

棉铃虫唾液凝集素的初步研究

王雄雅^{1,2}, 李 星¹, 白素芬¹, 李 欣^{1*}

(1. 河南农业大学植物保护学院, 郑州 450002; 2. 中国农业科学院植物保护研究所, 北京 100193)

摘要 昆虫唾液在成功取食寄主中发挥关键作用。而有关植食性昆虫唾液(反吐液)的研究多集中在与寄主植物的互作关系上,鲜有涉及唾液免疫因子的研究。凝集素作为模式识别受体,在病原物的识别中发挥重要作用,是昆虫重要的免疫因子。棉铃虫幼虫血淋巴中已报道的凝集素种类至少有8种,但其唾液中是否存在凝集素却未见报道。本文通过与鸡血红细胞的凝集反应检测到棉铃虫幼虫唾液中含有凝集活性物质,凝集效价高达 2^9 。显微观察显示,唾液对鸡血红细胞具有明显的凝集作用。经35%和45%硫酸铵盐析沉淀获得的组分具有明显凝集活性,表明唾液中的凝集活性物质为蛋白质。通过糖抑制试验,发现棉铃虫唾液凝集素与其血淋巴凝集素的糖结合谱存在差异,表明他们是不同的凝集素种类。棉铃虫唾液凝集素的揭示为理解植食性昆虫唾液的免疫功能提供了新的证据。

关键词 凝集素; 棉铃虫; 唾液(反吐液); 凝集活性; 糖抑制试验

中图分类号: Q 965 文献标识码: A DOI: 10.16688/j.zwbh.2019529

A preliminary study of lectin in the saliva (regurgitant) of *Helicoverpa armigera*

WANG Xiongya^{1,2}, LI Xing¹, BAI Sufen¹, LI Xin^{1*}

(1. College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China;

2. Institute of Plant Protection, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract Insect saliva plays a major role in successful feeding on host. In recent years, the researches on salivary components of herbivory insects have mainly focused on the co-evolution and relationships between insects and plants, and less attention have been paid to the factors involved in immunity. Lectins, as pattern recognition receptors, play important roles in recognizing foreign substances in the insect immune system. There are at least eight C-type lectins in larval hemolymph of *Helicoverpa armigera*, but until now no lectin has ever been reported in its saliva (regurgitant). In the present study, the agglutination activity of *H. armigera* saliva was detected by hemagglutination reaction with chicken erythrocytes. The agglutination reaction of chicken erythrocytes treated with *H. armigera* saliva was observed obviously under phase contrast microscope. By ammonium sulfate precipitation, the protein precipitated by 35% and 45% ammonium sulfate showed obvious agglutination activity, indicating that the substance with agglutination activity in saliva was a protein. The carbohydrate-inhibition assay discovered the difference between saliva and hemolymph in carbohydrate-binding profiles of lectin, suggesting that they were different lectins. The lectin identified in saliva of *H. armigera* adds new proof to the understanding of immunity of phytophagous insects.

Key words lectin; *Helicoverpa armigera*; saliva (regurgitant); agglutination activity; carbohydrate inhibition agglutination test

植食性昆虫在取食寄主植物时会分泌大量唾液,成分复杂,含有许多重要的生理功能因子,具有湿润口器、消化、解毒、免疫、化学感受,以及调控寄主植物防御反应等功能^[1]。在植食性昆虫与寄主植

物长期协同进化的过程中,唾液发挥着至关重要的作用。唾液成分中激发子、植食性昆虫相关模式分子和效应子等是二者之间起联系作用的纽带^[2]。素有“超级害虫”之称的烟粉虱 *Bemisia tabaci* 在取食

收稿日期: 2019-09-30

修订日期: 2019-12-18

基金项目: 河南省自然科学基金(182300410089);河南省高等学校重点科研项目(17A210017)

