

· 专论与综述 ·

doi: 10.16801/j.issn.1008-7303.2022.0114

杀虫活性多肽研究进展

叶德兴, 周源琳, 张怡萌, 陈黛妮, 杨新玲*

(中国农业大学 理学院 应用化学系 农药创新研究中心, 北京 100193)

摘要: 传统杀虫剂在防治害虫、保障农作物丰收等方面做出了卓越贡献,但是由于其化学性质以及不合理使用,对环境也带来了一些负面影响。因此,以环境友好为前提,寻找结构独特、性能优异以及绿色安全的杀虫剂尤为迫切。多肽是由多个氨基酸通过肽键连接而成,也是蛋白质降解而成的中间产物,在生命过程中具有重要作用。近年来,杀虫活性多肽因其新颖的作用机制、优异的活性、理想的环境相容性而成为农药领域一颗冉冉升起的新星。本文主要从来源于动物、植物和微生物的杀虫活性多肽角度出发,综述了其近年来的研究进展及应用,并对未来的研究趋势进行了展望。

关键词: 多肽; 动物毒素; 昆虫神经肽; 植物环肽; 微生物多肽; 杀虫活性肽; 研究进展
中图分类号: S482.38 **文献标志码:** A

Research progress of insecticidal peptides: a review

YE Dexing, ZHOU Yuanlin, ZHANG Yimeng, IQBAL Chandni, YANG Xinling*

(Innovation Center of Pesticide Research, Department of Applied Chemistry, College of Science,
China Agricultural University, Beijing 100193, China)

Abstract: Traditional insecticides have made remarkable contributions to pest control and crop harvest, but bring about some adverse impacts on environment due to their chemical properties and unreasonable use. Consequently, it is particularly urgent to discover pesticides with unique structure, excellent performance and green safety on the premise of ecological friendliness. Polypeptide is composed of multiple amino acids connected by peptide bonds, and also is an intermediate product of protein degradation and plays a significant role in the life process. In recent years, insecticidal peptides have become a rising star in the field of pesticides thanks to their novel mechanism, excellent activity and ideal environmental compatibility. This review mainly summarizes the research progress and application of insecticidal peptides from animals, plants and micro-organisms, and prospect for future research trends.

Keywords: polypeptide; venom; insect neuropeptide; plant cyclopeptides; microbial peptides; insecticidal peptides; research progress

收稿日期: 2022-08-24; 录用日期: 2022-09-23; 网络首发日期: 2022-09-27.

Received: August 24, 2022; Accepted: September 23, 2022; Published online: September 27, 2022.

URL: <https://doi.org/10.16801/j.issn.1008-7303.2022.0114>

<http://www.nyxxb.cn/cn/article/doi/10.16801/j.issn.1008-7303.2022.0114>

基金项目: 国家自然科学基金 (21877126).

Funding: Supported by the National Natural Science Foundation of China (21877126).

第一作者 (First author): 叶德兴, S20213101993@cau.edu.cn. *通信作者 (Corresponding author): 杨新玲, yangxl@cau.edu.cn.

The authors declare that they have no competing interests.



农药作为农业的重要生产资料，在控制病虫害、保证农业生产和粮食安全等方面做出了卓越贡献。农药随着农业的发展和环境安全的要求提高而不断更新换代，以杀虫剂为例，先后经历了低效高毒的无机农药、高效高毒的有机农药、高效低毒的仿生有机农药和高效低风险的生态友好型农药时期(图 1)。近年来，一些农药如吡虫啉等新烟碱类杀虫剂由于对蜜蜂产生毒害，已被欧盟、美国等许多国家或地区禁用^[1]。此外，鱼尼丁类杀虫剂如氯虫苯甲酰胺对小型甲壳类(水蚤)等

水生生物和家蚕等陆生生物具有不同程度的毒性^[2]。因此，开发生态友好型杀虫剂迫在眉睫。2020 年，一种源自蓝山漏斗网蜘蛛 *Hadronyche versuta* 的多肽类杀虫剂 Spear®荣获美国总统“绿色化学挑战奖(小企业奖)”，该杀虫剂对刺吸式口器害虫(蚜虫、蓟马、飞虱等)高效、对哺乳动物和蜜蜂安全且生态友好^[3]，杀虫活性肽因此成为农药研发者关注的焦点之一。本文将主要从来源和作用方式等角度，综述近年来杀虫活性多肽的研究进展，并对未来研究趋势进行展望。



图 1 不同时期农业背景下的杀虫剂发展历程

Fig. 1 The development of insecticides in different periods of agriculture

1 杀虫活性多肽简介

多肽是由至少两种以上氨基酸按照一定的排列顺序通过肽键结合而成的化合物，也是蛋白质降解的中间产物，其分子量大小介于小分子和蛋白质之间。1902 年，英国伦敦大学的两位生理学家 Bayliss 和 Starling 在动物胃肠里发现了由 27 个氨基酸残基组成的促胰液素，具有促进胃酸分泌、抑制胃泌素释放以及抑制肠道蠕动等功能，这是人类首次发现的多肽物质，他们因此获得诺贝尔生理学奖，至此，多肽物质正式出现在科学研究之中^[4]。此后人们发现多肽作为生命体内重要的生理调节物质，具有多种生物学功能，如调节细胞的功能活动、作为神经递质传递信息、作为营养物质的运输工具输送营养等^[5]，且具有高活

