

木豆凝集素对蚜虫的抗性研究

罗瑞鸿^{1,2}, 李杨瑞^{1,2}

(1. 广西农业科学院广西作物遗传改良生物技术重点开放实验室, 南宁 530007; 2. 广西大学农学院, 南宁 530005)

摘要: 用盐析法提取 10 个木豆品种的凝集素, 经亲和层析法提纯后添加到全纯人工营养液用于桃蚜饲养, 发现所有供试木豆的凝集素对桃蚜都具有不同程度的抗拒性, 抗性强弱顺序为: ICP 8863 > ICPL 85010 > ICPL 99066 > ICPL 7035 > ICPH 8 > ICPL 9008 > ICP 6997 > “海南种” > ICPL 87091 > ICPL 87119。

关键词: 木豆; 凝集素; 抗蚜性

中图分类号: Q946.885; S634.9

文献标识码: A

文章编号: 1000-470X(2005)05-0497-06

Anti-aphid Effect of Pigeonpea Lectin

LUO Rui-Hong^{1,2}, LI Yang-Rui^{1,2}

(1. Guangxi Crop Improvement and Biotechnology Laboratory, Guangxi Academy of Agricultural Sciences, Nanning 530007, China; 2. Agricultural College, Guangxi University, Nanning 530005, China)

Abstract: Pigeonpea lectin was extracted by ammonium sulfate fractionation. After purified by affinity chromatography on a ConA-Sepharose 4B column, it was added into an artificial holidic diet to feed aphids. The result showed that lectin from all the varieties of pigeonpea had anti-aphid effect to various extensions, which may be sorted descending as ICP 8863 > ICPL 85010 > ICPL 99066 > ICPL 7035 > ICPH 8 > ICPL 9008 > ICP 6997 > HaiNan > ICPL 87091 > ICPL 87119.

Key words: Pigeonpea; Lectin; Anti-aphid

木豆(*Cajanus cajan*)是耐旱、耐贫瘠的可食木本豆类,是以印度为主的亚洲、南美洲和非洲等热带、亚热带半干旱地区广为种植的粮食作物。近年来中国也从印度较大规模地引进木豆,作为西南地区退耕还林、遏止石漠化、防止水土流失、恢复生态环境的试验作物,取得了良好的效果。但也发现了一些亟待解决的问题,其中虫害是制约木豆扩大发展的重要因素之一,蚜虫又是其中较为突出的虫害。

桃蚜[*Myzus persicae* (Sulzer)]是世界分布最广的蚜虫,也是中国最普遍的品种。蚜虫除集体取食植物汁液造成植株严重失水和营养不良外,更严重的是能传播多种病害的病毒。桃蚜是食性范围广泛的多食性害虫,已知寄主在 350 种以上危害果树(如蔷薇科的杏、李、桃)、蔬菜(如瓜菜类、茄果类、十字花科叶菜类、马铃薯、菠菜等)以及烟草,是烟草花叶病毒病的传播者。防治蚜虫的方法和手段非常多,但

可以归为①化学防治,包括化学农药、植物源农药;②生物防治,有天敌、细菌、真菌;③农业防治,即农艺措施及物理方法。随着分子生物技术的发展进步,产生了新的防治方式,即生物技术防治,主要是抗蚜基因转化寄主植物,使植物获得抗蚜性从而免受蚜虫的为害。凝集素基因是一个重要的抗蚜基因来源,不少研究已发现植物凝集素有抗蚜效果^[1-6]。

凝集素最早是从豆科植物上发现,豆科植物也是凝集素含量较丰富的植物。本实验研究了木豆凝集素对桃蚜的抗拒效果,为应用生物技术防治蚜虫增加一条可能的途径提供参考。

1 材料与方法

1.1 材料

木豆品种 10 个,其中 9 个(编号为 ICP6997、ICPH8、ICPL87091、ICPL87119、ICPL9008、IC-

收稿日期:2005-02-21,修回日期:2005-04-18。

基金项目:广西青年科学基金资助项目(047011)。

作者简介:罗瑞鸿(1970—),男,瑶族,广西人,广西农科院副研究员,现为广西大学在职博士研究生(E-mail:luoruihong@gxaas.net)。

PL85010、ICPL7035、ICPL99066 和 ICP8863)来源于国际半干旱地区作物研究所(International Crops Research Institute for the Semi-Arid Tropics, ICRISAT),1 个是我国的野生种“海南”种。蚜虫采自广西农业科学院农业科技示范园桃树植株上。