* 通信作者 E-mail: Lixin63587256@163.com

时,一种效应子 Bt56 随唾液进入植物韧皮部,通过与植物中的转录因子结合,诱导水杨酸信号途径来抑制抗虫物质茉莉酸分泌,从而有利于自身的生存和繁殖^[3]。不同的植食性昆虫,会利用不同的唾液成分或含量来适应不同的寄主,如多食性昆虫棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 下唇腺葡萄糖氧化酶活性显著高于寡食性昆虫烟夜蛾 *H. assulta*^[1, 4]。对鳞翅目昆虫唾液的研究大多是用口腔分泌物又称反吐液,是唾液腺分泌物和肠道分泌物的混合液^[5]。张帅等通过构建棉铃虫幼虫唾液腺全长 cDNA 文库,测序得到 1 502 条 EST 序列,而这些基因多与消化和植物互作相关^[6]。也有学者对棉铃虫唾液腺和中肠内分泌液进行转录组和蛋白组学分析,发现了一些免疫相关蛋白,如溶菌酶、蛋白酶抑制剂和 β -1,3 葡聚糖蛋白等^[7-8],但未提及免疫识别因子凝集素。针对当前有关植食性昆虫唾液的研究多集中在与寄主植物的互作关系,而鲜有涉及唾液免疫因子的研究现状,我们推测棉铃虫作为典型的多食性昆虫,当取食时,不仅面对来自不同寄主植物的抗虫防御反应要攻破,更要应对众多来自环境中的细菌、病毒、真菌、原生动物等病原物的侵染,其唾液中可能含有丰富的免疫因子。因此,棉铃虫唾液中有无免疫识别因子凝集素将是本文首要解决的问题。

凝集素广泛分布于动物、植物和微生物中,是一类能凝集细胞、多糖或糖复合物的非源于免疫反应的糖蛋白^[9]。作为模式识别受体,凝集素能够识别细胞膜表面的碳脂化合物决定簇,是重要的免疫识别因子。目前,已在许多种昆虫中发现有凝集素,涉及鳞翅目、双翅目、蜚蠊目、鞘翅目、直翅目等多个类群,仅果蝇基因组中就有 30 多种编码凝集素的基因,已分离纯化的昆虫凝集素达 40 余种^[10-11]。大多数昆虫凝集素属于 C-型凝集素,也是研究最多的一类模式识别受体家族,在 Ca^{2+} 存在下能够特异性识别病原菌表面的糖基,引起一系列免疫反应从而有效地清除病原菌,有些甚至可以直接杀灭细菌和病毒^[12]。

目前,已在棉铃虫幼虫血淋巴中发现至少 8 种 C-型凝集素,其可被病原菌诱导表达^[11, 13-15]。C-型凝集素除了识别病原物外,还可能参与其他的生物过程,如参与蜕皮过程^[16]、免疫激活^[17-18]、调理作用、溶血作用^[19]等。因其功能的多样性,众多学者将研究的焦点集中在昆虫血淋巴中的凝集素^[20-23],而对植食性昆虫唾液中凝集素的关注较少。本文首次在棉铃虫

幼虫唾液中发现凝集活性物质,进一步通过糖抑制试验,对棉铃虫唾液和血淋巴中凝集素进行糖结合谱比较。以期从唾液免疫角度为多食性昆虫在取食多样性和环境适应性方面提供依据,并为进一步明确棉铃虫唾液凝集素的种类、理化特性和病原识别谱奠定基础。

1 材料与方法

1.1 昆虫采集与饲养

棉铃虫采自郑州郊区菜田,并饲养在 $(28 \pm 1)^\circ\text{C}$, RH $(70 \pm 10)\%$, 光周期为 L//D=14 h//10 h 的人工气候箱中。根据 Zhao 等^[24] 的配方配制的人工饲料饲养棉铃虫幼虫。用已消毒的小毛笔将初孵的棉铃虫幼虫轻轻挑到人工饲料上饲养,于 3 龄初进行分管单头饲养,在指形管(长 8.0 cm, 直径 1.5 cm)中放入一长方体人工饲料,管口塞入经过消毒的棉塞。棉铃虫化蛹后,放入饲养笼内,待成虫羽化产卵。

1.2 幼虫唾液(反吐液)的提取

将棉铃虫末龄取食期幼虫用镊子轻微固定,同时用移液器吸头轻微触碰幼虫口器部位,刺激幼虫反吐唾液,并用移液器及时吸取收集到一个预冷的离心管中,加入少量晶体苯基硫脲(PTU)以防止唾液黑化。从约 100 头末龄幼虫中采集约 1 000 μL 唾液(反吐液)样品供试。在 4°C 下 14 000 g 离心 10 min,收集不含固体杂质的唾液样品(上清液),储存在 -20°C ,备用。