性、低毒性、环境安全等优点，在医药、化妆品、保健品及农业等领域得到广泛应用。尤其是近年来伴随着分子生物学和生物化学技术的飞速发展，有关多肽的研究进展迅速。例如，在医药领域，目前有超过 80 余种多肽药物获得批准进入市场，在肿瘤、心血管疾病、糖尿病、免疫疾病等方面疗效显著，此外还有 50 多种多肽药物处于临床开发期，400~600 种多肽药物正处于临床前的研究^[6]。

鉴于多肽药物在医药领域的广泛应用，诸多学者开始探索多肽在农业应用的可能性。人们在探索过程中发现一些多肽物质(如抗菌肽、昆虫神经肽、植物环肽等)在农业领域可用于作物品质改良、动物饲料、食品保健、植物病虫害防治等。

多肽与传统杀虫剂相比具有高活性、高选择性、且降解后对环境和非靶标生物安全等优点,因此具有开发为杀虫剂的巨大潜力。近年来发现了一些成功应用的例子,例如来源于植物环肽的商品化杀虫剂 Sero-X®^[7]、以及来自蜘蛛毒液的商品化多肽杀虫剂 Spear®^[3] 的相继问世并斩获多项奖项,将多肽杀虫剂推向前所未有的浪潮。截止 2022 年,全球多肽杀虫剂产品登记数量已有 4 种,其中美国登记产品 3 种 (<http://npirspublic.ceris.purdue.edu/ppis/>), 澳大利亚登记产品 1 种 (<https://australianmade.com.au/licensees/innovate-ag/sero-x>)。

笔者通过 SciFinder 数据库,以‘peptide’和‘insecticide’作为检索词进行统计分析(图 2),结果发现,自 1992 年至 2022 年的 30 年时间内,以 5 年为一个时间段进行统计,有关多肽类杀虫剂的相关研究呈现明显的上升趋势,尤其是近 5 年就有 1493 篇相关报道。1993 年, Bland 等^[8] 就提出天然杀虫肽具有作为新型农药先导的潜力。2003 年, Gäde 等^[9] 对昆虫神经肽的生理学和在害虫控制中的潜在应用进行综述和展望。2022 年, Gressel^[10] 提出了设计多肽杀虫剂来作为“不可成药”靶标的活性分子的观点,使多肽杀虫剂有了更多的发展空间。由此可见,将多肽作为农药用于害虫防治,正成为越来越热门的研究方向之一。此外,从检索结果分析得知,至今已从自然界各种生物中成功分离得到许多具有杀虫活性的多肽,按来源可以分为动物源、植物源和微生物源杀虫活性肽。

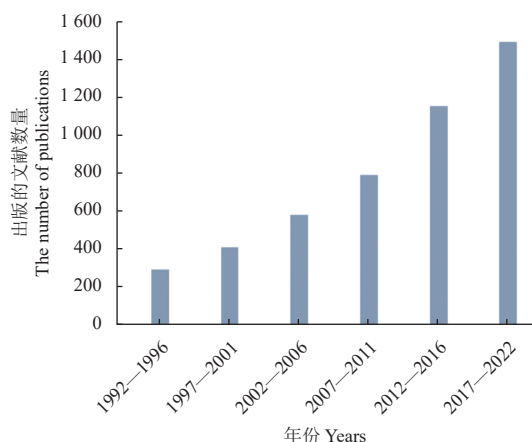


图 2 多肽杀虫剂的研究趋势 (1992—2022 年, 数据源自 Scifinder 数据库)

Fig. 2 Research progress in the field of peptide insecticide from 1992 to 2022

2 源于动物的杀虫活性多肽

经过数百万年的进化,自然界里的一些动物、特别是节肢动物(如蜘蛛、蝎子、蚂蚁等)和海洋动物(如水母、海葵、锥形蜗牛等)分泌产生了特异性和对靶标高效的毒液^[11],用于捕食猎物、防御天敌以及种内交流与竞争。这些动物毒液是含有多肽和蛋白质等物质的复杂混合物,诸多学者研究并发现多种动物毒液具有杀虫活性,而毒液中的多肽是发挥杀虫作用的关键物质。这些肽通常具有与传统化学杀虫剂不同的作用模式,例如,在蚂蚁^[12-14]、蜜蜂^[15-16]等动物的毒液中所发现的杀虫活性多肽,可以选择性地靶向某些害虫物种,而不影响有益的昆虫或脊椎动物(包括人类),从而最大限度地减少对环境的负面影响。此外,昆虫自身体内的内源神经肽及其类似物也会影响昆虫的正常生长发育等。本文对有关动物源杀虫活性多肽的不同来源及其作用的主要靶标害虫进行了整理,并对源于动物毒液的杀虫活性肽、以及昆虫神经肽及其类似物进行重点介绍。

