是蝗虫的寄生物^[84],其产幼行为常常在寄生蝇和蝗虫飞行的时候发生,如 *Opsophyto opifera*、*Protodexia hunteri* 和 *P. reversa*,抛出一头幼虫到蝗虫体表,幼虫通过节间膜迅速钻入蝗虫体内并开始取食体液和组织,而 *Servaisia falciformis* (Aldrich) 拥有较尖锐的产卵器插入蝗虫的后腿肌肉中,产进去幼虫,幼虫取食后逐步转移到体腔中取食直到成熟。老熟幼虫钻出体外入土化蛹,这个种类是最有效的蝗虫寄生物,寄生率常常较高^[85]。寄蝇科 Tachinidae,有 6 种被报道是蝗虫的重要天敌,*Acemyia tibialis* 是主要的天敌,在美国和加拿大对蝗虫 *M. bivittatus* 和 *M. sanguinipes* 的寄生率较高。网翅虻科 Nemestrinidae 有 2 种 *Neorhynchocephalus sackenii* (Will.) 和 *Trichopsidea clausa* (Osten Sacken) 寄生蝗虫,幼虫接触 30 min 内即可刺破蝗虫躯体,进入体壁后,建立一狭长的、旋卷的呼吸管通到蝗虫体壁上,呼吸管的小端连接到体外作为空气出口,大端连接幼虫,形成呼吸袖,幼虫在体内取食蝗虫的脂肪和繁殖组织,直到完成发育,

幼虫在蝗虫死亡前钻出体外进入土壤中越冬。泥蜂科有 29 个种被记录寄生蝗虫, 有一个典型的种类 *Prionyx parkeri* Bohart and Menke 需要约 1 h 来捕捉蝗虫, 然后产卵在蝗虫成虫的体内, 孵化后寄生蜂开始取食蝗虫的组织等, 部分地区的蝗虫 *Oedaleonotus enigma* (Scudder) 被寄生蜂 *Tachysphex* spp. 的寄生率较高^[86]。

1.2.3 鸟类 食虫的鸟类很多是蝗虫的重要天敌。取食蝗虫的鸟类不仅仅对单一类型蝗虫有防治作用, 通常可以同时防治多种蝗虫^[87], 符合部分地区和草原多种蝗虫混合发生特点。不仅如此, 鸟类还是综合防治除蝗虫外兼治其他种类害虫的重要手段^[88]。在利用鸟类防治蝗虫的工作中, 主要包括研究建立草原鸟类保护区和通过构筑人工巢穴或改善栖息地来吸引捕食蝗虫的鸟类或者释放人工饲养的鸡鸭等手段。

美国在中西部草原建立了多个草原鸟类保护区, 面积超过 300 万亩, 对草原食蝗鸟类保护作用明显。近年的调查发现, 与非保护区相比, 保护区食蝗鸟类的丰富度增加明显, 如美洲歌鸟增加了 46%, 蝗草鹑增加了 52%, 莎草鹑增加了 48%等, 保护区蝗虫发生频率下降^[89]。

我国在西北地区的草原蝗区建立了多个粉红椋鸟 *Sturnus roseus* 的人工巢穴和栖息地, 吸引了大量的粉红椋鸟等进入蝗区定居或增加原住食蝗鸟类种群数量 2~3 倍^[90-92], 从而在一定区域起到长期控蝗效果。此外, 在草原上大量释放散养鸡鸭等家禽也是我国草原防治蝗虫的重要方法之一, 如在祁连山的高山草原牧鸡防蝗, 2 周后可以有效降低蝗虫的密度 40%以上, 2 月后可以降低蝗虫密度 60%。此方法不仅可以有效控蝗, 还可以产生附带经济效益, 一举两得, 成为草原绿色防治蝗虫的重要措施^[93,94]。

1.2.4 蜘蛛和螨类 蜘蛛是蝗虫重要的天敌动物, 蜘蛛纲 *Arachnida* 中有 9 种蜘蛛被报道是蝗虫的捕食者, 如蛛形纲狼蛛科 *Lycosidae* 等, 其防治蝗虫的研究也屡见报道^[95,96]。狼蛛 *Schizocosa minnesotensis* Gertsch 和跳蛛 *Pellenes* sp. 是草原上两个最丰富的种类, 是蝗虫的重要捕食性天敌动物类群, 是许多种类草原蝗虫的捕食者, 黑寡妇蜘蛛 *Latrodectus mactans* (F.) 也是蝗虫的重要捕食者, 大多数蜘蛛是广谱性而且是机会性蝗虫捕食者^[97]。

螨类是蝗虫重要的寄生性天敌动物, 如绒螨科 *Trombidiidae* 是蝗虫最重要的寄生物, 红螨寄生在蝗虫的翅膀上, 北美种类 *Eutrombidium locustarum* Walsh, 成螨在春季早期出现开始搜寻蝗虫的卵荚, 螨在卵荚里取食单个的卵直到性成熟, 交配也在卵荚里发生, 但是其产卵在土室里, 幼螨常常附在成熟蝗虫的翅膀的基部, 取食直到幼螨吃饱, 然后离开寄主钻进土壤并且转化为若螨, 若螨离开蝗虫一直到夏季末, 当新鲜的卵荚可以利用时, 更多的若螨取食蝗卵, 若螨转化为成螨并且在土壤中越冬。这些寄生螨类对蝗虫种群数量动态的影响还需要进一步研究^[98]。

1.2.5 蝗虫病原线虫 蝗虫病原线虫在自然界中存在广泛。索科线虫 *Mermithidae* 有 7 种线虫被发现寄生蝗虫, 如 *Agamospirura melanopli* Christie、*Mermis subnigrescens* Cobb、*Agamermis decaudata* Cobb, Steiner and Christie, 1923、*Amphimermis bonaerensis* Miralles and Camino, 1983、*Amphimermis dichroplusi* Camino and Lange, 1997、*Amphimermis ronderosi* Camino and Lange, 1997、*Hexamermis coelhearius* Stock and Camino, 1992, 而 *Hexamermis* sp. 被发现寄生绿纹蝗 *Chortophaga viridifasciata* (DeGeer)^[99]。蝗虫病原线虫是生活史较长的动物, 很多需要 2~4 年完成一代, 春雨和潮湿的土壤强迫抱卵的雌性线虫从土壤转移到植物上, 卵产在叶片上, 蝗蚴吃带线虫卵的草时被感染, 在消化过程中这些被感染的线虫幼虫刺破寄主的肠壁进入到体腔, 并保持 4~10 个星期, 在夏末成熟的幼虫钻出寄主(常常杀死寄主)进入土壤越冬^[100]。铁线虫亚纲 *Gordiacea* 的蠕虫型线虫, 成虫是水生且自由生活, 幼虫寄生在甲壳纲、蝗虫、蟋蟀和甲虫, 雌虫产数千卵在水中, 孵化时, 幼虫寻找成熟的水生昆虫作为初始寄主, 随后幼虫发育为陆生的并且寻找第二寄主, 常常是蝗虫、蟋蟀或甲虫等, 取食蝗虫等并发育为成虫^[101]。蠕虫型线虫是蝗虫和蟋蟀等的偶然的寄主。Umbers 等^[102]通过高通量测序技术, 研究澳大利亚的自然蝗群 *Kosciuscola tristis* 的寄生性天敌时发现病原线虫对自然蝗群的寄生率高达 25%, 蝗虫病原线虫应用前景广泛。

蝗虫的天敌动物种类繁多, 很多并没有加以深入研发, 如蜥蜴、青蛙等, 但是其在自然生态系统中的作用是明显的, 需要人们采取多种措施保护, 以便充分发挥其在生态平衡中的作用, 减轻蝗虫的为害^[103]。

1.3 防蝗天然产物

1.3.1 蝗虫化学信息物质 化学信息物质是一个个体分泌并释放到体外的, 能引起同种或异种个体的接受者发生一类特殊反应的化学物质^[104]。在节肢动物的趋性范围中, 有数千种种内通讯物质被发现。目前有

3500 多种昆虫的化学信息, 包含 8000 多种有机化合物被鉴定, 同时 3500 多种化合物可以人工合成, 有 500 余种信息物质已经达到商品化水平^[105]。