1.3 幼虫血淋巴的提取

挑取约 50 头棉铃虫末龄取食期幼虫,用剪刀剪掉幼虫一对腹足,将血淋巴样品滴入一个预冷的离心管中,并加入少量晶体苯基硫脲(PTU)以防止血淋巴黑化。收集约 1 000 μL 血淋巴样品,并在 4°C 下,14 000 g 离心 10 min,收集不含固体杂质的相应样品,储存在 -20°C ,备用。

1.4 肠液的制备

解剖 60~100 头棉铃虫末龄取食期幼虫,将完整的消化道露出,用滤纸吸净血淋巴,并用 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.4)将消化道清洗 3 遍并用滤纸擦干。前肠较短且肠壁较薄,可直接用移液器吸头刺破肠壁吸取收集前肠液样品。中肠肠壁较厚,将完整中肠组织的肠壁纵向剪开并置于离心管内,在 4°C 下 8 000 g 离心 10 min,收集

上清液。所有肠液样品均置于一个预冷的离心管中并加入少量晶体苯基硫脲(PTU)以防止肠液黑化。在 4℃下,14 000 g 离心 10 min,收集不含固体杂质的相应样品,储存在-20℃,备用。

1.5 脊椎动物红细胞的制备

选健康鸡采集血液,在 4℃下 1 000 g 离心 10 min 收集红细胞,并通过 10 倍体积预冷的 0.01 mol/L 磷酸盐缓冲液(PBS, pH 7.4)清洗 3 遍,每次清洗后,在 4℃下 1 000 g 离心 5 min。获得的红细胞用 0.01 mol/L PBS 配制成 2%的红细胞悬浮液用于血凝活性检测。

1.6 血凝活性测定与血凝现象观察

血凝活性测定:凝集活性通过 96 孔 V 底微量反应板进行检测,将 25 μ L 的唾液或肠液样品在 96 孔 V 底微量反应板中通过 0.01 mol/L PBS(pH 7.4)进行连续倍比稀释,然后加入 25 μ L 2%的鸡红细胞悬浮液混匀,室温下进行反应。用 PBS 做对照,每个处理重复 3 次。室温反应 1 h 后,待对照组红细胞完全沉淀,读取样品的凝集效价。以具有凝集活性的样品最高稀释倍数的倒数作为该样品的凝集效价,并作为一个凝集活性单位^[25]。

血凝现象观察:预先用 25 μ L 2%的鸡红细胞悬浮液与用 PBS 连续倍比稀释的等体积唾液样品在 96 孔反应板中室温反应 1 h。观测各孔红细胞凝集情况,将观察到有凝集现象的孔中反应混合液取出,并在 Leica 倒置相差显微镜下用 Canon Power Shot A650 IS 相机观察和拍照。用 PBS 代替唾液样品与鸡红细胞混匀作为阴性对照。

1.7 唾液样品硫酸铵盐析

用饱和硫酸铵溶液分别与 50 μ L 唾液样品混匀,使混合液中硫酸铵饱和度分别达到 20%、30%、35%、40%、45%、50%、60%、65%、70%和 80%,置于冰上沉淀出唾液中的蛋白,在 4℃下,14 000 g 离心 10 min,沉淀的蛋白用 0.01 mol/L 的 PBS 缓冲液再溶解。沉淀获得的蛋白经过透析脱盐并冷冻干燥,用 50 μ L 0.01 mol/L PBS 重新溶解,处理后的样品通过 V 底微量反应板检测凝集活性。

1.8 糖抑制试验

用 0.01 mol/L PBS 分别配制 0.3 mol/L 的半乳糖、甘露糖、N-乙酰葡萄糖胺、麦芽糖、L-阿拉伯糖、乳糖、L-鼠李糖、乳果糖和对硝基苯- β -D 吡喃半乳糖苷(PNPG)的糖溶液。将在 35%和 45%硫酸铵