1.2 方法

木豆凝集素的提取、纯化 木豆籽磨粉后,用生理盐水浸提、离心,上清液逐步加入硫酸铵粉末直到 50%饱和度^[7],离心收集沉淀得到凝集素粗提物。凝集素粗提物透析去除硫酸铵,浓缩后在 Amersham Biosciences 公司的 AKTAexplorer 蛋白质纯化系统上经 ConA-Sepharose 4B 亲和柱结合,用含有 0.5 mol/L NaCl 的 20 mmol/L Tris-HCl(pH 7.4)缓冲液平衡,用 0.2~0.4 mol/L 葡萄糖溶液洗脱。收集有凝血活性的洗脱峰,用蒸馏水透析,浓缩(冻干)备用。

蚜虫准备 蚜虫采集后,采用李彩霞^[8]配方的人工饲养液加不同浓度的蔗糖饲养于玻璃双通管中,每管接入 10 头蚜虫。饲养液 pH 值根据蚜虫所取食的桃叶汁 pH 值调定。饲养液经过高压锅 121℃ 灭菌;双通玻璃管、石蜡膜等用具经紫外线照射 30 min 后,双通玻璃管一端覆盖双层石蜡膜,饲养液

夹在其间,用量 100 μL;另一端用纱布蒙罩以防蚜虫逃逸。饲养 3~4 周可从不同浓度蔗糖配方的全营养液处理中筛选出最适蚜虫取食的蔗糖浓度全营养液,接续饲养经孤雌生殖繁殖下来的后代蚜虫。再经 2~3 代,蚜虫基本为同一窝胎生的后代,虫龄一致,数量足够即可用于添加凝集素进行抗蚜实养实验。

1.3 凝集素添加与饲养

根据李友莲等^[1]的经验,安排了 0.5%、1.0%、1.5%、2.0% 4 个凝集素浓度处理,每个处理 3 个重复,1 个不加凝集素的空白全营养液(人工饲养液+25%蔗糖)对照(CK₁),1 个桃叶匀浆上清液对照(CK₂)。饲养蚜虫的双通管在光照培养箱中以 16:8 的光/暗(L/D)周期、(24±1)℃ 的温度和 85%~90% 的相对湿度培养,每 2 天换饲养液一次,同时观察蚜虫的生长(死亡)和繁殖情况。

2 结果与分析

2.1 最适蔗糖浓度筛选

经测定,桃叶匀浆上清液 pH 值为 6.25,据此将全营养液调成 pH 6.25。设定 3 个重复,以蚜虫取食的桃叶匀浆上清液(CK₃)、重蒸水(CK₄)为对照,人工饲养液+(0~40%)蔗糖浓度筛选结果见表 1。

表 1 人工饲养液中不同蔗糖浓度对桃蚜的生长、发育和繁殖的影响
Table 1 Effects of different sucrose concentrations in artificial feed on growth, development and propagation of peach aphids

调查项目 Survey item	人工饲养液+蔗糖浓度 Artificial feed+Sucrose concentration (%)								CK ₃	CK ₄
	0	10	15	20	25	30	35	40		
初始蚜虫数 Initial aphid population	20	20	20	20	20	20	20	20	20	20
产仔数 Offspring	0	12.5	16.9	16.9	19.6	16	18	16.1	29	0
邓肯测验 Duncan test(0.01)	C	B	AB	AB	AB	AB	AB	AB	A	C
若蚜死亡率 Offspring death rate(%)	100	40	45	55	15	20	25	35	15	100
6 d 的存活率 Survival rate in 6 d(%)	0	85	90	75	100	95	95	95	90	0
12 d 存活率 Survival rate in 12 d(%)	0	42.3	67.3	40.3	54.9	54	65.3	76.7	39.3	0
邓肯测验 Duncan test(0.01)	C	B	AB	B	AB	AB	AB	A	B	C
最长存活天数 Maximal survival days	2	12	14	16	18	16	16	12	>30	2

注:CK₃. 桃叶匀浆上清液; CK₄. 重蒸水。
Notes:CK₃. Supernatant of peach leaves homogenate; CK₄. Di-distilled water.

由表 1 可见,缺乏蔗糖的饲养液与重蒸水一样不能使蚜虫存活超过 2 d。桃叶匀浆上清液也许含有人工饲养液中所缺乏的其它重要、但未明的微量成分,使桃蚜存活时间最长,也繁殖了最大数量的蚜虫后代。而蔗糖浓度为 25% 的全营养液培养的蚜虫在 6 d 内能保持 100% 的存活率,并达到 18 d 存活时间,还获得了最好的繁殖率,平均产仔 19.6 头,若虫死亡率较小。据此选择含 25% 蔗糖的全营养液作为