蝗虫被发现也能产生和利用化学信息物质, 最早找到的飞蝗化学信息物质是促成信息素。蝗虫化学信息物质包括种内通讯的化学信息素和种间通讯的化学信息物质。其中种内通讯的化学信息素主要有群居信息素、成熟信息素、产卵信息素(含促产卵化学信息素和群集产卵化学信息素)、性信息素、聚集信息素等; 种间通讯的化学信息物质主要介绍用于防卫的化学信息物质, 包括卵分泌的信息物质、特定腺体分泌的信息物质、粪便挥发的信息物质、口腔分泌物和内部毒素等, 对其天敌均有一定的防卫作用^[106]。研究和应用较多的是沙漠蝗和飞蝗的聚集信息素, 飞蝗的聚集信息素的主要成分是环己醇、2,5-二甲基吡嗪、壬醛、苯甲醇、(2,6,6-三甲基)1,4-环己二酮等; 而沙漠蝗蝗蛹的聚集信息素与成熟蝗虫的聚集信息素的主要活性成分不同, 成蝗聚集信息素主要活性成分是苯乙腈, 不属于蝗蛹聚集信息物质的组成成分, 相反, 它对蝗蛹有一定的抑制作用, 被苯乙腈处理过的蝗蛹, 对农药的敏感性增加, 协调应用苯乙腈防治蝗虫可以减少化学农药的使用, 保护生态环境^[107]。同时, 蝗虫的信息化学物质可以在蝗虫监测预警等方面应用, 对精准施药、降低成本和提高防效有重要作用。信息化学物质的应用是未来蝗虫绿色防控的重要措施。

1.3.2 杀蝗微生物的次生代谢物 杀蝗微生物的次生代谢产物农药, 主要是指由杀蝗细菌、真菌、放线菌等微生物产生的, 可以在较低浓度下抑制或杀死蝗虫或其他生物的低分子量次生代谢产物, 主要是抗生素(antibiotics)类物质, 以及色素分子、生物碱类、生物毒素、生长因子、酶抑制剂等。在蝗虫病原微生物次生代谢产物中研发较多的是杀蝗真菌的次生代谢产物, 如来自于杀蝗白僵菌和绿僵菌的次生物质。

Bassiacridin 是白僵菌毒素中特异性杀灭蝗虫的毒素蛋白, 其具有 β -葡萄糖苷酶、 β -半乳糖苷酶和 N-乙酰葡萄糖胺酶活性, 在极低的浓度下就可以致死蝗虫, 如注射毒素 3.3 $\mu\text{g/g}$ 重量给第 4 龄蝗虫致死率可达 50%, 可破坏蝗虫气管等上皮细胞结构, 这类单体毒素与早期明确的真菌分泌的大分子毒素蛋白 hirsutellin A 的作用方式不同^[108]。另外, 也发现了白僵菌分泌的多种小分子的真菌代谢产物和环肽类化合物, 主要包括白僵菌素, 类白僵菌素、卵孢霉素、草酸等, 也具有一定的抗菌和杀虫作用。从金龟子绿僵菌的培养液中分离到的绿僵菌素, 包含 6 种环缩肽, 其中两种杀虫活性较高, 分别被命名为 destruxin A 和 destruxin B, 两者结构均由 β -丙氨酸、丙氨酸、缬氨酸、异亮氨酸和脯氨酸这 5 种氨基酸组成, 其对沙漠蝗 *Schistocerca gregaria*、大蜡螟 *Galleria mellonella* Linnaeus、葡萄象甲 *Otiorhynchus sulcatus*、竹节虫 *Carausius* spp. 等昆虫表现出明显毒性, 致死中时 LT_{50} 在 3~8 h。当前, 从不同真菌株系分离得到的杀虫毒素有几十种, 与其有关的杀虫活性、生物合成及其致病机制的研究十分广泛^[109]。

1.3.3 杀蝗的植物次生代谢产物 杀蝗的植物次生代谢产物主要是指来自于植物的对蝗虫有明显活性的次生代谢产物。最早研究报道和利用的防蝗植物次生代谢产物是印楝素 azadirachtin。印楝素可以直接间接通过破坏蝗虫口器的化学感应器官产生拒食作用、通过对中肠消化酶的作用使得食物的营养转换不足, 影响蝗虫的生命力, 高剂量的印楝素也可以直接杀死蝗虫等昆虫, 低剂量的印楝素通过抑制脑神经分泌细胞对促前胸腺激素的合成与释放, 影响前胸腺对蜕皮甾类的合成和释放, 以及咽侧体对保幼激素的合成和释放而抑制蝗虫的生长发育。印楝素也可使蝗虫血淋巴内保幼激素正常浓度水平被破坏, 同时使得蝗虫卵成熟所需要的卵黄原蛋白合成不足而导致不育^[110]。据报道, 0.3% 的印楝素乳油施用 2 周后对草原蝗虫的防治效果可达 90% 以上^[111]。当前被认为楝科 Meliaceae、芸香科 Rutaceae、菊科 Asteraceae、胡椒科 Piperaceae、唇形科 Lamiaceae 和番荔枝科 Annonaceae 等植物次生代谢产物最有前景成为防治蝗虫的化学农药的替代物质, 最近研究发现葱科 Alliaceae、牻牛儿苗科 Geraniaceae、伞形科 Umbeliferae 等植物的提取物也对蝗虫有明显的控制效果, 其对 3 龄沙漠蝗的 LD_{50} 在 1.11~1.59 $\mu\text{g/g}$ ^[112]。我国植物源药物资源丰富, 未来防治蝗虫的植物源农药开发潜力巨大。

1.4 蝗虫综合治理技术

1.4.1 生态调控技术 蝗虫的生态调控是以草原或农田生态系统或区域性生态系统的结构、功能(能量流动、物质流动、信息流动和价值流动)的研究为基础, 根据蝗虫灾害生态调控所遵循的基本原则, 在明确目标函数、约束条件和相应对策下, 应用系统工程的原理和方法, 进行整体层次分析、结构与措施综合、优化组装等, 设计出蝗虫灾害生态调控的初步方案; 结合土壤环境、作物布局、害虫和天敌发生的实际情

况,再进行综合评价、优化和设计,决策出实施的行动方案^[113]。蝗虫的生态调控是保持蝗虫种群密度的有效措施之一。第一,减少蝗虫的食物源,在飞蝗的发生地种植蝗虫不喜食的大豆、苜蓿、果树和其他林木,可以防治蝗虫;第二,改造蝗虫的孳生地,有些蝗虫孳生地地势较低,可以把这样的地块改造成池塘,养鱼、养虾,可以使蝗虫的孳生地大大减少,可较好地防治蝗虫;第三,减少蝗虫的产卵地,有些种类的蝗虫,如飞蝗喜欢在干燥、裸露、向阳的地块产卵,可以加大植树造林的力度,增加植物的数量,使植物覆盖度达到70%以上,这样的地块就不适于蝗虫产卵了,也可以减轻蝗虫的为害;第四,种植可以招引蝗虫天敌的植物,如中华雏蜂虻和茼蒿的幼虫捕食蝗虫的卵,成虫取食花蜜或花,因此可以在蝗虫发生地种植开花植物,为天敌成虫提供补充食物,提高天敌的数量,控制蝗虫;第五,可以在蝗虫的发生地为鸟搭巢,招引鸟类来落户,防治蝗虫等生态措施,均广泛应用于蝗虫的综合防治^[114,115]。

最近研究发现,恢复草原的生态系统可以显著降低蝗虫的发生频率和种群密度。在地中海荒漠草原牧区开展的近10年的生态恢复计划,已经显示出明显的控制蝗虫的效果,在357 ha的草原恢复区域,蝗虫的丰富度显著低于非恢复区^[116]。生态治蝗是一项长期的可持续的防治蝗虫的方法,只有在不违背生态学原理的前提下开展生态治理,才能确保蝗虫的可持续治理。

1.4.2 生物多样性应用技术 生物多样性不仅可以反映群落或生境中物种的丰富度变化程度或均匀度,也可反映不同自然地理条件与群落的相互关系,可以用生物多样性来定量表征群落和生态系统的特征。蝗虫种群与生物多样性,特别是植物群落多样性有着密切的关系,并且多年来一直是生态学家研究的热点,不同类型的地带中草地植被群落的种类组成、种群特征及其种群数量都影响了不同生态系统中的生物多样性,从而影响了蝗虫的生存种类及其地理分布规律^[117]。研究发现,蝗虫种类数与植物均匀度指数极显著相关,蝗虫个体数与植物物种多样性指数显著相关。明确植物多样性指数、营养生态位与蝗虫种群的关系,以及草原植物群落结构和组成的变化与蝗虫种群组成与丰富度等的数量关系,对于揭示草原环境因素对蝗虫种群的组成与演替的影响和持续治理蝗灾有很大意义^[118]。