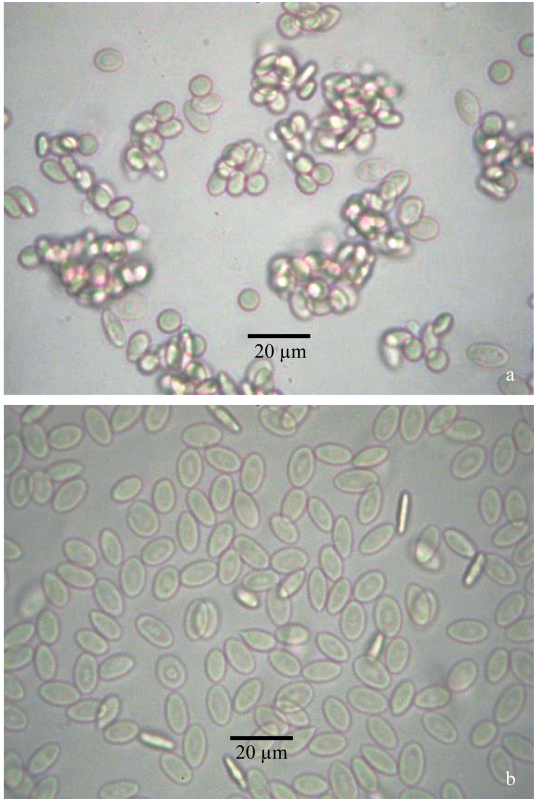
饱和度下盐析获得的唾液蛋白透析,所获唾液蛋白样品以及幼虫血淋巴样品分别与 0.3 mol/L 的不同糖溶液按 1:1 比例混匀,室温孵育 3 h,获得不同糖处理后的样品。各样品通过 V 底微量反应板检测凝集活性的变化。

2 结果与分析

2.1 棉铃虫唾液凝集素的检测

棉铃虫唾液样品通过 V 底微量反应板法检测其凝集活性。唾液样品稀释倍数在 $2^1 \sim 2^4$ 出现溶血现象,能够使鸡红细胞完全溶解,而在 $2^6 \sim 2^9$ 鸡红细胞出现凝集现象。作为阴性对照的 PBS,所有孔中的红细胞全部沉淀到底部。该结果表明棉铃虫唾液中存在凝集活性物质。

通过相差显微镜观察,鸡红细胞与稀释倍数在 $2^6 \sim 2^9$ 的唾液样品反应后,红细胞之间出现凝集现象,唾液样品在稀释高达 2^9 倍后,依然可以检测到凝集活性(图 1a),而 PBS 对照组红细胞分布均匀,没有凝集现象发生(图 1b)。

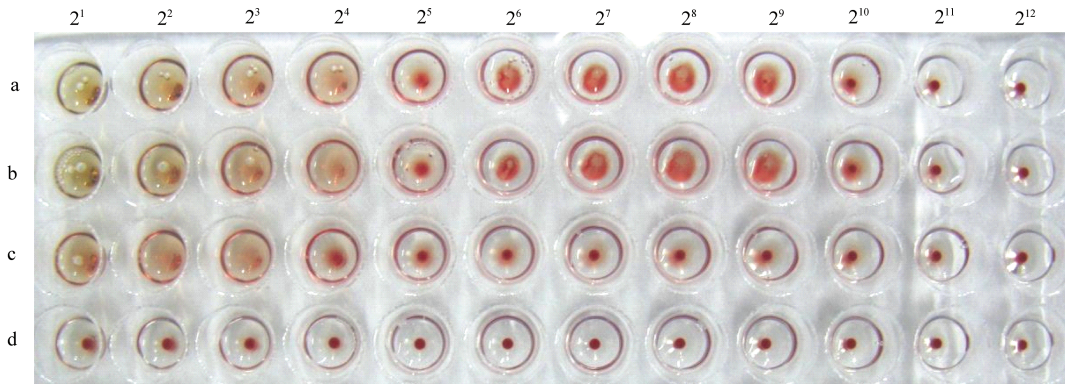


a: 唾液处理鸡红细胞; b: 对照PBS处理鸡红细胞
a: Saliva-treated erythrocytes; b: Control PBS-treated erythrocytes
图 1 棉铃虫幼虫唾液样品对鸡红细胞凝集活性的显微观察
Fig. 1 Microscopic observation of agglutination of chicken erythrocytes after treated with the larval saliva