2.1 源于节肢动物毒液的杀虫活性多肽

2012 年, Schwartz 等^[17] 综述了在节肢动物(如蜘蛛、蝎子、蚂蚁和蜈蚣等)毒液中发现的杀虫活性多肽,它们对鳞翅目、双翅目、直翅目、鞘翅目等多种昆虫具有毒杀作用,但对哺乳动物低毒或无毒。其中,来自蜘蛛和蝎子毒液的杀虫活性肽一般高达 9 kDa,分子质量较大,而且含有大量二硫键,可增加多肽在猎物体内的稳定性和对蛋白酶的抵抗力,使其降解速率降低。由于这些分子的稳定性,它们可以通过在昆虫的血淋巴中扩散而迅速到达其分子靶标并发挥杀虫作用^[18]。从表 1 也可以看出,源自节肢动物毒液里的杀虫肽大多是从蜘蛛和蝎子的毒液中提取得到的。

2.1.1 源于蜘蛛毒液的杀虫活性肽 据报道,每种蜘蛛毒液含有 200 种左右的肽,在现存的 10 万种蜘蛛物种里,其蜘蛛毒液保守估计可能含有多达 2000 万种生物活性肽,正因为其难以置信的化学多样性,使得蜘蛛毒液广泛用于药物与杀虫剂研发^[19]。大多数蜘蛛毒液的主要成分为富含二硫键的小肽,它们通过靶向突触前离子通道或突触后受体杀死昆虫,目前报道的蜘蛛杀虫肽大部分(40.6%)是从捕鸟蛛科(Theraphosidae)家族的蜘蛛中分离出来的^[20]。源自蜘蛛毒液的杀虫活性肽的

主要优点是它们具有显著的杀虫效果以及对分子靶标的选择性。一些杀虫多肽还具有特殊的类别选择性, 例如, 沙漠灌木蜘蛛 *Diguetia canity* 毒液中的多肽 β -diguetoxin-Dc1a^[21] 以及非洲狼蛛 *Augacephalus ezendami* 毒液中的多肽 μ -theraphotoxin-Ael1a^[22], 它们对德国蜚蠊 *Blattella germanica* 具有强大的杀虫作用, 但不会显著影响美洲大蠊 *Periplaneta americana*。许多蜘蛛毒液具有胃毒活性^[23-25], 如 71% 的蜘蛛毒液对果蝇具有胃毒杀虫作用^[24]。此外, 从地窖蜘蛛 *Segesteria florentina* 的毒液中分离出的 SF1a 可以通过与植物凝集素 *Galanthus nivalis* 融合而显著改善口服活性, 该凝集素能将肽毒素附着在肠道上皮, 并有效地将它们输送到血细胞、马氏管、脂肪体、卵巢和中枢神经系统^[26]。特别令人兴奋的是, 美国韦斯塔隆公司 (Vestaron) 近年来以一种源自蓝山漏斗网蜘蛛 *Hadronyche versuta* 毒液的多肽 ω/κ -HXTX-Hv1a 为基础, 采用基因工程技术成功开发出生态友好的杀虫肽—GS- ω/κ -HXTX-Hv1a, 并以此多肽为活性成分推出两个产品 Spear®: 1) Spear-T, 专为温室使用而设计的产品, 旨在控制困扰温室作物的四种主要害虫: 蓟马、粉虱、蚜虫和螨虫。2) Spear-Lep, 用于田间的水果、蔬菜和高价值作物的生物杀虫剂, 主要防治鳞翅目害虫如毛毛虫、甘蓝银纹夜蛾、蠕虫。Spear®多肽杀虫剂对人类、其他哺乳动物、鸟类、鱼类和蜜蜂无毒无害, 且采用微生物发酵而得, 降解产物为氨基酸, 因而具有出色的安全性, 近来备受关注意^[3]。Spear®与现有杀虫剂作用机制不同, 主要与烟碱乙酰胆碱受体 (nAChR) 变构调节剂位点 II 结合, 选择性地作用于目标害虫的离子通道^[3], 因此, 被国际杀虫剂抗性行动委员会 (IRAC) 列入第 32 组, 与同靶标受体 (nAChR) 的第 4 组和第 5 组的杀虫剂, 以及不同靶标受体的其他杀虫剂具有较低的交互抗性风险。

2.1.2 源于蝎子毒液的杀虫活性肽 蝎子毒液是神经毒性肽、粘多糖和其他成分的复杂混合物^[27], 主要成分是由 23~80 个氨基酸组成的肽^[28]。其中研究比较多的是针对钠离子或钾离子通道的特异性毒素肽, 这些肽作用于具有高亲和力和特异性的离子通道, 并且还可以区分昆虫和哺乳动物的离子通道^[11], 因而具有较好的选择性。例如特克曼似刺尾蝎 *Centruroide tecomanus* 的毒液含有选