有关动物多样性与蝗虫之间的关系报道较少,最近报道认为黑尾草原犬鼠对北美草原生态系统的结构和功能影响很大,其他物种的多样性也受到其种群的影响,特别是对草原蝗虫多样性、丰富度及其种群结构的影响明显^[119]。研究报道,蝗虫天敌的捕食方式也影响蝗虫为优势种群的草原生态系统的功能,蜘蛛对蝗虫的捕猎方式以及蝗虫对抗蜘蛛的行为决定了蝗虫的种群密度。主动捕食蝗虫的蜘蛛可以减少植物种类的多样性,增加地上部分的净生产量和氮矿化速率,而坐等伏击蝗虫的蜘蛛则有相反的作用^[120]。生物多样性的保护和利用是蝗虫可持续控制的重要手段,蝗区生物多样性的提高有利于生态系统的平衡和健康发展,生态系统健康是确保蝗虫不暴发成灾的重要保障。

2 新技术在蝗虫生物防治中的应用

2.1 转基因技术

微生物是生物技术领域的主要模式生物之一,微生物可以为转基因技术提供工具酶和基因载体等。微生物也可以常常作为目的基因的受体细胞,将人类所需的基因转入到特定的杀蝗微生物上,让杀蝗微生物表达出人类所需要的性状,这就是杀蝗转基因微生物。

由于单细胞微生物极易受外界环境的影响而降低杀虫活性,人们将苏云金芽胞杆菌的杀虫蛋白基因导入到荧光假单胞菌中,在其发酵生成晶体蛋白后灭活,这种“生物微囊”技术加工的菌剂对紫外线的抵抗力增加了36倍,已经有多种菌剂被用于重大害虫的防治^[121]。另一方面,由于自然界中的病原真菌与寄主之间需要一个长期稳定的平衡关系,即需要一定量的生存宿主才能维持自己的种群延续。受这个自然特性限制,病原真菌对害虫毒性有一定局限性^[122],不能完全适应蝗虫大暴发时的防治和应用需求。所以,随着基因工程的发展,人们开始致力于获得毒性更大、杀虫效率更高、专一性更强的工程菌株。Zhao等^[123]将一种可结合固醇类物质的昆虫源基因 *Mr-npc2a* 横向导入白僵菌中,使 Mr-NPC2a 蛋白在白僵菌中表达,增强了白僵菌在害虫体内定殖时的细胞膜完整性,提高了其对大蜡螟 *Galleria mellonella* 的毒性。更有甚者,直接将外源毒素基因,如蝎毒 *BjaIT* 和 *LqhIT2*、神经毒素 *AaIT1* 等转入真菌中,促使毒素在真菌中表达,增强其对蝗虫的毒性,并取得良好的杀虫效果^[124-127]。最近科学家们成功将 *AaIT1* 和 hybrid-toxin 基因联合

导入杀蝗绿僵菌 *Metarhizium acridum* 中,使得杀蝗绿僵菌的 LC_{50} 和 LT_{50} 分别下降了 11.5 倍和 43%,感病蝗虫的取食量下降 78%,对蝗虫快速致死作用提高明显^[128]。

2.2 全基因组测序技术

全基因组测序,即对一种生物的基因组中的全部基因进行测序,测定其 DNA 的碱基序列。全基因组测序覆盖面广,能检测个体基因组中的全部遗传信息。飞蝗全基因组序列图谱是迄今人类破译的最大动物基因组,约 6.3 Gb。飞蝗基因组是人类的两倍多,是果蝇基因组的约 30 倍。飞蝗基因组 94%以上都被组装出来,44.7%的基因组序列已经定位到染色体水平。与其他已测序的昆虫物种相比,飞蝗基因组中参与脂肪酸合成、转运和代谢过程的许多基因家族发生明显扩增现象。而脂肪酸是大多数长距离迁飞昆虫的能量物质,这是飞蝗拥有较强飞行能力的遗传基础。飞蝗基因组中一类被称之为糖苷键转移酶的代谢解毒酶类特别多,这些酶能够降解禾本科植物中存在的特定次生代谢物,与飞蝗嗜好禾本科植物有关。与滞留飞蝗相比,迁移性飞蝗调控神经可塑性的基因在表达量、DNA 甲基化以及可变剪切方面都有明显的变化,可能调控飞蝗群集迁飞。飞蝗基因组图谱的绘制成功,让开发更高效、低毒的新型农药成为可能。科学家们预测了 51 个潜在的药物靶点基因,用于后续药物筛选工作,研制干扰飞蝗群居行为的行为调节剂^[129]。

2002 年美国的伍兹赫尔海洋生物学实验室开展了蝗虫微孢子的全基因组测序工作,其基因组覆盖率 114.62%,获得 3116 条 contigs,预测编码 2606 个基因,至 2005 年蝗虫微孢子的 cDNA 文库测序工作基本完成,但是分析发现大量微孢子基因被压缩,重叠基因表达频率较高^[130]。

同时科学家们也完成了对蝗虫有致病作用的金龟子绿僵菌、球孢白僵菌等真菌的测序工作,并比较了金龟子绿僵菌和杀蝗绿僵菌基因组组成和结构的差异,分析了寄主广谱的金龟子绿僵菌与蝗虫专化的蝗绿僵菌的基因组组成与结构的差异,推测绿僵菌由植物病原真菌进化而来,同植物病原真菌及其他丝状真菌相比,昆虫病原真菌基因组中的蛋白酶、几丁质酶及脂酶等用于昆虫体壁降解的基因家族存在显著扩张现象。相比于蝗绿僵菌,除蛋白激酶外,广谱性金龟子绿僵菌基因组编码有更多的不同蛋白基因,尤其是后者的基因组中含有大量的转座子基因以及丢失了重复引起点突变的基因组防御功能,从而促进基因组进化而适应感染不同种类的昆虫宿主。RNA-seq 高通量转录组分析表明,金龟子绿僵菌与蝗绿僵菌在不同寄主体壁信号诱导下,表达不同信号识别蛋白,诱导下游的 MAPK 和 PKA 的信号强度不同,从而精确调控细胞分化,决定了绿僵菌的寄主范围^[131]。进一步分析 7 种绿僵菌基因组信息的基础上,研究发现绿僵菌由专化性菌经过中间型过渡物种向广谱菌方向加速进化,并与昆虫寄主表现出协同进化的特征,期间伴随着基因扩张、蛋白家族扩张、基因组结构及生殖类型变化等,尤其是与昆虫寄主识别相关的 GPCR 受体蛋白家族在广谱菌中得到了显著扩张,从而能够识别及适应更多的寄主种类;广谱菌中与生物隔离相关的 HET 家族蛋白也表现出显著的基因扩张现象,从而加速了绿僵菌种化(speciation)的速率;研究同时表明绿僵菌的泛基因组是开放的,预示着仍会有新的物种形成;该研究还证明了过渡物种的存在,支持了物种进化的连续性学说。杀蝗真菌基因组的测序为进一步推动真菌杀虫毒力基因鉴定、昆虫-真菌分子相互作用及遗传改造并提高真菌杀虫剂的应用效率等基础及应用研究提供了良好的平台,同时也有利于促进真菌进化与生态学的研究^[132]。

2.3 免疫技术

昆虫的天然免疫系统主要包括细胞免疫和体液免疫。在蝗虫的免疫机制研究中,主要初步明确了飞蝗对真菌病原的免疫分子机制。飞蝗被绿僵菌侵染后,体内的脂肪体、血淋巴、中肠和体壁等的相关基因发生了很大变化,Toll 信号通路基因,如翅中模式识别受体基因 *Imgnpb-like*,*Imgnpb2* 上调表达,脂肪体和血淋巴中的 Toll 信号通路基因均上调表达,同时 β -1,3-葡聚糖识别蛋白基因(*Imbgrp*)和酚氧化酶蛋白基因(*Imppo*)均被诱导上调表达^[133]。

研究发现,蝗虫的血淋巴和上皮细胞等的防卫素是寄主蝗虫防御病原真菌和微孢子的重要手段,感病蝗虫脂肪体内的防卫素 *LmDEF 1 & 3* 增加明显,而唾液腺中的表达量要高于脂肪体,说明这些防御肽在蝗虫的病原防御中起重要作用^[134]。昆虫的免疫系统针对不同的入侵信号能够及时调整免疫反应方式,其复杂的分子机制有待进一步探索。明晰病原物对蝗虫的致病及免疫机理,对于明确病原物的作用靶标、调控因子及提高致病效果均有重要意义。