2.2 唾液凝集素的来源

因检测的唾液样品为口腔反吐液,为明确唾液中凝集活性物质的发生来源,进一步对前肠液和中肠液进行了凝集活性测定。发现唾液和前肠液具有

凝集活性,凝集效价均达到了 2^9 (图 2a、b),而中肠液和 PBS 对照则没有凝集活性(图 2c、d)。另外唾液、前肠液和中肠液在稀释 $2^1 \sim 2^4$ 倍时对鸡红细胞均出现溶血现象。



a: 唾液连续倍比稀释液($2^1 \sim 2^{12}$); b: 前肠液连续倍比稀释液($2^1 \sim 2^{12}$); c: 中肠液连续倍比稀释液($2^1 \sim 2^{12}$); 样品浓度从左到右依次2倍稀释降低; d: PBS对照
a: 2-fold serial dilutions ($2^1 \sim 2^{12}$) of the saliva; b: 2-fold serial dilutions ($2^1 \sim 2^{12}$) of the foregut fluid; c: 2-fold serial dilutions ($2^1 \sim 2^{12}$) of the midgut fluid. The concentration of samples decreases from the left to the right by 2-fold; d: PBS control

图 2 棉铃虫幼虫唾液、前肠液和中肠液对鸡红细胞的凝集和血凝效价测定

Fig. 2 The larval saliva elicited agglutination of chicken erythrocytes determined by the hemagglutination titer

2.3 唾液凝集活性物质的化学性质

唾液样品经不同饱和度的硫酸铵溶液分段盐析,在 35%和 45%的硫酸铵饱和度下盐析沉淀获得的样品对鸡红细胞具有较强的凝集活性,凝集效价分别为 2^5 和 2^6 。结果表明,唾液中存在的凝集活性物质为蛋白质。

2.4 凝集素的糖结合特性

凝集素通过识别异物表面糖链实现凝集活性,不同凝集素对糖链的结合谱存在差异,预先通过与不同糖分子结合处理,可使凝集素原糖结合位点被

占据,阻碍其对异物表面糖链的识别,抑制凝集活性,进而说明凝集素与糖类的结合谱。经 35%和 45%硫酸铵盐析获得的唾液蛋白样品与血淋巴样品对糖的结合谱存在差异(表 1)。麦芽糖能够抑制 35%硫酸铵盐析蛋白的凝集活性,而不能抑制 45%硫酸铵盐析蛋白和棉铃虫血淋巴的凝集活性。*L*-阿拉伯糖和乳糖只能抑制棉铃虫血淋巴中的凝集素活性。而乳果糖和 PNPG 只对 45%硫酸铵盐析蛋白凝集素有抑制作用。半乳糖和 *L*-鼠李糖则对这 3 种样品的凝集活性均有抑制作用。

表 1 糖对唾液的硫酸铵盐析蛋白和棉铃虫血淋巴凝集活性的抑制¹⁾

Table 1 Inhibition of hemagglutinin activity by carbohydrates in the hemolymph and saliva proteins precipitated by ammonium sulfate

糖 Carbohydrates	35%硫酸铵盐析蛋白 Protein precipitated by 35% ammonium sulfate	45%硫酸铵盐析蛋白 Protein precipitated by 45% ammonium sulfate	血淋巴 Hemolymph
半乳糖 Galactose	+	+	+
甘露糖 Mannose	—	—	—
<i>N</i> -乙酰葡萄糖胺 <i>N</i> -acetylglucosamine	—	—	—
麦芽糖 Maltose	+	—	—
<i>L</i> -阿拉伯糖 <i>L</i> -arabinose	—	—	+
乳糖 Lactose	—	—	+
<i>L</i> -鼠李糖 <i>L</i> -rhamnose	+	+	+
乳果糖 Lactulose	—	+	—
对硝基苯基- β -D-吡喃半乳糖苷 (PNPG) <i>p</i> -Nitrophenyl- β -D-galactopyranoside	—	+	—

1) “+”表示有抑制;“—”表示无抑制。
“+” represents inhibition; “—” represents no inhibition.

3 结论与讨论

目前,有关昆虫凝集素的报道主要集中于血浆、血细胞、脂肪体、肌肉和体壁等多个组织和器官中,主要是由脂肪体和血细胞合成并分泌到血淋巴中^[26-29]。本研究证实植食性昆虫棉铃虫幼虫唾液(反吐液)中存在凝集活性物质。通过对唾液、前肠液和中肠液凝集活性分析,发现凝集素只在唾液和前肠液中存在,我们推断唾液中的凝集素可能是由棉铃虫幼虫下唇腺分泌的,后续我们通过对棉铃虫下唇腺转录组分析,发现了多个凝集素基因(未发表资料)。凝集素作为模式识别受体,能够最先发现并结合存在于病原物表面的糖蛋白或糖脂,这对病原物的识别和清除起着至关重要的作用^[30]。