蚜虫饲养实验配方。

2.2 凝集素对蚜虫的抗拒性

用添加了凝集素的全营养液(含 25% 蔗糖)来饲养蚜虫的存活率(表 2)的数据表明:供试的 10 个木豆品种对桃蚜的抗拒性各不相同,凝集素添加的量(浓度)对蚜虫的抗拒性程度也不一样。品种 IC-PL85010 和 ICP8863 是对蚜虫抗拒性相对比较强的品种,在浓度是 0.5g/L 时,在饲养的第 18 天,

表 2 木豆凝集素饲养对桃蚜存活率的影响

Table 2 Effect of feeding pigeonpea lectin on survival rate of peach aphid (%)

品种 Cultivar	凝集素浓度 Lectin concentration (g/L)	饲养天数 Feeding days										品种 Cultivar	凝集素浓度 Lectin concentration (g/L)	饲养天数 Feeding days									
		0	2	4	6	8	10	12	14	16	18			0	2	4	6	8	10	12	14	16	18
CK ₁		100	128	115	182	163	146	115	94	107	78	“海南”种 Hainan	1.5	100	85	76	59	41	38	23	0		
CK ₂		100	35	0										100	94	72	66	30	20	0			
	0.5													100	86	61	44	30	20	0			
“海南”种 Hainan		100	123	136	142	126	106	118	99	102	69			100	116	129	131	125	121	109	99	97	71
ICP6997		100	112	126	147	125	115	121	101	112	74			100	125	136	144	128	131	104	97	91	69
ICPH8		100	116	123	113	108	106	124	95	105	81			100	122	103	85	54	37	11	0		
ICPL87091		100	125	144	165	139	125	111	89	106	78			100	81	52	13	0					
ICPL87119		100	128	139	154	133	127	114	91	101	76			100	116	98	78	49	26	5	0		
ICPL9008		100	121	134	138	153	140	102	73	59	47			100	105	83	54	31	18	0			
ICPL85010		100	118	131	107	82	64	51	39	25	19			100	104	76	25	0					
ICPL7035		100	125	143	149	156	137	111	85	64	51												
ICPL99066		100	109	126	134	152	116	85	61	56	43												
ICP8863		100	113	119	128	123	87	56	33	25	14												
	1.0											“海南”种 Hainan	2.0	100	66	49	25	14	0				
“海南”种 Hainan		100	114	137	139	103	125	129	98	107	75			100	69	51	31	11	0				
ICP6997		100	121	119	131	95	87	117	91	101	77			100	55	33	15	0					
ICPH8		100	113	122	135	84	105	125	97	99	67			100	110	126	127	120	127	99	93	96	70
ICPL87091		100	122	148	136	124	113	110	97	94	73			100	110	122	129	121	117	100	91	94	72
ICPL87119		100	131	144	157	128	139	112	93	92	75			100	104	69	31	5	0				
ICPL9008		100	116	129	114	148	103	72	55	36	22			100	57	18	0						
ICPL85010		100	107	94	68	54	26	9	0					100	108	74	29	8	0				
ICPL7035		100	123	138	147	151	120	104	77	53	38			100	110	72	39	8	0				
ICPL99066		100	112	129	136	101	75	58	37	18	12			100	73	11	0						
ICP8863		100	117	91	72	49	23	0															

注:CK₁. 空白全营养液; CK₂. 桃叶匀浆上清液。
Notes:CK₁. Artificial feed; CK₂. Supernatant of peach leaf homogenate.

桃蚜存活率分别为 19%和 14%;浓度增加到 1.0 g/L时,分别在饲养到第 14、12 天就没有蚜虫能够存活;浓度增加到 1.5 g/L 以上时,桃蚜存活不超过 8 d。而品种 ICPL87091 和 ICPL87119 的凝集素则可能对桃蚜没有抗拒性,无论在低浓度还是高浓度,第 18 天蚜虫的存活率仍高达 70%以上,而且 1.5 g/L 的浓度更利于桃蚜生长繁殖,在饲养的 18 d,存活率一直都相当高。其余供试品种“海南”、ICP6997、ICPH8、ICPL9008、ICPL7035 和 ICPL99066 的凝集素对桃蚜也有不同程度的抗拒性,随着浓度的增加,抗拒性加强,蚜虫存活率降低,存活日数减少。这样的结果表明,不同品种木豆的凝集素对桃蚜的抗拒性很不一致,也从一种角度上解释了为什么有的品种吸引蚜虫,有的品种不被蚜虫感兴趣。

3 结论与讨论

木豆凝集素在抗拒蚜虫方面表现复杂,供试的 10 个品种中,ICP 8863 和 ICPL 85010 的凝集素对桃蚜的抗拒性相对较强,而 ICPL 87091 和 ICPL