2.4 生物安全性评价技术

生物治蝗是蝗虫综合治理的主要绿色方式,主要包括有益生物的保护、增殖和释放以及引进等措施。特别是从非本土区域引进的天敌,要注意引进生物应用的安全性,其潜在的负面作用包括:非靶标生物的替代、对人和其他生物的过敏特性、对非靶标生物的毒性和对非靶标生物的致病性。引进有益生物的风险主要因为生物地理因素和遗传上改变,同时产生风险的概率也与生物制剂的剂型和应用方法有关,如喷雾、土壤处理、饵剂和种子处理等使用方法的差异,或者接种释放、增殖释放或淹没释放等不同策略,都可带来不同的风险,因此要比较和评估不同措施所带来风险的概率,选择风险最小的策略和手段^[135]。

球孢白僵菌和绿僵菌是目前在蝗虫防治中考虑较多的可替代化学农药的生物制剂,其释放到草原或者农田生态系统中,特别是淹没释放,必须要考虑其对环境中非靶标生物的安全,尤其是非本地菌株引进到一个新的环境中,要充分评估其可能的负面影响,如微生物竞争性替代以及对非靶标生物的毒性和致病性等^[136]。

另一个在蝗虫生物防治应用较多的生物制剂是蝗虫微孢子制剂。尽管较少有其对非靶标生物的安全性研究,但是当前已经明确其对脊椎动物是安全的,超过 35℃微孢子就不能正常发育,因此哺乳动物和鸟类就可以排除在蝗虫微孢子的寄主之外。蝗虫微孢子目前只发现寄生蝗虫和蟋蟀,专一性较强,而鱼也有自己的微孢子寄生物,不能被蝗虫的微孢子所致病。因此,蝗虫微孢子相对安全,但要进一步评估其对中性昆虫的影响^[137]。

如何降低外来引入的有益生物的安全风险,是大家一直关注的问题。无论如何,生物防治对非靶标生物的风险远远低于人类干扰的风险。降低风险的措施包括提高检疫工作的有效性、筛选目标引进生物、减少引进生物的种类和数量、改进对寄主的物候学、栖息地和气候适应范围的筛选,了解引进生物的进化和动态信息等,均能有效防范引进风险^[138]。

3 蝗虫生物防治现阶段存在的问题及其成因分析

生物防治蝗虫有许多优点,如对非靶标生物无毒、无害,对蝗虫不容易产生抗药性,对环境无污染,具有较好持续控制蝗虫的作用等。因此,生物防治在包括蝗虫在内的植物病虫害防治中的应用越来越受到人们的关注,但在科学研究和实际生产应用中仍存在问题,本文对一些主要问题及成因进行了系统的阐述,并提出了相应的对策,以便为蝗虫生物防治的发展提供必要的参考。

3.1 生物防治制剂应用比例偏低

据世界农化网介绍,生物农药全球施用量仅为农药总量的 20%左右,而且生物农药的主要市场在美国、加拿大和欧洲,占 70%以上。我国生物制剂产量和施用量低于世界平均值,占我国农药总使用量 10%以下。农药信息网显示我国在农业部正式登记的杀蝗生物制剂只有 7 个产品,真菌生物制剂 4 个,微孢子制剂 1 个,植物源制剂 2 个。而国外开展生物制剂登记工作比我国早约 30 年,据不完全统计,登记应用的杀蝗虫生物制剂有 50 多种,仅仅微孢子杀蝗生物制剂就登记了 5 个产品,其他主要是植物源和真菌类杀蝗剂等。究其原因认为一是我国开展生物防治制剂的研发比较晚,如国外开展生物防治的研发始于 18 至 19 世纪,而我国始于解放后,特别是早期生物治蝗重视程度低,重化学防治轻生物防治的现象一直存在,导致生物防治在病虫害防治中的比重偏低;二是我国缺乏专业的蝗虫生防防治理论与技术研发平台,而美国农业部的草地昆虫研究中心、欧洲法国蝗虫研究所、澳大利亚的疫蝗委员会、尼日利亚的国际热带昆虫研究中心、肯尼亚的国际昆虫生理生态研究中心等专业的蝗虫研究机构是世界主要的蝗虫生防技术和理论创新平台,如防蝗的真菌制剂、微孢子制剂、化学信息物质和细菌制剂等均由这些机构首创;三是我国政府早期对生态安全的意识薄弱,如美国、加拿大和澳大利亚等国的国有草地害虫治理要求首选生物防治制剂,而我国政府首选采购的是化学农药。市场需求促进研发和生产,各级部门应该加大生物治蝗的推进力度,特别是加快转变病虫害防治观念,促进生物制剂的大量应用,保护生态环境和安全。

3.2 生物制剂品种和剂型较少

国外除了多种真菌类防蝗生物制剂外,还包括有细菌、线虫和天敌昆虫等多种生物制剂,包括油包水剂、饵剂、水悬剂等剂型,但是远远少于化学农药的品种和剂型。我国目前的杀蝗生物制剂主要是真菌类

生物制剂,主要为油剂,品种和剂型较单一。分析原因认为,一方面,我国开展蝗虫生物防治理论与技术研发较少,从发表蝗虫生物防治的文献最多的20个国家来看,西方发达国家占有绝对地位,占发表文献总量的70%以上,而中国仅仅占文献总量的不到10%;发表蝗虫生物防治文献最多的10位科学家中没有中国的科学家;发表蝗虫生物防治文献最多的20个机构中只有3家中国的机构。另一方面,我国在蝗虫生物防治理论与技术创新能力较滞后,从发表的相关蝗虫生物防治外文文献中被引频次最高的20篇文献看,这些文献主要来源于英国、美国、加拿大等西方国家;这些高频影响的文献也主要来自于美国和英国等西方国家的研发机构和专家。三是我国政府在蝗虫的生物防治理论与技术方面的研究投入低。从收集到的文献分析,我国发表的相关蝗虫防治文献主要来自于非基金的支持,造成了相关研究和技术专利创新滞后。总体来看,生物制剂的品种和剂型远远少于化学农药。政府应该建立专业的蝗虫防治研发平台,加大新技术研发资金投入,培养后备人才。

3.3 生物防治成本相对较高

利用微生物制剂防治蝗虫的即时成本比化学农药要高3~5倍。病毒和微孢子等必须采用活体扩繁技术,而增殖寄主的大规模饲养主要靠人工,工业化程度低,生产成本低;真菌微生物制剂虽然可以通过固体或者液体发酵技术大规模的生产,但其设备昂贵、生产工艺复杂和影响因素多等,这些拉高了生物制剂的成本。而且与发达国家相比,我国微生物产品的发酵和制剂水平仍存在一定差距。国外生产上多采用高效广谱工程菌株,发酵水平较高,发酵产品回收率高,剂型多样。而国内大部分液体发酵工艺主要采用批式发酵技术,后提取技术采用离心浓缩工艺导致发酵液中增效因子等有效成分大量损失,喷雾干燥设备也制约了产品回收率的提高^[139]。另一方面,生物制剂的使用技术相对化学农药复杂,一般需要培养专业的人员来指导生物制剂的应用才能达到效果。我们应该深入研究主要病原物的活体扩繁技术和绿色发酵工艺,降低生产成本。

3.4 生物制剂效果受环境影响较大

田间生物防治效果主要与生防物对环境的适应性有关。如真菌类生物制剂主要适应于湿地蝗虫的防治,其抗干旱、抗高温和抗紫外线灯的能力差,影响了它的定殖和防效。而病毒和微孢子制剂受环境因子影响相对较小,但其与植被种类和覆盖度关系密切,植被不同影响蝗虫的取食从而影响了病原物的侵染效果和防效,植被覆盖较高采用超低喷雾可以保证防效,而植被覆盖低于40%则不适于采用超低喷雾的方法,否则效果较低,不易控制蝗虫的为害。同时,生物防治制剂的效果也受到土壤pH、田间残留的农药或施用农药种类等有关。在田间施用时引入生防微生物在不同地点、不同时间的防治效果均不同,这是其大规模商品化应用于农业生产的一个重要制约因子。应该加大剂型的研究,保护病原物降低环境对其活性的影响,延长其在环境的存活期;同时开展对病原物的遗传改造,提高其抗逆性。