唾液是昆虫内部与外界环境接触的桥梁,唾液中的凝集素有利于昆虫尽早识别病原物,清除因取食所带来的病原物。唾液样品通过不同饱和度的硫酸铵盐析,获得的蛋白组分具有凝集活性,这说明唾液中的凝集活性物质即为蛋白质。昆虫凝集素除了受到正常生理的调控外,一些外源因素也能诱导其表达水平的变化,如病原菌、寄生虫、机械损伤和物理因子等^[11, 13, 15-16]。棉铃虫唾液中凝集素是否受到这些因素的影响还有待进一步研究。

凝集素能识别病原物或动物红细胞等异物,其本质就是对细胞膜表面糖链信息的识别,通过糖抑制试验即糖分子直接与凝集素糖识别结构域竞争性结合,抑制凝集素对红细胞的凝集作用,获知不同凝集素的糖结合特性。本文通过对棉铃虫血淋巴和唾液凝集素的糖结合谱进行比较,发现两者对糖的结合谱存在差异,这说明唾液中的凝集素不同于血淋巴中的凝集素。棉铃虫血淋巴中报道至少有 8 种凝集素,这 8 种凝集素不仅在结构上存在差异,其时空表达模式也有不同^[11]。目前,已有多种昆虫凝集素的糖结合谱被报道,它们对糖的结合特性各有不同^[14, 31-32]。对糖结合谱的差异也代表了凝集素对病原物的识别谱存在差异。植食性昆虫通过唾液与复杂的外界环境直接接触,面临的病原物种类和数量可能都要高于血淋巴,这就要求唾液中应有更为丰富的凝集素来完成特定的免疫识别作用。有关棉铃虫唾液中凝集素的种类、理化特性及抗菌作用还有待进一步揭示。

参考文献

[1] RIVERA-VEGA L J, ACEVEDO F E, FELTON G W. Genomics of Lepidoptera saliva reveals function in herbivory [J]. Current Opinion in Insect Science, 2017, 19: 61–69.

[2] 禹海鑫, 叶文丰, 孙民琴, 等. 植物与植食性昆虫防御与反防御的三个层次[J]. 生态学杂志, 2015, 34(1): 256–262.

[3] XU Hongxing, QIAN Lixin, WANG Xingwei, et al. A salivary effector enables whitefly to feed on host plants by eliciting salicylic acid-signaling pathway [J]. Proceedings of the National Academy of Sciences, 2019, 116(2): 490–495.

[4] YANG Lihong, WANG Xionggya, BAI Sufen, et al. Expression divergence of insect GOX genes: From specialist to generalist glucose oxidase [J]. Journal of Insect Physiology, 2017, 100: 21–27.

[5] 殷海娣, 黄翠虹, 薛莹, 等. 昆虫唾液成分在昆虫与植物关系中的作用[J]. 昆虫学报, 2006, 49(5): 843–849.

[6] 张帅, 崔金杰, 王春义, 等. 棉铃虫幼虫唾液腺 cDNA 文库的构建及 EST 分析[J]. 昆虫学报, 2012, 55(6): 625–633.

[7] CELORIO-MANCERA MD L P, COURTIAD E J, MUCK A, et al. Sialome of a generalist Lepidopteran Herbivore: identification of transcripts and proteins from *Helicoverpa armigera* labial salivary glands [J/OL]. PLoS ONE, 2011, 6(10): e26676. DOI:10.1371/journal.pone.0026676.

[8] PAUCHET Y, MUCK A, SVATOS A, et al. Mapping the larval midgut lumen proteome of *Helicoverpa armigera*, a generalist herbivorous insect [J]. Journal of Proteome Research, 2008, 7(4): 1629–1639.

[9] KENNEDY J, PALVA P, CORELLA M, et al. Lectins, versatile proteins of recognition: a review [J]. Carbohydrate Polymers, 1995, 26(3): 219–230.

[10] 蒋芸芸. 鳞翅目昆虫内外凝集素的研究概况[J]. 华东昆虫学报, 2006, 15(1): 25–29.

[11] WANG Jialin, LIU Xusheng, ZHANG Qi, et al. Expression profiles of six novel C-type lectins in response to bacterial and 20E injection in the cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2012, 37(2): 221–232.