87119 对蚜虫的抗拒性较弱。综合蚜虫存活日数及存活率来看,各品种木豆凝集素对桃蚜抗拒性大小顺序如下:ICP 8863>ICPL 85010>ICPL 99066>ICPL 7035>ICPH 8>ICPL 9008>ICP 6997>“海南种”>ICPL 87091>ICPL 87119。

蚜虫对环境变化比较敏感,在实验室内进行人工饲养,要有可控温度、湿度和光暗交替的培养条件。所使用的石蜡膜,要将其拉伸成薄膜后再覆盖到双通管上,否则蚜虫无法探知双层膜间有食料,其口器也可能无法刺穿石蜡膜而取食。蚜虫的食性比较专一,将之从自然采食植物转为人工饲料喂养,需要不同程度的驯化过程。本研究曾同时用甘蓝蚜[*Brevicoryne brassicae* (Linne)]和桃蚜做驯养试验,发现甘蓝蚜不如桃蚜易驯养。即便桃蚜仍表现了食性的专一性:在适应了人工饲料后,又不一定再采食植物汁液。这一点从本研究前后两次饲养桃蚜的情况可以看到:表 1 的桃蚜是刚从桃树上采集的,对桃叶匀浆上清液仍十分适应,饲养存活时间超过 30 d;表 2 的桃蚜是经含有浓度为 25%的蔗糖的全营养液驯化饲养过的,可能对叶匀浆上清液已不能适应,因而

存活不过 4 d。

不同品种木豆的凝集素对桃蚜抑制情况有较大差异,揭示了不同来源的凝集素对昆虫机体代谢影响的复杂性。国外的大量研究表明,植物凝集素的抗虫谱相当广泛,包括鞘翅目、同翅目、双翅目和鳞翅目的昆虫^[9-11]。利用植物源农药抑制虫害对作物增产的威胁具有巨大潜力。检测凝集素抗虫性的方法通常都采用人工饲养法,即在固体或液体饲料中,凝集素发挥作用的含量从 1~50 mg/g 或 5~1 500 $\mu\text{g/mL}$ 不等,考察的参数指标包括对幼虫体重、个体大小、颜色、死亡率、采食性、机体新陈代谢、蜜露分泌、化蛹、总体发育时间、成虫形成过程和(或)第一代或第二代生育能力等的影响。

虽然植物凝集素的抗虫性详尽机理还没完全弄清,但至少已知有两个方面的特点是其发挥作用的先决条件,一是不为昆虫消化道中的消化酶(蛋白水解酶)所降解,二是能结合到昆虫消化道的组织结构中去。就跟对高等动物消化系统的影响一样^[12],植物凝集素对昆虫的影响主要也是由于能与其肠道上皮细胞表面结合,从而干扰肠道的分泌、消化或保护功能。当然,要想有机会结合到昆虫肠道组织(或别的部位)结构上和(或)任何消化酶(或别的成分)上,用于添加到饲料中的植物凝集素首先必须不会被蛋白水解酶降解,还要有合适的酸碱性和温度条件才能发挥其抑制效果。给豇豆象鼻虫饲喂添加了 *Griffonia simplicifolia* 凝集素(GSII)后,延长了其发育时间,生长也受到抑制,这是由于凝集素结合到了其围食膜的几丁质上^[13]。几丁质存在于绝大多数咀嚼式昆虫肠道上皮细胞上,起保护其不受食物颗粒研磨的作用^[14]。分别从 *Talisia esculenta* 和 *Koeleria paniculata* 种籽提取到的凝集素 TEL 和 KpLec 就是几丁质结合凝集素,通过结合到其肠道衬层细胞表面的多聚糖受体,对地中海粉蛾(*C. maculata*)和 *Anagasta kuehniella* 幼虫发育起到抑制效果^[15, 16]。分析表明,人工饲养食料中每增加 0.1% 剂量的 TEL,将分别增加 *C. maculata* 3.9% ($R^2 = 0.98$) 和 *Zabrotes subfasciatus* 4.1% ($R^2 = 0.99$) 的死亡率^[15],而每增加 0.1% 剂量的 KpLec,将分别增加 *C. maculata* 5.9% ($R^2 = 0.98$) 和 *Anagasta kuehniella* 5.3% ($R^2 = 0.96$) 的死亡率^[15]。为了阐明甘露糖专一性凝集素 GNA 对稻飞虱(*Nilaparvata lugens*)的作用, Powell^[17]等用免疫学手段进行了研究,发现用添加了该凝集素的食料饲喂后,虫体肠道或分泌的蜜露都没有出现蛋白质