4 蝗虫生物防治展望和发展趋势

蝗虫防治是一项永恒的课题。近年来蝗灾在世界范围内此起彼伏,在我国也有严重发生趋势。化学农药作为蝗灾控制的应急手段当前不可或缺,但其对环境、生态和非靶标生物等的长期影响促使人类不得不寻求更加安全的策略和技术。而生物防治策略和技术是当前可选的与环境兼容、生态友好和持续性好的适宜途径。生物防治制剂来自于自然界,原料来源广泛,对非靶标生物安全、毒副作用小、对靶标不易产生抗性等特点,已成为全球农药产业发展的新趋势^[140]。到目前为止,我国生物农药生产企业260多家,占农药生产企业的约10%,年产约14万吨生物农药制剂,年产值约40亿元人民币,约占农药总产量和产值的9%。据世界农化网不完全统计,2017年全球新登记生物农药品种约23种,涵盖微生物、植物及动物源生物农药等多种类型。其中,微生物源生物农药占绝对优势,成为该年度登记主流品种。生物农药是一个新兴市场,发展迅速,特别是随着生物农药研发投资的迅速增加、更加成熟的IPM技术和ICM理念、有机作物种植面积扩展等促进了生物农药行业的快速发展。

在生物制剂研发方面,特别是进入新世纪以来,随着分子生物学技术、基因工程、细胞工程、蛋白质工程、发酵工程、酶工程等高新技术的快速发展,并逐渐渗透到生物农药研发生产中,使其展现出良好的应用前景和巨大的社会和经济效益,成为各国植物保护研发机构的研究热点。目前科学家们已研制出一系

列新的生物制剂规模化生产技术,如我国已研究出真菌杀虫剂工业化大规模生产新工艺——气相双动态固态发酵新技术,从根本上解决了常规开放式发酵易染菌、发酵参数难以控制,产品质量不稳定的弊病;新工艺使染菌率降低到0.1%以下,发酵水平比常规固态发酵提高1~2倍,产品生产成本降低50%以上。从收集到的信息来看,蝗虫生物防治的研究展现出以下发展趋势:(1)高效、广谱、抗逆的防蝗生物制剂筛选与遗传改良相结合;(2)重要防蝗代谢产物筛选及其表达调控网络改造相结合;(3)绿色高效防蝗生物制剂的生产工艺与剂型研究相结合;(4)防蝗生物载体优化和智能化纳米材料创制相结合;(5)生物制剂与化学合成制剂的相互作用机制及协调应用技术研究;(6)多种配套综合防治蝗虫新技术体系建立与应用研究等。

生物农药的优越特性比以往任何时期都更受到世界各国政府的重视。美国是生物防治理论和技术研发进展最快,推广面积最大的西方国家,2015年美国农业部启动了以生物防治为主的有害生物综合治理专项国家计划(Crop Production and Protection (CPP) National Programs),包括各类生态系统中的有害生物控制和多种生物防治资源研发和利用项目25项。我国农业部将大力推动农作物病虫害统防统治和绿色防控,优先采用生物防治、物理防治和生态控制措施。到2020年,主要农作物病虫害绿色防控覆盖率达到30%,化学农药使用量实现零增长。与此同时,农业部办公厅制订了《全国蝗虫灾害可持续治理规划(2014—2020年)》,规划指出优先采用生物防治蝗虫技术,包括微孢子、真菌、植物源农药等,力争生物防治比例每年提高2~4个百分点,2020年农区和牧区生物防治比例均提高到60%~70%以上,达到5.4亿亩。2016年4月,农业部畜牧业管理司和全国畜牧总站联合召开了全国草原蝗虫防控工作部署会,成立了全国微生物防治蝗虫协作组,全面推广微生物防治蝗虫新技术,确保“十三五”期间实现全国蝗灾可持续治理规划中的目标。

参 考 文 献

- [1] Simpson, S J, Sword G A. Locusts[J]. Current Biology, 2008, 18(9): 364-366.
- [2] DAWR. <http://www.agriculture.gov.au/pests-diseases-weeds/locusts/about/history>, 2017.
- [3] Ryckman L L. The great locust mystery. Rocky Mountain News. Retrieved May 20, 2007.
- [4] Streett D A. Future prospects for microbial control of grasshoppers[M]//Capinera J L, ed. Integrated Pest Management on Rangeland: A Shortgrass Prairie Perspective. Boulder, CO: Westview Press, 1987, 205-218.
- [5] Henry J E. Experimental application of *Nosema Locustae* for control of grasshoppers[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 1971, 18(3): 389-394.
- [6] Lange C E. The host and geographical range of the grasshopper pathogen *Paranosema (Nosema) locustae* revisited[J]. Journal of Orthoptera Research, 2005, 14(2): 137-141.
- [7] Zhang K, Xing X, Hou X, et al. Population dynamics and infection prevalence of grasshopper (Orthoptera: Acrididae) after application of *Paranosema Locustae* (Microsporidia)[J]. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 2015, 25(1): 33-38.
- [8] Shi W P, Wang Y Y, Lu F, et al. Persistence of *Paranosema (Nosema) locustae* among grasshopper populations in the Inner Mongolia Rangeland, China[J]. BioControl, 2009, 54(1): 77-84.
- [9] Stentiford G D, Becnel J J, Weiss L M, et al. Microsporidia-emergent pathogens in the global food chain[J]. Trends in Parasitology, 2016, 32(4): 336-348.
- [10] Lockwood J A, Bomar C R, Ewen A B. The history of biological control with *Nosema locustae*: lessons for locust management[J]. International Journal of Tropical Insect Science, 1999, 19(4): 333-350.
- [11] Henry J E. Epizootiology of infection by *Nosema locustae* Canning (Microsporidia: Nosematidae) in grasshoppers[J]. Acrida, 1972, 1: 111-120.
- [12] 王丽英. 蝗虫微孢子虫对东亚飞蝗及蒙新草原蝗虫的感染试验[J]. 北京农业大学学报, 1987, 13(4): 459-462.
- [13] 董雁军. 应用蝗虫微孢子虫在内蒙古典型草原防治蝗虫的初步试验[D]. 北京: 北京农业大学, 1989.
- [14] Guo Y, An Z, Shi W. Control of grasshoppers by combined application of *Paranosema locustae* and an insect growth regulator (Cascade®) in rangelands in China[J]. Journal of Economic Entomology, 2012, 105(6): 1915-1920.
- [15] 石旺鹏, 严毓骅, 朱恩林, 等. 海南省撩荒地生态系统飞蝗的持续控制[J]. 植物保护学报, 2001, 28(3): 207-212.
- [16] Shi W P, Wang Y Y, Lü F. Persistence of *Paranosema (Nosema) locustae* (Microsporidia: Nosematidae) among grasshopper (Orthoptera: Acrididae) populations in the Inner Mongolia Rangeland, China[J]. BioControl, 2009, 54(1): 77-84.