[12] WEIS W I, TAYLOR M E, DRICKAMER K. The C-type lectin superfamily in the immune system [J]. Immunological Reviews, 1998, 163(1): 19–34.

[13] WANG Xionggya, BAI Sufen, LI Xin, et al. Differential responses of *Helicoverpa armigera* C-type immulectin genes to the endoparasitoid *Campoplex chloridae* [J/OL]. Archives of Insect Biochemistry and Physiology, 2017, 94(3): e21379. DOI:10.1002/arch.21379.

[14] 范金水, 罗志良. 棉铃虫血淋巴凝集素的性质研究[J]. 武汉大学学报(自然科学版), 1997, 43(6): 781–784.

[15] KEEBAUGH E S, SCHLENKE T A. Adaptive evolution of a novel *Drosophila* lectin induced by parasitic wasp attack [J]. Molecular Biology and Evolution, 2012, 29(2): 565–577.

[16] CHAI Lianqin, TIAN Yuanyuan, YANG Dantong, et al. Molecular cloning and characterization of a C-type lectin from the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2008, 32(1): 71–83.

[17] YU Xiaoqiang, KANOST M R. Immulectin-2, a pattern recognition receptor that stimulates hemocyte encapsulation and melanization in the tobacco hornworm, *Manduca sexta* [J].

- Developmental & Comparative Immunology, 2004, 28(9): 891–900.
- [18] LING Erjun, YU Xiaoliang. Cellular encapsulation and melanization are enhanced by immulectins, pattern recognition receptors from the tobacco hornworm *Manduca sexta* [J]. Developmental & Comparative Immunology, 2006, 30(3): 289–299.
- [19] SASAKI T, HIRAOKA T, KOBAYASHI M. Hemolytic activity is mediated by the endogenous lectin in the mosquito hemolymph serum [J]. Journal of Insect Physiology, 2010, 56(9): 1032–1039.
- [20] 曹小红, 霍哲, 王春玲, 等. 家蝇幼虫凝集素的分离纯化及其抑制 MCF-7 细胞活性的研究[J]. 天津科技大学学报, 2009, 24(2): 1–4.
- [21] 曹小红, 许程剑, 曾斌, 等. 家蝇凝集素的免疫调节作用[J]. 天然产物研究与开发, 2010(1): 20–23.
- [22] 程振衡, 孙勇. 亚洲玉米螟血淋巴的凝集素活性[J]. 昆虫学报, 1993, 36(1): 14–20.
- [23] 张利芬, 白素芬, 李欣. 烟夜蛾血淋巴凝集素活性的研究[J]. 河南农业大学学报, 2013, 47(3): 313–317.
- [24] ZHAO Xiaofan, WANG Jinxing, WANG Yinchang. Purification and characterization of a cysteine proteinase from eggs of the cotton boll worm, *Helicoverpa armigera* [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 1998, 28(4): 259–264.
- [25] YE Xiujuan, NG T. A novel lectin with highly potent antiproliferative and HIV-1 reverse transcriptase inhibitory activities from cicada (*Cicada flammata*) [J]. Applied Microbiology and Biotechnology, 2010, 86(5): 1409–1418.
- [26] DENBURG J L. Cockroach muscle hemagglutinins—candidate recognition macromolecules [J]. Biochemical and biophysical research communications, 1980, 97(1): 33–40.
- [27] MAUCHAMP B. Purification of an *N*-acetyl-*D*-glucosamine specific lectin (PBA) from epidermal cell membranes of *Pieris brassicae* L. [J]. Biochimie, 1982, 64(11): 1001–1008.
- [28] 周明慧, 王春玲, 赵旭荣, 等. 家蝇凝集素的纯化及对巨噬细胞免疫活性的影响[J]. 天津科技大学学报, 2010, 25(3): 5–8.
- [29] 朱呈智, 李海峰, 赵刚, 等. 粘虫幼虫血清, 血浆及血细胞裂解液凝集活性的比较研究[J]. 南开大学学报(自然科学版), 1993(4): 13–17.
- [30] TAKEUCHI O, AKIRA S. Pattern recognition receptors and inflammation [J]. Cell, 2010, 140(6): 805–820.
- [31] 裴炎, 卢晓风, 杨星勇, 等. 棕尾别麻蝇(*Sarcophaga peregrina*)幼虫与蛹血淋巴凝集素的纯化与特性[J]. 动物学报, 2001, 47(1): 59–63.
- [32] 李士云, 吴克佐, 张双全, 等. 柞蚕蛹血淋巴中凝集素的分离鉴定[J]. 昆虫学报, 1987, 30(1): 1–7.