择性的杀虫活性肽 Ct-IT1 和 Ct-IT2, 可导致蟋蟀在低剂量下瘫痪并最终死亡^[28]。从黄肥尾蝎 *Androctonus australis* 毒液中分离得到的 AaIT 是一种选择性杀虫肽, 能作用于昆虫的钠离子通道, 从而导致害虫的快速兴奋性麻痹甚至死亡^[29]。由于其严格的毒性选择性和高生物活性, AaIT 被广泛应用于探索害虫生物防治的试验中。研究发现, AaIT 在杆状病毒或真菌中的重组表达可以增加其对害虫的毒性, 将 AaIT 应用到转基因作物, 可使作物具有显著的抗虫能力^[29]。因此, AaIT 作为一种有效的毒素, 具有开发为商业杀虫剂的巨大潜力。2007 年, Gurevitz 等阐述了来自蝎子的 β -毒素与昆虫的钠离子通道具有高亲和力的结合, 并研究了二者的相互作用模式, 这些信息对设计抗昆虫的选择性肽模拟物很有帮助^[30]。

2.2 源于海洋动物的杀虫活性肽

由于独特的环境条件和广阔的空间, 海洋栖息地比陆地环境孕育了更丰富的生物资源, 因此针对海洋资源开发利用将有力地促进多肽杀虫剂的发展。目前关于海洋生物来源的杀虫活性肽研究主要集中在水母^[31-33]、海葵^[34-37]、锥形蜗牛 (芋螺)^[38-42] 等海洋动物中, 但尚未有商品化的品种问世, 在此仅对这 3 类海洋生物来源的杀虫活性肽稍作简介。

2.2.1 源于水母的杀虫活性肽 水母是最为丰富的海洋生物之一, 李鹏程课题组^[31]发现野村水母 *Nemopilema nomurai* 的毒液 NnFV 对红蜘蛛 *Tetranychus cinnabarinus* 表现出较好的杀虫活性, NnFV 通过影响红蜘蛛体壁导致其严重萎缩而死亡, 田间试验发现 NnFV 对柑桔全爪螨 *Panonychus citri* 具有较强的药效^[32], 而且 NnFV 对蚕没有毒性, 具有环境安全性。李鹏程团队^[33]还发现来自水母 *Rhopilema esculentum* 触手的多肽毒液对杜鹃冠网蝽 *Stephanitis pyri* 和蚜虫 (如花生蚜 *Acyrtosiphon medicaginis*、桃蚜 *Myzus persicae*) 具有杀虫活性, 其对杜鹃冠网蝽 *S. pyri* 48 h 后的校正死亡率达到 97.86%, LC₅₀ 值为 123.1 $\mu\text{g/mL}$, 该发现为从海洋生物中开发生物杀虫剂奠定了良好的开端。

2.2.2 源于海葵的杀虫活性肽 海葵家族是一个研究和开发杀虫肽的宝库, Bosmans 等^[34]报道了海葵毒液中对昆虫具有选择性的毒素肽, 并发现其作用于昆虫钠离子通道, 刘少华等^[35]从舟山黄海

葵粗毒液中纯化筛选出杀虫肽 GF1, 对脊尾白虾和黄粉虫具有高活性、但对哺乳动物小鼠低活性。来自沟迎风海葵 *Anemonia viridis* 的杀虫多肽 Av3 对害虫钠离子通道表现出特异性^[36], 当 Av3 和苏云金芽孢杆菌中的蛋白质 Cry1Ac 融合表达形成融合蛋白 Cry1Acv3, 可显著提高 Av3 的杀虫活性^[37]。

2.2.3 源于锥形蜗牛的杀虫活性肽 锥形蜗牛是一大类掠食性腹足类动物, 其毒液中含有无与伦比的药理活性和结构多样性的多肽化合物, 但到目前为止所研究的毒液化合物尚不到总数的 0.1%^[38], 这些肽毒素可以作用于钠、钾、钙离子通道以及烟碱乙酰胆碱受体 (nAChRs)^[39]。Bruce 等^[40] 把来自锥形蜗牛的毒素 TxVIA 注射到鳞翅目 (卷心菜蛾) 和双翅目 (家蝇) 幼虫体内时, 显示出杀虫活性。高炳森等^[41] 通过高通量筛选的方法开发潜在生物杀虫剂, 首先构建了 215 个芋螺毒素转录本的综合文库, 然后基于具有杀虫活性的 ImI 肽序列, 采用同源对比法从库中筛选出 6 种具有杀虫潜力的芋螺毒素, 进一步通过生物测定发现其中两种毒素对黄粉虫具有很高的杀虫活性。海洋多肽 CTx-btg01 具有良好的抑制昆虫细胞生长、高效的杀虫活性和较弱的哺乳动物毒性作用, 可为研发新型高效安全的多肽类生物杀虫剂奠定基础^[42]。