- [17] Miao J, Guo Y, Shi W P. The persistence of *Paranosema locustae* after application in Qinghai Plateau, China[J]. Biocontrol Science and Technology, 2012, 22: 733-735.
- [18] Henry J E, Jutila J W. The isolation of a polyhedrosis virus from a grasshopper[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 1966, 8(3): 417-418.
- [19] Lange C E, Wysiecki M L. Epizootias de *Nosema locustae* (Microsporidia) in *Melanoplus* (*Melanoplinae*) de Buenos Aires y La Pampa[J]. Revista La Sociedad Entomologica Argentina, 1999, 58: 76-78.
- [20] 任程, 蒋湘, 石旺鹏. 蝗虫微孢子虫防治青藏高原蝗虫对主要天敌种群数量的影响[J]. 黑龙江畜牧兽医, 2004, 4: 11-13.
- [21] Christian B, Yanina M, Santiago P. Status of the alien pathogen *Paranosema locustae* (Microsporidia) in grasshoppers (Orthoptera: Acridoidea) of the Argentine Pampas[J]. Biocontrol Science and Technology, 2012, 22(5): 497-512.
- [22] Plischuk S, Bardi C J, Lange C E. Spore loads of *Paranosema locustae*, (Microsporidia) in heavily infected grasshoppers (Orthoptera: Acridoidea) of the Argentine Pampas and Patagonia[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2013, 114(1): 89-91.
- [23] Shi W P, Guo Y, Xu C, et al. Unveiling the mechanism by which microsporidian parasites prevent locust's swarm behavior[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111(4): 1343-1348.
- [24] Sergey A T, Igor V S, Alexander A T, et al. Heterologous expression of *Paranosema (Antonospora) locustae* hexokinase in lepidopteran, Sf9, cells is followed by accumulation of the microsporidian protein in insect cell nuclei[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2017, 143: 104-107.
- [25] Lomer C J, Bateman R P, Johnson D L, et al. Biological control of locusts and grasshoppers[J]. Annual Review of Entomology, 2001, 46: 667-702.
- [26] Ramoska W A, Hajek A E, Ramos M E, et al. Infection of grasshoppers (Orthoptera: Acrididae) by members of the *Entomophaga grylli* species complex (Zygomycetes: Entomophthorales)[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 1988, 52: 309-313.
- [27] Bidochka M J, Walsh S R A, Ramos M E, et al. Pathotypes in the *Entomophaga grylli* species complex of grasshopper pathogens differentiated with random amplification of polymorphic DNA and cloned-DNA probes[J]. Applied and Environmental Microbiology, 1995, 61: 556-560.
- [28] Bidochka M J, McDonald M A, St. Leger R J, et al. Differentiation of species and strains of entomopathogenic fungi by random amplification of polymorphic DNA (RAPD)[J]. Current Genetics, 1994, 25: 107-113.
- [29] Goettel M S, Dan L J, Inglis G D. The role of fungi in the control of grasshoppers[J]. Canadian Journal of Botany, 2011, 73(S1): 71-75.
- [30] Goettel M S. Fungal agents for biocontrol[M]//Lomer C J, Prior C, eds. Biological Control of Locusts and Grasshoppers. Wallingford, UK: C.A.B. International, 1992, 122-132.
- [31] Chase A R, Osborne L S, Ferguson V M. Selective isolation of the entomopathogenic fungi *Beauveria bassiana* and *Metarhizium anisopliae* from an artificial potting medium[J]. Florida Entomologist, 1986, 69: 285-292.
- [32] Gupta R K, Stefan T, Jaronski K S. First record on epizootics of *Entomophthora grylli* on grasshopper in Indian subcontinent: pathogen city and biocontrol potential on *Oxya velox*[J]. Archives of Phytopathology and Plant Protection, 2011, 44(5): 475-483.
- [33] Pelizza S A, Stenglein S A, Cabello M N. First record of *Fusarium verticillioides* as an entomopathogenic fungus of grasshoppers[J]. Journal of Insect Science, 2014, 11(1): 56-64.
- [34] Gao Q, Jin K, Ying S H, et al. Genome sequencing and comparative transcriptomics of the model entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *M. acridum*[J]. PLoS Genetics, 2011, 7(1): e1001264.
- [35] Wang C, Feng M. Advances in fundamental and applied studies in China of fungal biocontrol agents for use against arthropod pests[J]. Biological Control, 2014, 68(1): 129-135.
- [36] Haroon W M, Christine P, Jean-Michel V. Laboratory and field investigation of a mixture of *Metarhizium acridum* and neem seed oil against the tree locust *Anacridium melanorhodon melanorhodon* (Orthoptera: Acrididae)[J]. Biocontrol Science and Technology, 2011, 21(3): 353-366.
- [37] 秦启联, 程清泉, 张继红, 等. 昆虫病毒生物杀虫剂产业化及其展望[J]. 中国生物防治学报, 2012, 28(2): 157-164.
- [38] Streett D A, Woods S A, Erlandson M A. Entomopoxviruses of grasshoppers and locusts: biology and biological control potential [J]. Memoirs of the Entomological Society of Canada, 1997, 129(171): 115-130.
- [39] 黄传贤. 西伯利亚蝗的一种昆虫痘病毒[J]. 植物保护, 1981, 7(5): 12.
- [40] 王丽英. 我国草原蝗虫痘病毒资源调查[J]. 中国农业科学, 1994, 27(4): 60-63.
- [41] Jenkins N E, Goettel M S. Methods for mass-production of microbial control agents of grasshoppers and locusts[J]. Microbial Control of Grasshoppers and Locusts, 1997, 129(171): 37-48.
- [42] Jaeger B, Langridge W H R. Infection of *Locusta migratoria*, with entomopoxviruses from *Arphia conspersa*, and *Melanoplus sanguinipes*,

- grasshoppers[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 1984, 43(3): 374-382.
- [43] Mcguire M R, Streett D A, Shasha B S. Evaluation of starch encapsulation for formulation of grasshopper (Orthoptera: Acrididae) entomopoxviruses[J]. Journal of Economic Entomology, 1991, 84(6): 1652-1656.
- [44] Erlandson M A, Streett D A. Entomopoxviruses associated with grasshoppers and locusts: biochemical characterization[J]. Memoirs of the Entomological Society of Canada, 1997, 129(171): 131-146.
- [45] Afonso C L, Tulman E R, Lu Z. The genome of *Melanoplus sanguinipes* entomopox virus[J]. Journal of Virology, 1999, 73(1): 533-552.
- [46] Oulebsir-Mohandkaci H, Khemili-Talbi S, Benzina F. Isolation and identification of entomopathogenic bacteria from Algerian desert soil and their effects against the migratory locust, *Locusta migratoria* (Linnaeus, 1758) (Orthoptera: Acrididae)[J]. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 2015, 25(3): 739-746.
- [47] Kaci H O M, Talbi-Khemili S, Gana-Kebbouche S, *et al.* Antagonistic activity of two *Bacillus* sp. strains isolated from an Algerian soil towards the migratory locust *Locusta migratoria* (Linnaeus 1758)[J]. Agriculture and Forestry, 2016, 62(1): 145-154.
- [48] Arif B M. The entomopoxviruses[J]. Advances in Virus Research, 1984, 29: 195-213.
- [49] Greathead D J. Natural enemies of tropical locusts and grasshoppers: their impact and potential as biological control agents[M]//Lomer C J, Prior C, eds. Biological Control of Locusts and Grasshoppers. Wallingford, UK: C.A.B. International, 1992, 105-121.
- [50] Bensimon A S, Zinger E, Gerasi A, *et al.* "Dark cheeks," a lethal disease of locusts provoked by a lepidopterous baculovirus[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 1987, 50: 254-260.
- [51] Palma L. Vip3C, a novel class of vegetative insecticidal proteins from *Bacillus thuringiensis*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2012, 78(19): 7163-7165.
- [52] Britschgia A, Spaarb R, Arlettaza R. Impact of grassland farming intensification on the breeding ecology of an indicator insectivorous passerine, the Whinchat *Saxicola rubetra*: Lessons for overall Alpine meadowland management[J]. Biological Conservation, 2006, 130: 193-205.
- [53] d'Herelle F. Sur une épizootie de natur bactérienne sévissant sur les sauterelles au Mexique[J]. Comptes Rendus de l'Académie des Sciences, 1911, 152: 1413-1415.
- [54] Stevenson J P. Epizootology of a disease of the desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forskäl), caused by nonchromogenic strains of *Serratia marcescens* Bizio[J]. Journal of Insect Pathology, 1959, 1: 232-244.
- [55] Capinera J L. Population ecology of rangeland grasshoppers[M]//Capinera J L, ed. Integrated Pest Management on Rangeland: A Shortgrass Prairie Perspective. Boulder, CO: Westview Press, 1987, 162-182.
- [56] 刘世贵 袁兴. 一株蝗虫病原菌的分离和鉴定[J]. 微生物学报, 1995, 35(2): 86-90.
- [57] 张文, 杨志荣, 朱文. 类产碱假单胞菌杀虫物质的分离纯化和鉴定[J]. 微生物学报, 1998, 1: 57-62.
- [58] Zhang J, Zhao J, Li D. Cloning of the gene encoding an insecticidal protein in *Pseudomonas pseudoalcaligenes*[J]. Annals of Microbiology, 2009, 59: 45-50.
- [59] 尹鸿翔, 张杰, 侯若彤. 一株几丁质酶产生菌的分离鉴定及其灭蝗增效作用[J]. 植物保护, 2004, 30(2): 37-41.
- [60] Aronson A I, Beckman W, Dunn P. *Bacillus thuringiensis* and related insect pathogens[J]. Microbiological Review, 1986, 50: 1-24.
- [61] de Maagd R, Bravo A, Berry A C, *et al.* Structure, diversity, and evolution of protein toxins from spore-forming entomopathogenic bacteria[J]. Annual Review of Genetic, 2003, 37: 409-433.
- [62] Wei J Z. *Bacillus thuringiensis* crystal proteins that target nematodes[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2003, 100: 2760-2765.
- [63] Kotze A C. Toxicity of *Bacillus thuringiensis* to parasitic and free-living life-stages of nematode parasites of livestock[J]. International Journal of Parasitology, 2005, 35: 1013-1022.
- [64] Bravo A, Soberon M. How to cope with insect resistance to Bt toxins?[J]. Trends of Biotechnology, 2008, 26: 573-579.
- [65] Prior C, Greathead D J. Biological control of locusts: the potential for the exploitation of pathogens[J]. FAO Plant Protection Bulletin, 1989, 37: 37-48.
- [66] Song L, Gao M, Dai S Y. Specific activity of a *Bacillus thuringiensis* strain against *Locusta migratoria manilensis*[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2008, 98(2): 169-176.
- [67] Wu Y, Lei C F, Yi D. Novel *Bacillus thuringiensis* Delta-Endotoxin active against *Locusta migratoria manilensis*[J]. Applied and Environmental Microbiology, 2011, 77(10): 3227-3323.