显著降解的迹象。具有完全活性的 GNA 能结合到稻飞虱中肠上皮细胞内腔表面,可能是能识别肠道细胞表面的糖蛋白的糖半族和(或)其它糖结合部位,如含甘露糖的糖多肽铁蛋白是稻飞虱中肠内为 GNA 提供最多结合部位的糖蛋白^[18]。此外,免疫标记分析发现 GNA 在脂质体、卵巢管以及整个血淋巴中存在,表明 GNA 能够穿透中肠上皮障碍,进入到昆虫的循环系统造成系统毒害效果^[17]。

ASAL(大蒜甘露糖结合凝集素)对蛋白质水解酶降解的抗耐性及其与两种重要同翅目昆虫——芥蚜(*Lypaphis erysimi*)和红棉臭虫(*Dysdercus cingulatus*)的肠道内腔上皮细胞受体结合性也使其具有抗虫性^[19]。ASAL 分别结合到蚜虫和臭虫的刷状缘膜囊泡受体蛋白的 55 kDa 和 45 kDa 的糖残基上,可能降低了膜的透性。GNA 和 ConA 添加到食料中饲喂番茄螟幼虫后,在肠道、肾小管和血淋巴中积累,表明这两种凝集素与糖蛋白结合后沿着消化道及后续系统进行分布^[20]。致毒剂量的 GNA 还能导致稻飞虱中肠区的形态结构改变,即破坏指状突刷状缘区^[17]。Habibi 的研究^[21]也显示,PHA(红腰子豆凝集素)可以严重破坏 *Lygus hesperus* 的肠道上皮细胞。

含植物凝集素的人工饲料喂养对昆虫的另一影响因素可能是凝集素直接或间接与肠道内消化酶的糖基结合从而扰乱了虫体代谢^[22],例如饲喂 GNA 和 ConA,影响了 *Lacanobia oleracea* 幼虫中肠内可溶性酶和刷状缘膜酶的活性,此外还显著地提高了氨肽酶总活力,包括单位幼虫肠道内的蛋白质活力数和单位重量(mg)肠道蛋白质活力数都增加。同样,GNA 和 ConA 处理都引起了单位肠道内胰岛素水平的升高。GNA 还诱发了单位肠道内 α -葡萄糖苷酶活性的显著增强,但 ConA 没有这种效果。上述凝集素结合到肠道中,扰乱围食膜结构阵列和(或)刷状缘膜环境,从而能间接影响酶调节机制^[23]。对褐飞虱(*Nilaparvata lugens*)的抗虫机制主要包括酯酶同工酶的过量生产,在抗虫反应发生后,从虫体提取到的所有酯酶同工酶都已被糖基化。GNA、MAA(*Maackia amurensis* 凝集素)和 DAS(*Diffenbachia sequina* 凝集素)与这个酯酶家族的结合都会在末端带有甘露糖^[24]。基因转化后,甘露糖结合凝集素能在植物中表达,如果它们没有在抗御褐飞虱或其它抗杀虫剂害虫中发挥全部效用,这些凝集素仍可以影响和抑制酯酶家族,从而迫使虫体对杀虫剂更敏感,这样便可以减少杀虫剂的用量。

尽管有很多数量和种类的植物凝集素具有杀虫性,但在这个领域研究的热点在于如何将之整合到植物中使之成为可能的植物抗虫因素^[25, 26]。目前,以授予抗虫性为目的的两种主要植物源基因已用于转化作物,一是消化酶抑制因子(如蛋白酶和淀粉酶抑制因子),二是凝集素^[11]。近年来,国外也有不少有关凝集素(尤其是GNA)在植物中的表达与生物鉴定的报道^[27-33]。大体上,高水平表达了的转凝集素基因作物都会对目标害虫表现不同程度的抗性。值得一提的是,转入并表达GNA或其它甘露糖结合的凝集素如ASA的研究引起了最大兴趣,原因在于其虽对多种昆虫表现毒性,但对哺乳动物和鸟类不表现毒性^[19, 28, 34]。因此,GNA已被转入好几种作物中,包括马铃薯^[28, 29, 35-40]、水稻^[31, 32, 41-46]、甘蔗^[47, 48]、烟草^[27, 49]和小麦^[50]等。随着人们对食品安全和环境保护意识的增强,凝集素将在植物害虫防治上发挥更广阔的作用。从本研究的结果来看,值得进一步扩大木豆品种凝集素抗虫性实验,作为深入研究和应用、应用的必要基础。

致谢:木豆品种由广西农业科学院品种资源研究所庞雯副研究员馈赠;广西大学农学院2000级学生周振、蒙冲在本实验中付出艰辛劳动;广西亚热带生物资源保护利用重点实验室为本实验提供了关键仪器设备的使用,该实验室主任、长江学者特聘教授陈保善博士给予了大力支持和热情指导。特此感谢!