2.3 昆虫神经肽及其模拟物

2.3.1 昆虫神经肽 昆虫神经肽 (insect neuropeptide, 简称 IN) 通常由 5~80 个氨基酸组成, 由昆虫大脑中枢神经系统分泌、合成, 通过神经细胞或者体液在昆虫体内传递的小分子活性肽。早在 1922 年, 波兰科学家 Kopeć 就首次报道大脑中的神经肽物质控制着昆虫蜕皮和蜕变^[43]。此后, 美洲大蠊体内的直肠肽与蝗虫体内的脂肪动力激素 (AKH) 这两种昆虫神经肽相继被报道。随着基因组学、现代生物化学、分子生物学、基因工程技术等的快速发展与应用, 已有 4780 余种昆虫神经肽被发现^[44]。昆虫神经肽根据其功能主要分为: 促前胸腺素 (prothoracicotropic hormone, PPTH)^[45] 和抑前胸腺素 (prothoracicostatic hormone, PTSH)^[46]、促咽侧体素 (allatotropins, ATs) 和抑咽侧体素 (allatostatins, ASTs)^[47]、羽化激素 (eclosion hormone, EH)^[48]、滞育激素 (diapause hormone, DH)^[49]、信息素生物合成激活肽 (pheromone

biosynthesis activating neuropeptides, PBAN)^[48-50]、利尿激素 (diuretic hormone, DH) 和抗利尿激素 (antidiuretic hormone, ADH)^[51]、直肠肽 (proctolin)^[52]、昆虫激肽 (insect kinins, IKs) 或称为肌动肽 (myokinins)^[53]、速激肽 (tachykinins)^[54] 等。这些神经肽在昆虫体内扮演着十分重要的角色, 其通过调控昆虫体内器官或腺体的活动, 进而影响昆虫的生长发育、利尿、蜕皮、肌肉合成、信号传导等重要的生理生化过程。

昆虫神经肽具有很多优点: 活性高, 选择性强, 对人畜无毒, 降解后为氨基酸对环境无污染, 绿色安全, 因而引起研究者的青睐。目前, 人们对 4 类不同的昆虫神经肽进行了较为深入的研究, 它们是信息素生物合成激活神经肽 (PBAN)、直肠肽、激肽 (IKs) 和抑咽侧体素 (ASTs), 确定了它们的生物活性序列, 并测试了这 4 种神经肽对不同昆虫的杀虫效果^[44]。来自谷实夜蛾、棉铃虫、甘蓝夜蛾等昆虫体内的 PBAN 是一种具有多重功能的昆虫神经肽, 主要调节雌蛾性信息素的产生, 其通过和性信息素腺体细胞膜上的受体结合, 经过一系列的信号传递途径, 最终影响昆虫体内性信息素的合成和释放^[44]。直肠肽是一种内源性五肽, 最早于 1975 年从美洲大蠊 *Periplaneta Americana* 里发现, 广泛分布在节肢动物中, 具有调节昆虫后肠、生殖、骨骼以及心脏肌肉收缩的功能, 其作为昆虫体内的兴奋性神经调节剂, 可以增加动作电位的频率并调节肌肉收缩的幅度^[44]。由蝗虫的运动神经元产生的直肠肽, 能调节果蝇的爬行等行为^[55]。昆虫激肽于 1984 年从马德拉蟑螂 *Leucophaea maderae* 脑提取物中首次发现, 迄今人们已分离并鉴定出 40 多种不同的昆虫激肽, 其功能主要有促进肌肉收缩和马氏管扭动、调节消化系统和协同利尿作用等, 有些激肽还可以影响脂肪和蛋白质的合成、唾液腺的分泌等^[56]。抑咽侧体素 (ASTs) 是一类由昆虫脑神经细胞分泌的昆虫神经肽, 最早于 1989 年从未交配的雌性太平洋折翅蠊 *Diploptera punctata* 的大脑提取物中发现, 此外从果蝇、黏虫、蝗虫、蟋蟀、丽蝇和小龙虾等动物中都发现了 ASTs, 其功能主要通过作用于咽侧体进而抑制保幼激素 (JH) 合成与释放^[57]。基于昆虫神经肽的这些重要生理功能和诸多优点, 它们被认为是一类潜在的害虫控制剂的先导化合物, 可以应用于有害生物的防治。

2.3.2 昆虫神经肽模拟物 天然昆虫神经肽容易被昆虫体内的酶降解、在有机和水溶液中的溶解度较差, 存在生物利用性低、药代动力学性质差、生产成本昂贵等不足。因此, 运用模拟肽学、生物技术等方法对天然昆虫神经肽进行结构修饰和改造, 以期克服上述缺陷并保持优异的生物活性, 从而发现具有实际应用价值的新型绿色杀虫剂就成为多肽杀虫剂研究的热点。国内外许多研究者从结构简化、生物稳定性、活性提高等角度出发, 通过模拟肽学的方法对昆虫神经肽的结构进行了修饰和改造, 得到许多神经肽模拟物并进行了构效关系研究, 部分模拟物表现出良好的药效学和药代动力学性质, 包括生物活性、代谢稳定性等。