- [68] Quesada-Moraga E, Santiago-Alvarez C. Histopathological effects of *Bacillus thuringiensis*, on the midgut of the Mediterranean locust *Dociostaurus maroccanus*[J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2001, 78(3): 183-186.
- [69] Barakat E M S, Abd-El Aziz M F, El-Monairy O M. Interactions of host plants and *Bacillus thuringiensis israelensis* injection on the performance and midgut protein profile of *Schistocerca gregaria* Forskal, adults[J]. Egyptian Journal of Biological Pest Control, 2015, 25(1): 205-212.
- [70] Umbers K D L, Byatt L J, Hill N J, *et al.* Prevalence and molecular identification of nematode and dipteran parasites in an Australian alpine grasshopper (*Kosciuscola tristis*)[J]. PLoS ONE, 2015, 10(4): e0121685.
- [71] Songa J M, Holliday N J. Laboratory studies of predation of grasshopper eggs, *Melanoplus bivittatus* (Say), by adults of two species of *Pterostichus bonelli*[J]. Environment, 1985, 12(2): 157-163.
- [72] Smith D I, Lockwood J A. Horizontal and trophic transfer of diflubenzuron and fipronil among grasshoppers (*Melanoplus sanguinipes*) and between grasshoppers and darkling beetles (Tenebrionidae)[J]. Archives of Environmental Contamination and Toxicology, 2003, 44(3): 377-382.
- [73] Fielding D J, Defoliart L S, Hagerty A M. Effects of carbaryl-bran bait on trap catch and seed predation by ground beetles (Coleoptera: Carabidae)[J]. Journal of Economic Entomology, 2013, 106(2): 669-674.
- [74] Dysart R J. Biological notes on two chloropid flies (Diptera: Chloropidae), predaceous on grasshopper eggs (Orthoptera: Acrididae)[J]. Journal of the Kansas Entomological Society, 1991, 64: 225-230.
- [75] Howe F P. Two new host species for the parasitic blow fly *Protocalliphora braueri*[J]. Wilson Bulletin, 1991, 103: 520-521.
- [76] Sabrosky C W. A new genus and species of Chloropidae (Diptera) predaceous on grasshopper eggs[J]. Journal of the Kansas Entomological Society, 1991, 64: 221-224.
- [77] 王振平, 严毓骅. 蝗虫天敌可利用性分析及研究进展[J]. 中国草地, 1999, 6: 54-58.
- [78] Prior C, Greathead D J. Biological control of locusts: the potential for the exploitation of pathogens[J]. United Nations Food and Agriculture Organization Plant Protection Bulletin, 1989, 37(1): 37-48.
- [79] Rees N E. Suitability of selected North American grasshopper species as hosts for grasshopper parasites from Pakistan[J]. Agriculture Ecosystems and Environment, 1985, 12(2): 157-163.
- [80] Miura K, Ohsaki N. The cost of autotomy caused by the parasitoid fly *Blaesoxipha japonensis*, (Diptera: Sarcophagidae): an interspecific comparison between two sympatric grasshopper host species[J]. Ecological Research, 2015, 30(1): 33-39.
- [81] Shima H, Takahashi H. *Tetrigimya minor*, a new genus and species of Tachinidae (Diptera) parasitic on *Formosatettix larvatus* (Orthoptera: Tettigidae) in Japan[J]. Zootaxa, 2011, 29(21): 39-46.
- [82] Dysart R J. New host records of North American *Scelio* (Hymenoptera: Scelionidae), parasites on grasshopper eggs (Orthoptera: Acrididae)[J]. Journal of the Kansas Entomological Society, 1995, 68: 74-79.
- [83] Rees N E, Onsager J A. Parasitism and survival among rangeland grasshoppers in response to suppression of robber fly (Diptera: Asilidae) predators[J]. Environmental Entomology, 1985, 14: 20-23.
- [84] Rees N E, Onsager J A. Parasitism and survival among rangeland grasshoppers in response to suppression of robber fly (Diptera: Asilidae) predators[J]. Environmental Entomology, 1985, 14: 20-23.
- [85] Shewell G E. Sarcophagidae[M]//McAlpine J F, ed. Manual of Nearctic Diptera. Lethbridge, CN: Agriculture Canada, Research Branch, Biosystematics Research Center, 1987, 1159-1186.
- [86] Greathead D J. Natural enemies of tropical locusts and grasshoppers: their impact and potential as biological control agents[M]//Lomer C J, Prior C, eds. Biological Control of Locusts and Grasshoppers. Wallingford, UK: C.A.B. International, 1992, 105-121.
- [87] Jules A M, Raholijaona G J. Predation capability of black kite (*Milvus migrans parasitus*) on locust as a biological control option in Madagascar[J]. Open Journal of Ecology, 2016, 6(5): 254-263.
- [88] Basheer P P M, Thomas S K. Indian treepeep dendrocitta *vagabunda parvula* (Latham, 1790) (Passeriformes: Corvidae) as a natural enemy of the pests of coconut and areca palm plantations[J]. Journal of Biopesticides, 2012, 5: 205-208.
- [89] Wilsey C B, Jensen C M, Miller N. Quantifying avian relative abundance and ecosystem service value to identify conservation opportunities in the Midwestern US[J]. Avian Conservation and Ecology, 2016, 11(2): 11-16.
- [90] Lala F, Wagiman F X, Putra N S. The introduction impact of predatory bird *Lanius schach* Linn. on population of long horn grasshopper *Sexava nubila* Stal. and leaves damage of coconut[J]. Journal of Agricultural and Biological Science, 2014, 9(2): 71-75.