参考文献:

- [1] 李友莲,吴海军. 植物凝集素对桃蚜生长发育的影响[J]. 山西农业大学学报, 2000, 20(2): 93-96.
- [2] 毛雪,高丽峰,李彩霞,李润植. 植物凝集素对蚜虫的抗虫效应[J]. 山西农业大学学报, 1999, 19(2): 122-124, 144.
- [3] 吴昌银,叶志彪,李汉霞,唐克轩. 雪花莲外源凝集素基因转化番茄[J]. 植物学报, 2000, 42(7): 719-723.
- [4] 周岩,田颖川,吴标,莽克强. 转雪花莲外源凝集素基因烟草对桃蚜的抑制作用[J]. 生物工程学报, 1998, 14(1): 13-19.
- [5] 袁正强,赵存友,周岩,田颖川. 雪花莲凝集素基因(gna)的改造及其抗蚜性[J]. 植物学报, 2001, 43(6): 592-597.
- [6] 周永刚,田颖川,莽克强. 苋菜凝集素基因的克隆及在转基因烟草中抗蚜性研究[J]. 生物工程学报, 2001, 17(1): 34-39.
- [7] 罗瑞鸿,李杨瑞. 木豆凝集素的提取及凝血性研究简报[J]. 广西农业生物科学, 2004, 23(3): 262-264.
- [8] 李彩霞,高丽峰,李润植. 全纯人工营养液饲养蚜虫研究[J]. 山西农业大学学报, 1997, 17(3): 217-221.
- [9] Gatehouse A M R, Powell K S, Van Damme E J M, Peumans W J, Gatehouse J A. Insecticidal properties of plant lectins: their potential in plant protection [A]. In: Pusztai A, Bardocz S eds. Lectins: Biomedical Perspectives [C]. London: Taylor and Francis, 1995. 35-58.
- [10] Schuler T H, Poppy G M, Kerry B R, Denholm I. Insect-resistant transgenic plants[J]. Trends Biotechnol. 1998, 16: 168-174.
- [11] Carlini C R, Grossi-de-Sa M F. Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides [J]. Toxicon, 2002, 20: 1515-1539.
- [12] Pusztai A. General effects on animal cells [A]. In: Pusztai A ed. Plant Lectins [C]. Cambridge: Cambridge University Press, 1991. 105-205.
- [13] Zhu-Salzman K, Shade R E, Koiwa H, Salzman R A, Narasimhan M, Bressan R A, Hasegawa P M, Murdock L L. Carbohydrate binding and resistance to proteolysis control insecticidal activity of *Griffonia simplicifolia* lectin II [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95: 15123-15128.
- [14] Peumans W J, Van Damme E J M. The role of lectins in the plant defense against insects [A]. In: Van Driessche E, Fisher J, Beeckmans S, Bog-Hansen T C eds. Lectins: Biology, Biochemistry, Clinical Biochemistry [C]. Denmark: Textop, Hellerup, 1994. 128-141.
- [15] Macedo M L R, Mello G C, Freire M G M, Novello J C, Marangoni S, Matos D G G. Effect of a trypsin inhibitor from *Dimorphandra mollis* seeds on the development of *Callosobruchus maculatus* larval [J]. Plant Physiol Bioch, 2002, 40: 891-898.
- [16] Macedo M L R, Freire M G M, Cabrini E C, Toyama M H, Novello J C, Marangoni S. A trypsin inhibitor from *Peltophorum dubium* seeds active against pest proteases and its effects on the survival of *Anagasta kuehniella* (Lepidoptera: Pyralidae) [J]. Biochem Biophys Acta, 2003, 1621: 170-182.
- [17] Powell K S, Spence J, Bharathi M, Gatehouse J A, Gatehouse A M R. Immunohistochemical and developmental studies to elucidate the mechanism of action of the snowdrop lectin on the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) [J]. J Insect Physiol, 1998, 44: 529-539.
- [18] Du J, Foissac X, Carrs A, Gatehouse A M R, Gatehouse J A. Ferritin acts as the most abundant binding protein for snowdrop lectin in the midgut of rice brown planthoppers (*Nilaparvata lugens*) [J]. Insect Biochem Mol Biol, 2000, 30: 297-305.
- [19] Bandyopadhyay S, Roy A, Das S. Binding of garlic (*Allium sativum*) leaf lectin to the gut receptors of homopteran pests is correlated to its insecticidal activity [J]. Plant Sci, 2001, 161: 1025-1033.
- [20] Fitches E, Woodhouse S D, Edwards J P, Gatehouse J A. In vitro and in vivo binding of snowdrop (*Galanthus nivalis* agglutinin; GNA) and jackbean (*Canavalia ensiformis*; Con A) lectins within tomato moth (*Lacanobia oleracea*) larvae: mechanisms of insecticidal action [J]. J Insect Physiol, 2001, 47: 777-787.
- [21] Habibi J, Backus E A, Huesing J E. Effects of phytohemagglutinin (PHA) on the structure of midgut epithelial cells and localization of its binding sites in western tarnished plant bug, *Lygus hesperus* Knight [J]. J Insect Physiol. 2000, 46: 611-619.
- [22] Van Damme E J M, Peumans W J, Barre A, Rouge P. Plant lectins: a composite of several distinct families of structurally and evolutionarily related proteins with diverse biological role [J]. Crit Rev Plant Sci, 1998, 17: 575-692.
- [23] Fitches E, Gatehouse J A. A comparison of the short and long term effects of insecticidal lectins on the activities of soluble and brush border enzymes of tomato moth larvae (*Lacanobia oleracea*) [J]. J Insect Physiol, 1998, 44: 1213-1224.
- [24] Small G J, Hemingway J. Molecular characterization of the amplified carboxylesterase gene associated with organophosphorus insecticide resistance in the brown planthopper, *Nilaparvata lugens* [J]. Insect Mol Biol, 2000, 9: 647-653.
- [25] Jouanin L, Bonade B M, Girard C, Morrot G, Giband M. Transgenic plants for insect resistance [J]. Plant Sci, 1998,