鉴于 PBAN 的稳定性差及穿透性差的问题, Nachman 等^[58] 用非肽代替 PBAN 结构里的部分天然多肽, 可以增加其稳定性及穿透性, 从而提高生物活性。Harinton 等^[59] 用 D 型苯丙氨酸取代 L 型氨基酸并将主链环化, 得到了高选择性且代谢稳定的环化 PBAN 类似物, 可抑制雌性点实夜蛾 *Heliothis peltigera* 性信息素的合成, Nachman 等对 PBAN 模拟物进行了更多介绍^[60], 本文就不再赘述。Noronha^[61] 曾报道 2 位氨基酸被 α -甲基化或 *N*-甲基化的直肠肽模拟物可以用作激动剂和拮抗剂。Scherkenbeck 等^[62] 报道, 将直肠肽的 Tyr² 和 Leu³ 之间的一个 NH 替换为 O 后的模拟物可以使东亚飞蝗 *Locusta migratoria* 的肌肉收缩失去活性 (1 mmol/L), 直肠肽的环化模拟物 (cycloproctolin) 可作为有效拮抗剂阻止第二信使 InsP3(胰岛素 P3) 和 InsP4(胰岛素 P4) 产生直肠肽。Konopinska^[63] 曾介绍了直肠肽的 80 种模拟物以及它们对美洲大蠊、东亚飞蝗等生物活性。本课题组针对天然 AST 易酶解的不足, 利用模拟肽学和分子设计技术发现 H17^[64]、K15^[65]、K24^[65]、P5^[66]、B1^[67]、II12^[68] 和 A6^[69] 等一系列具有高活性的 AST 模拟肽化合物, 并对国内外关于 AST 模拟物的研究工作进行了详细总结^[70]。

然而, 有关昆虫激肽结构及其模拟物的相关综述报道较少, 在此对昆虫激肽模拟物的研究进行较为详细的介绍。昆虫激肽 (Insect Kinins, IKs) 的 C 末端均含有特征性的进化保守五肽序列 Phe-Xaa¹-Xaa²-Trp-Gly-NH₂ (Xaa¹=His, Asn, Phe, Ser 或 Tyr; Xaa²=Pro, Ser 或 Ala)。Nachman 等^[71] 发

现五肽序列 Phe-Tyr-Ser-Trp-Gly-NH₂ 与其天然母肽 leucokinin-VIII 具有水平相当的离体蜚蠊后肠肌亲和活性, 而序列短于五肽的片段均失去亲和活性; Holman 等也发现五肽序列 Phe-Tyr-Pro-Trp-Gly-NH₂ 在离体后肠肌亲和活性试验^[72] 和蟋蟀利尿试验^[73] 中均表现出与天然母肽相当的活性。以上研究表明, 该核心五肽片段是昆虫激肽保持生物活性所必须的最短序列, 也是其主要的功能区^[53]。昆虫激肽家族成员均易被昆虫体内的组织结合肽酶 (例如血管紧张素转化酶 (ACE) 等) 所水解而失活^[74], 天然昆虫激肽中的两个酶解位点也已经被发现, 其中主要的酶解位点位于活性核心五肽序列 Phe¹-Tyr²-Pro³-Trp⁴-Gly⁵-NH₂ 的 Pro³ 和 Trp⁴ 之间, 次级酶解位点位于 Phe¹ 的 N 末端^[75-76]。Nachman 团队采用模拟肽学的方法, 在酶解位点引入非天然氨基酸, 得到的昆虫激肽模拟物抗酶降解能力显著提高, 而且这些模拟物的活性与天然的昆虫激肽活性相当甚至更高。通过构象分析, Nachman^[77] 提出了昆虫激肽活性构象及与受体相互作用模型, 并推测 Phe¹-Trp⁴ 形成的 β 转角是其活性构象。此外, 研究发现 C 末端酰胺化是昆虫激肽活性所必需的^[78], 而十分有趣的是, 当 C 末端由酰胺基变为醛基后的模拟物能引起棉铃虫幼虫死亡、以及家蝇的抗利尿作用^[79]。董守良课题组^[80-82] 通过在酶解位点引入可光致异构化的硫代酰胺键 Ψ [CS-N]、可诱导 cis/trans 异构变化的伪脯氨酸 (Ψ Pro), 设计合成了多个系列的昆虫激肽模拟物, 并研究了它们的构象与活性的关系。Zubrzak 等^[75] 将 β 氨基酸引入到昆虫激肽特定序列位点, 所得到的昆虫激肽模拟物保持了一定的生物活性, 且抗酶降解能力远高于天然肽。Smagghe 等^[83] 发现昆虫激肽模拟物对豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* 具有明显杀蚜活性。笔者以六肽类似物 K-Aib-1 作为先导化合物, 通过对昆虫激肽 1、3、5 位进行结构修饰和优化, 发现多个具有良好活体杀蚜活性的激肽模拟物如 II-1^[84] 和 IV-3^[85], 而且这些化合物表现出很好的稳定性。最近, 笔者^[86-87] 利用模拟肽学手段针对昆虫激肽关键位点 Phe² 和 Trp⁴ 进行结构优化, 发现了杀蚜活性优异且对蜜蜂低毒的模拟肽化合物 L₂₅ 和 M₁, 这为新型绿色蚜虫控制剂的创制提供了新的策略。