(责任编辑: 田 喆)

(上接 90 页)

- [35] 崔晓芃, 石娟, 王海香, 等. 基于 MaxEnt 模型的红脂大小蠹在中国适生区的预测[J]. 植物保护学报, 2019, 46(4): 925–926.
- [36] 宋子骄, 秦誉嘉, 马福欢, 等. 基于 MaxEnt 的木瓜秀粉蚧适生性分析[J]. 植物检疫, 2019, 33(5): 73–78.
- [37] 孙宏禹, 李志红, 杨普云, 等. 基于最大熵模型的斑翅果蝇适生性研究[J]. 中国植保导刊, 2016, 36(12): 66–73.
- [38] MONTEITH J L. Agricultural meteorology: evolution and application [J]. Agricultural and Forest Meteorology, 2000, 103(1): 5–9.
- [39] QIN Jianglin, YANG Xiuhao, YANG Zhongwu, et al. New technology for using meteorological information in forest insect pest forecast and warning systems [J]. Pest Management Science, 2017, 73(12): 2509–2518.
- [40] MARTINI X, STELINSKI L L. Influence of abiotic factors on flight initiation by Asian citrus psyllid (Hemiptera: Liviidae) [J]. Environmental Entomology, 2017, 46(2): 369–375.
- [41] ATWAL A S, CHAUDHARY J P, RAMZAN M. Studies on the development and field population of citrus psylla, *Diaphorina citri* Kuwayama (Psyllidae: Homoptera) [J]. Journal of Research-Punjab Agricultural University, 1970, 7(3): 333–338.
- [42] YANG Yueping, HUANG Mingdu, ANDREW G, et al. Distribution, biology, ecology and control of the psyllid *Diaphorina citri* Kuwayama, a major pest of citrus: a status report for China [J]. International Journal of Pest Management, 2006, 52(4): 343–352.
- [43] 白先进, 邓崇岭, 陆国保, 等. 柑桔木虱耐寒性调查研究[J]. 中国南方果树, 2008, 37(6): 22–24.
- [44] HALL D G, WENNINGER E J, HENTZ M G. Temperature studies with the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri*: Cold hardiness and temperature thresholds for oviposition [J/OL]. Journal of Insect Science, 2011, 11(1): 83. DOI: 10.1673/031.011.8301.
- [45] 钟景辉. 松突圆蚧花角蚜小蜂成虫的耐热性[J]. 福建农林大学学报(自然科学版), 2010, 39(5): 465–470.
- [46] 张会娜, 吕建华, 亚川川, 等. 高温处理对玉米象成虫死亡率和水分含量的影响[J]. 河南工业大学学报(自然科学版), 2014, 35(6): 45–48.
- [47] 邝凡, 林梦琪, 袁水秀, 等. 高温对亚洲柑橘木虱死亡率和活动行为的影响[J]. 南方农业学报, 2017, 48(9): 1600–1604.
- [48] NAROUËI-KHANDAN H A, HALBERT S E, WERNER S P, et al. Global climate suitability of citrus huanglongbing and its vector, the Asian citrus psyllid, using two correlative species distribution modeling approaches, with emphasis on the USA [J]. European Journal of Plant Pathology, 2016, 144(3): 655–670.
- [49] LIU Yinghong, TSAI J H. Effects of temperature on biology and life table parameters of the Asian citrus psyllid, *Diaphorina citri* Kuwayama Homoptera: Psyllidae [J]. Annals of Applied Biology, 2000, 137(3): 201–206.
- [50] 任素丽, 欧达, 张利荷, 等. 不同寄主植物对柑橘木虱发育和繁殖的影响[J]. 应用昆虫学报, 2018, 55(4): 56–61.
- [51] TSAI J H, LIU Yinghong. Biology of *Diaphorina citri* (Homoptera: Psyllidae) on four host plants [J]. Journal of Economic Entomology, 2000, 93(6): 1721–1725.
- [52] 陈建利, 阮传清, 刘波, 等. 柑橘木虱对柑橘不同品种的趋性[J]. 福建农业学报, 2011, 26(2): 280–283.

(责任编辑: 田 喆)