- 131: 1-11.
- [26] Vaughan A, Hilder V A, Boulter D. Genetic engineering of crop plants for insect resistance—a critical review [J]. *Crop Prot*, 1999, 18: 177-191.
- [27] Hilder V A, Powell K S, Gatehouse A M R, Gatehouse J A, Gatehouse L N, Shi Y, Hamilton W D O, Merryweather A, Newell C A, Timans J C. Expression of snowdrop lectin in transgenic tobacco plants resulted in added protection against aphids [J]. *Transgenic Res*, 1995, 4: 18-25.
- [28] Down R E, Gatehouse A M R, Hamilton W D O, Gatehouse J A. Snowdrop lectin inhibits development and decreases fecundity of the glasshouse potato aphid (*Aulacorthum solani*) when administered in vivo and via transgenic plants both in laboratory and glasshouse trials [J]. *J Insect Physiol*, 1996, 42: 1035-1045.
- [29] Gatehouse A M R, Down R E, Powell K S, Sauvion N, Rahbe' Y, Newell C A, Merryweather, A, Hamilton, W D O, Gatehouse, J A. Transgenic potato plants with enhanced resistance to the peach-potato aphid *Mirzus persicae* [J]. *Entomol Exp Appl*, 1996, 79: 295-307.
- [30] Czaplá T H. Plant lectins as insect control proteins in transgenic plants [A]. In: Carozzi, N, Koziel, M eds. *Advances in Insect Control: The Role of Transgenic Plants* [C] UK: Taylor and Francis, Basingstoke, 1997. 123-138.
- [31] Rao K V, Rathore K S, Hodges T K, Fu X, Stoger E, Sudhakar D, Williams S, Christou P, Bharathi M, Bown D P, Powell K S, Spence J, Gatehouse A M R, Gatehouse J A. Expression of snowdrop lectin (GNA) in transgenic rice plants confers resistance to rice brown planthopper [J]. *Plant J*, 1998, 15: 469-477.
- [32] Foissac X, Loc N T, Christou P, Gatehouse A M R, Gatehouse J A. Resistance to green leafhopper (*Nephotettix virescens*) and brown planthopper (*Nilaparvata lugens*) in transgenic rice expressing snowdrop lectin (*Galanthus nivalis* agglutinin; GNA) [J]. *J Insect Physiol*, 2000, 46: 573-583.
- [33] Couty A, de-la-Vina G, Clark S J, Kaiser L, Pham D M H, Poppy G M. Direct and indirect sublethal effects of *Galanthus nivalis* agglutinin (GNA) on the development of a potato-aphid parasitoid, *Aphelinus abdominalis* (Hymenoptera: Aphelinidae) [J]. *J Insect Physiol*, 2001, 47: 553-561.
- [34] Powell K S, Gatehouse A M R, Hilder V A, Van Damme E J M, Peumans W J, Boonjawan J, Horsham K, Gatehouse J A. Different antimetabolic effects of related lectins towards nymphal stages of *Nilaparvata lugens* [J]. *Entomol Exp Appl*, 1995, 75: 61-65.
- [35] Couty A, Down R E, Gatehouse A M R, Kaiser L, Pham-Delegue M H, Poppy G M. Effects of artificial diet containing GNA and GNA-expressing potatoes on the development of the aphid parasitoid *Aphidius ervi* Haliday (Hymenoptera: Aphididae) [J]. *J Insect Physiol*, 2001, 47: 1357-1366.
- [36] Fitches E, Gatehouse A M R, Gatehouse J A. Effects of snowdrop lectin (GNA) delivered via artificial diet and transgenic plant on the development of tomato moth (*Lacanobia oleracea*) larvae in laboratory and glasshouse trials [J]. *J Insect Physiol*, 1997, 8: 727-739.
- [37] Gatehouse A M, Davison G M, Newell C A, Hamilton W D O, Burgess E P J, Gilbert R J C, Gatehouse J A. Transgenic potato plants with enhanced resistance to the tomato moth, *Lacanobia oleracea*; growth room trials [J]. *Mol Breed*, 1997, 3: 49-63.