不同动物来源的杀虫活性多肽及其作用的主要靶标害虫详见表 1。

表 1 不同动物来源的杀虫活性多肽及其作用的主要靶标害虫

Table 1 The insecticidal peptides from different animals and their main target pests

多肽名称 Name of peptides	来源 Sources	靶标害虫 Target pests	参考文献 References
δ -PaluIT (1,2,3,4)	阴暗拟隙蛛 <i>Pireneitega luctuosa</i>	斜纹夜蛾 <i>Spodoptera litura</i> (钠离子通道 sodium channel)	[88]
Magi-(2,3)	巨型上户蜘蛛 <i>Macrothele gigas</i>	斜纹夜蛾 <i>S litura</i> (钠离子通道 sodium channel)	[89]
Magi3	巨型上户蜘蛛 <i>M. gigas</i>	双斑大蟋 <i>Gryllus bimaculatus</i> (钠离子通道 sodium channel)	[90]
PnTx4-3	巴西漫游蜘蛛 <i>Phoneutria nigriventer</i>	家蝇 <i>Musca domestica</i> (离子型谷氨酸受体 ionotropic glutamate receptors, iGluRs)	[91]
PnTx4(5-5)	巴西漫游蜘蛛 <i>P. nigriventer</i>	家蝇 <i>M. domestica</i> (离子型谷氨酸受体 iGluRs)	[92]
GS- ω /k-HXTX-Hv1 (Spear)	蓝山漏斗网蜘蛛 <i>Hadronyche versuta</i>	蚜虫 aphids 蓟马 thrips 飞虱 delphacidaeas (烟碱乙酰胆碱受体 Nicotinic acetylcholine receptors, nAChRs)	[3]
J-ACTX-Hv(1a,1b,1c)	蓝山漏斗网蜘蛛 <i>H. versuta</i>	蟋蟀 <i>A. domestica</i> <i>Acheta domesticus</i> (钙离子通道 calcium channel)	[93]
ω -ACTX-Hv2a	蓝山漏斗网蜘蛛 <i>H. versuta</i>	蟋蟀 <i>A. domestica</i> (钙离子通道 calcium channel)	[94]
ω -ACTX-Ar1a	悉尼漏斗网蜘蛛 <i>Atrax robustus</i>	蟋蟀 <i>A. domestica</i> (钙离子通道 calcium channel)	[94]
Tx4(6-1)	巴西流浪蜘蛛 <i>Phoneutria nigriventer</i>	美洲大蠊 <i>Periplaneta americana</i> 家蝇 <i>M. domestica</i> (钠离子通道 sodium channel)	[95]
CsTx-(1,2a,2b)	美国流浪蜘蛛 <i>Cupiennius salei</i>	黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i> (钙离子通道 calcium channel)	[96]
HWTX-V	中国鸟类蜘蛛 <i>Haplopelma schmidtii</i>	迁飞蝗虫 <i>Migratory manieusis</i> (钙离子通道 calcium channel)	[97]
Ba (1,2)	墨西哥金背红尾蜘蛛 <i>Brachypelma ruhnaui</i>	蟋蟀 <i>A. domestica</i>	[98]
CpTx1	大袋蜘蛛 <i>Cheiracanthium punctorium</i>	麻蝇 <i>Sarcophaga carnaria</i> (可能是脂质双分子层 may be lipid bilayer)	[99]
CpTx (2a,3a,4a)	大袋蜘蛛 <i>C. punctorium</i>	麻蝇 <i>S. carnaria</i>	[100]
LaSicTox- α IB2bi	亚利桑那棕色蜘蛛 <i>Loxosceles arizonica</i>	蟋蟀 <i>A. domesticus</i>	[101]
β -diguetoxin-Dc1a	沙漠灌木蜘蛛 <i>Diguetia canities</i>	德国小蠊 <i>Blattella germanica</i>	[21]
μ -DGTX-Dc1a	沙漠灌木蜘蛛 <i>D. canities</i>	绿棉铃虫 <i>Heliothis virescens</i> (钠离子通道 sodium channel)	[102]
μ -theraphotoxin-Ae1a	非洲狼蛛 <i>Augacephalus ezendami</i>	德国小蠊 <i>B. germanica</i>	[22]
OAIP-1	狼蛛属 <i>Selenotypus plumipes</i>	黄粉虫 <i>Tenebrio molitor</i> 棉铃虫 <i>Helicoverpa armigera</i>	[25]
κ -TRTX-Ec (2a,2b)	狼蛛属 <i>Eucratoscelus constrictus</i>	双斑大蟋 <i>Gryllus bimaculatus</i> (钙离子通道 calcium channel)	[103]
U1-TRTX-Ct1 (a,b)	狼蛛属 <i>Coremiocnemis tropix</i>	铜绿蝇 <i>Lucilia cuprina</i> (可能是钙离子通道 may be calcium channel)	[104]
Oxki (1,2) Pin2	狼蛛属 <i>Oxyopes kitabensis</i>	斜纹夜蛾 <i>S. litura</i> (钠离子通道 sodium channel)	[105]
brachylin	洪都拉斯卷毛蜘蛛 <i>Brachypelma albopilosum</i>	美洲大蠊 <i>Periplaneta americana</i> 黄粉虫 <i>T. molitor</i>	[106]
ω -Tbo-IT1	短胸长逍遥蛛 <i>Tibellus oblongus</i>	家蝇 <i>M. domestica</i> 马达加斯加蟑螂 <i>Gromphadorhina portentosa</i> (钙离子通道 calcium channel)	[107]
Ba1	金红臀部狼蛛 <i>Brachypelma albiceps</i>	蟋蟀 <i>A. domesticus</i> (钠离子通道 sodium channel)	[108]
Latroeggt toxin-III	间斑寇蛛 <i>Latrodectus tredecimguttatus</i>	美洲大蠊 <i>P. americana</i> (钠、钙离子通道 sodium, calcium channel)	[109]
Sf1a	地窖蜘蛛 <i>Segesteria florentina</i>	铜绿蝇 <i>Lucilia cuprina</i> (钠离子通道 sodium channel)	[110]
OxyTx (1,2)	猗猗蜘蛛 <i>Oxyopes lineatus</i>	草地贪夜蛾 <i>Spodoptera frugiperda</i> (钙离子通道 calcium channel)	[111]
OtTx1	猗猗蜘蛛 <i>O. takobius</i>	麻蝇 <i>S. carnaria</i>	[112]