- [91] Lyons T P, Miller J R, Debinski D M. Predator identity influences the effect of habitat management on nest predation[J]. *Ecological Applications*, 2015, 25(6): 1596-1605.
- [92] 吴建国, 周多林, 肖宏伟. 粉红椋鸟生物学特性及控制蝗害的研究与示范推广[J]. *新疆畜牧业*, 2015, 9: 59-61.
- [93] George T L, McEwen L C. Relationships between bird density, vegetation characteristics, and grasshopper density in mixed grass prairie of western North Dakota[M]//McCullough D R, Barrett R H, eds. *Wildlife 2001: Populations*. London and New York: Elsevier Publishers, 1992, 465-475.
- [94] 麦迪·库尔曼, 郭宏. 塔城天然草原养鸡生物治蝗新品种效果试验[J]. *新疆畜牧业*, 2015, 4: 59-62.
- [95] Huang X, Wu H, Tu X. Diets structure of a common lizard *Eremias argus* and their effects on grasshoppers: implications for a potential biological agent[J]. *Journal of Asia-Pacific Entomology*, 2015, 19(1): 133-138.
- [96] Laws A N, Joern A. Predator-prey interactions are context dependent in a grassland plant-grasshopper-wolf spider food chain[J]. *Environmental Entomology*, 2001, 44(3): 519-528.
- [97] Wineland S M, Kistner E J, Joern A. Non-Consumptive Interactions between grasshoppers (Orthoptera: Acrididae) and wolf spiders (Lycosidae) produce trophic cascades in an old-field ecosystem[J]. *Journal of Orthoptera Research*, 2015, 24(1): 41-46.
- [98] Huggans J L, Blickenstaff C C. Parasites and predators of grasshoppers in Missouri[M]. Columbia, MO: University of Missouri and Missouri Agricultural Experiment Station, 1966, 40.
- [99] Streett D A, McGuire M R. Pathogenic diseases of grasshoppers[M]//Chapman R F, Joern A, eds. *Biology of Grasshoppers*. New York: John Wiley and Sons, 1990, 483-516.
- [100] San-Blas E. Progress on entomopathogenic nematology research: A bibliometric study of the last three decades: 1980-2010[J]. *Biological Control*, 2013, 66(2): 102-124.
- [101] 吴文丹, 尹姣, 曹雅忠. 我国昆虫病原线虫的研究与应用现状[J]. *中国生物防治学报*, 2014, 30(6): 817-822.
- [102] Rees N E. Arthropod and Nematode Parasites, Parasitoids, and Predators of Acrididae in America North of Mexico[M]. Washington, DC: U.S. Department of Agriculture, Agricultural Research Service, 1973, 288.
- [103] Terao M, Hirose Y, Shintani Y. Food-availability dependent premature metamorphosis in the bean blister beetle *Epicauta gorhami*, (Coleoptera: Meloidae), a hypermetamorphic insect that feeds on grasshopper eggs in the larval stage[J]. *Entomological Science*, 2014, 17(1): 85-93.
- [104] Cardé R T, Willis M A. Navigational strategies used by insects to find distant, wind-borne sources of odor[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2008, 34(7): 854-886.
- [105] Wajnberg E, Colazza S. *Chemical Ecology of Insect Parasitoids*[M]. UK: Blackwell Publishing, 2013.
- [106] Fuzeau-Braesch E, Genin E, Jullien R, *et al.* Composition and role of volatile substances in atmosphere surrounding two gregarious locusts, *Locusta migratoria* and *Schistocerca gregaria*[J]. *Journal of Chemical Ecology*, 1988, 14: 1023-1033.
- [107] Shi W P. Advanced in research on semiochemicals of grasshopper and locust[J]. *Chinese Bulletin of Entomology*, 2005, 42(3): 244-249.
- [108] Quesada-Moraga E, Vey A. Bassiacridin, a protein toxic for locusts secreted by the entomopathogenic fungus *Beauveria bassiana*[J]. *Mycological Research*, 2004, 108(4): 441-452.
- [109] Cito A, Barzanti G P, Strangi A, *et al.* Cuticle-degrading proteases and toxins as virulence markers of *Beauveria bassiana* (Balsamo) Vuillemin[J]. *Journal of Basic Microbiology*, 2016, 56(9): 941-948.
- [110] Rembold H. Controlling locusts with plant chemicals[M]//Krall H W, Ed. *New Trends in Locust Control*. Eschborn: TZ-Verlagsgesellschaft Rossdorf, 1994, 41-49.
- [111] 高书晶, 刘爱萍, 徐林波, 等. 印楝素和阿维·苏云菌对草原蝗虫的防治效果试验[J]. *现代农药*, 2010, 9(2): 44-46.
- [112] Sameeh A M, Asmaa Z E, Neama A A. Toxicity of essential plant oils, in comparison with conventional insecticides, against the desert locust, *Schistocerca gregaria* (Forskål)[J]. *Industrial Crops and Products*, 2015, 63: 92-99.
- [113] Sun T, Liu X L, Sun G J, *et al.* Grasshopper plagues control in the Alpine rangeland of the Qilian Mountains, China. A socioeconomic and biological approach[J]. *Land Degradation and Development*, 2016, 27(7): 1763-1770.
- [114] Thomas M B. Ecological approaches and the development of “truly integrated” pest management[J]. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 1999, 96(11): 5944-5951.
- [115] 陈永林. 中国主要蝗虫及蝗灾的生态学治理[M]. 北京: 科学出版社, 2007, 302-326.
- [116] Alignan J F, Debras J F, Dutoit T. Effects of ecological restoration on Orthoptera assemblages in a Mediterranean steppe rangeland[J]. *Journal of Insect*

- Conservation, 2014, 18(6): 1073-1085.
- [117] Geoff M G. Multi-country evidence that crop diversification promotes ecological intensification of agriculture[J]. Nature Plants, 2016, doi:10.1038/nplants.
- [118] 卢辉, 韩建国, 张泽华. 锡林郭勒典型草原植物多样性和蝗虫种群的关系[J]. 草原与草坪, 2008, 128: 21-23.
- [119] Kenney J J, Detling J K, Reading R P. Influence of black-tailed prairie dogs (*Cynomys ludovicianus*) on short-horned grasshoppers (Orthoptera: Acrididae) on the shortgrass steppe of Colorado[J]. Journal of arid environments, 2016, 127: 93-99.
- [120] Schmitz O J. Effects of predator hunting mode on grassland ecosystem function[J]. Science, 2008, 319(5865): 952-954.
- [121] Faria M R, Wraight S P. Mycoinsecticides and mycoacaricides: a comprehensive list with worldwide coverage and international classification of formulation types[J]. Biological Control, 2007, 43(3): 237-256.
- [122] Zhao H, Lovett B, Fang W. Genetically engineering entomopathogenic fungi[J]. Advances in Genetics, 2016, 8: 94-102.
- [123] Zhao H, Xu C, Lu H L, *et al.* Host-to-pathogen gene transfer facilitated infection of insects by a pathogenic fungus[J]. PLoS Pathogens, 2014, 10(4): e1004009.
- [124] Fang W, Lu H, King G F, *et al.* Construction of a hypervirulent and specific mycoinsecticide for locust[J]. Scientific Reports, 2014, 4: 7345.
- [125] Peng G, Xia Y. Expression of scorpion toxin LqhIT2 increases the virulence of *Metarhizium acridum* towards *Locusta migratoria manilensis*[J]. Journal of Industrial Microbiology and Biotechnology, 2014, 41(11): 1659-1666.
- [126] Peng G, Xia Y. Integration of an insecticidal scorpion toxin (*BjaIT*) gene into *Metarhizium acridum* enhances fungal virulence towards *Locusta migratoria manilensis*[J]. Pest Management Science, 2015, 71: 58-64.
- [127] Fang W, Vega-Ro dreguez J, Ghosh A K, *et al.* Development of transgenic fungi that kill human malaria parasites in mosquitoes[J]. Science, 2011, 331: 1074-1077.
- [128] Fang W, Lu H L, King G F, *et al.* Construction of a Hypervirulent and specific mycoinsecticide for locust control[J]. Scientific Reports, 2014, 4: 7345.
- [129] Wang X, Fang X, Yang P, *et al.* The locust genome provides insight into swarm formation and long-distance flight[J]. Natural Communication, 2014, 14 (5): 2957.
- [130] Williams B A, Slamovits C H, Patron N J, *et al.* A high frequency of overlapping gene expression in compacted eukaryotic genomes[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2005, 102(31): 10936-10941.
- [131] Gao Q, Jin K, Ying S H, *et al.* Genome sequencing and comparative transcriptomics of the model entomopathogenic fungi *Metarhizium anisopliae* and *M. acridum*[J]. PLoS Genetic, 2011, 7(1): e1001264.
- [132] Hu X, Xiao G, Zheng P, *et al.* Trajectory and genomic determinants of fungal-pathogen speciation and host adaptation[J]. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 2014, 111(47): 16796-16801.
- [133] Wang J, Xia Y. Construction and preliminary analysis of a normalized cDNA library from *Locusta migratoria manilensis* topically infected with *Metarhizium anisopliae* var. *acridum*[J]. Journal of Insect Physiology, 2010, 56(8): 998-1002.
- [134] Lü M Y, Mohamed A A, Zhang L W, *et al.* A family of CS alpha beta defensins and defensin-like peptides from the migratory locust, locusta migratoria, and their expression dynamics during mycosis and noseamosis[J]. PLoS ONE, 2016, 11(8): e0161585.
- [135] Cook J, Bruckart W L, Coulson J R, *et al.* Safety of microorganisms intended for pest and plant disease control: A framework for scientific evaluation[J]. Biological Control, 1996, 7(3): 333-351.
- [136] Quesada-Moraga E, Valverde-Garcia P, Maranhao E A A. Safety of entomopathogenic fungi[J]. Bulletin OILB/SROP, 2005, 28(3): 195-200.
- [137] Canning E U. An evaluation of protozoal characteristics in relation to biological control of pests[J]. Parasitology, 1982, 84: 119-149.
- [138] Hopper K R. Assessing and improving the safety of introductions for biological control, OECD workshop on sustainable pest management safe utilization of new organisms in biological control, Montreal, Canada[J]. Phytoprotection, 1998, 79(S): 84-93.
- [139] 李增智. 我国利用真菌防治害虫的历史、进展和现状[J]. 中国生物防治学报, 2015, 31(5): 699-711.
- [140] Lomer C J, Bateman, R P, Johnson D L, *et al.* Biological control of locusts and grasshoppers[J]. Annual Review of Entomology, 2001, 46: 667-702.