- [38] Bell H A, Fitches E C, Down R E, Marris G C, Edwards J P, Gatehouse J A, Gatehouse A M R. The effect of snowdrop lectin (GNA) delivered via artificial diet and transgenic plants on *Eulophus pennicornis* (Hymenoptera: Eulophidae), a parasitoid of the tomato moth *Lacanobia oleracea* (Lepidoptera: Noctuidae) [J]. *J Insect Physiol*, 1999, 45: 983-991.
- [39] Bell H A, Fitches E C, Marris G C, Bell J, Edwards J P, Gatehouse J A, Gatehouse A M R. Transgenic, GNA-expressing potato plants augment the beneficial biocontrol of *Lacanobia oleracea* (Lepidoptera: Noctuidae) by the parasitoid *Eulophus pennicornis* (Hymenoptera: Eulophidae) [J]. *Transgenic Res*, 2001, 10: 35-42.
- [40] Down R E, Ford L, Bedford S J, Gatehouse L N, Newell C, Gatehouse J A, Gatehouse A M R. Influence of plant development and environment on transgene expression in potato and consequences for insect resistance [J]. *Transgenic Res*, 2001, 10: 223-236.
- [41] Tinjuangjun P, Loc N T, Gatehouse A M R, Gatehouse J A, Christou P. Enhanced insect resistance in Thai rice varieties generated by particle bombardment [J]. *Mol Breed*, 2000, 6: 391-399.
- [42] Maqbool S B, Riazuddin S, Loc N T, Gatehouse A M R, Gatehouse J A, Christou P. Expression of multiple insecticidal genes confers broad resistance against a range of different rice pests [J]. *Mol Breed*, 2001, 7: 85-93.
- [43] Tang K., Zhao E, Sun X, Wan B, Qi H, Lu X. Production of transgenic rice homozygous lines with enhanced resistance to the rice brown planthopper [J]. *Acta Biotechnol*, 2001, 21: 117-128.
- [44] Loc N T, Tinjuangjun P, Gatehouse A M R, Christou P, Gatehouse J A. Linear transgene constructs lacking vector backbone sequences generate transgenic rice plants which accumulate higher levels of proteins conferring insect resistance [J]. *Mol Breed*, 2002, 9: 231-244.
- [45] Sun X, Wu A, Tang K. Transgenic rice lines with enhanced resistance to the small brown planthopper [J]. *Crop Prot*, 2002, 21: 511-514.
- [46] Wu A, Sun X, Pang Y, Tang K. Homozygous transgenic rice lines expressing GNA with enhanced resistance to the rice sap-sucking pest *Laodelphax striatellus* [J]. *Plant Breed*, 2002, 121: 93-95.
- [47] Setamou M, Bernal J S, Legaspi J C, Mirkov T E, Legaspi B C Jr. Evaluation of lectin-expressing transgenic sugarcane against stalkborers (Lepidoptera: Pyralidae): effects on life history parameters [J]. *J Econ Entomol*, 2002, 95: 469-477.
- [48] Tomov B W, Bernal J S. Effects of GNA transgenic sugarcane on life history parameters of *Parallorhagus pyralophagus* (Marsh) (Hymenoptera: Braconidae), a parasitoid of Mexican rice borer [J]. *J Econ Entomol*, 2003, 96: 570-576.
- [49] Wang Z B, Guo S D. Expression of two insect resistant genes cryIA (bandc) GNA in transgenic tobacco plants results in added protection against both cotton bollworm and aphids [J]. *Chinese Sci Bull*, 1999, 44: 2051-2058.
- [50] Stoger E, Williams S, Christou P, Down R E, Gatehouse J A. Expression of the insecticidal lectin from snowdrop (*Galanthus nivalis* agglutinin; GNA) in transgenic wheat plants; effects on predation by the grain aphid *Sitobion avenae* [J]. *Mol Breed*, 1999, 5: 65-73.