续表 1

Table 1 (Continued)

多肽名称 Name of peptides	来源 Sources	靶标害虫 Target pests	参考文献 References
μ -TRTX-Ae1a	莫桑比克半月巴布 <i>Augacephalus ezendami</i>	铜绿蝇 <i>L. cuprina</i> 黑腹果蝇 <i>D. melanogaster</i> 长红猎蝽 <i>Rhodnius prolixus</i> (钠离子通道 sodium channel)	[113]
μ -NPTX-Nc1a	棒络新妇 <i>Nephila clavata</i>	美洲大蠊 <i>P. americana</i> (钠、钾离子通道 sodium, calcium channel)	[114]
β -TRTX-Cd1a	后角獬狒蜘蛛 <i>Ceratogyrus darlingi</i>	铜绿蝇 <i>L. cuprina</i> (钠、钙离子通道 sodium, calcium channel)	[115]
U2-SCTX-Li1b	棕色蜘蛛属 <i>Loxosceles intermedia</i>	铜绿蝇 <i>L. cuprina</i>	[116]
μ/ω -TRTX-Mb1 (a,b)	梦幻蓝巴布捕鸟蛛 <i>Monocentropus balfouri</i>	铜绿蝇 <i>L. cuprina</i> (钠、钙离子通道 sodium, calcium channel)	[117]
μ -SPRTX-Hv2	白额巨蟹蛛 <i>Heteropoda venatoria</i>	美洲大蠊 <i>P. americana</i> (钠离子通道 sodium channel)	[118]
AaHIT1	黄肥尾蝎 <i>Androctonus australis</i>	斜纹夜蛾 <i>S. litura</i> (钠离子通道 sodium channel)	[119]
LqhIT2	以色列金蝎 <i>Leiurus quinquestriatus</i>	斜纹夜蛾 <i>S. litura</i> (钠离子通道 sodium channel)	[120]
LqhaIT	以色列金蝎 <i>L. quinquestriatus</i>	肉蝇 <i>Sarcophaga falculata</i> (钠离子通道 sodium channel)	[121]
BotIT (1,4,5)	地中海黄蝎 <i>Buthus occitanus</i>	德国小蠊 <i>B. germanica</i> (钠离子通道 sodium channel)	[122]
Bot IT2	地中海黄蝎 <i>B. occitanus</i>	德国小蠊 <i>B. germanica</i> (钠离子通道 sodium channel)	[123]
BotIT6	地中海黄蝎 <i>B. occitanus</i>	德国小蠊 <i>B. germanica</i> (钠离子通道 sodium channel)	[124]
BmKIT1	东亚钳蝎 <i>Mesobuthus martensii</i>	双斑大蟋 <i>G. bimaculatus</i> (钠离子通道 sodium channel)	[125]
TbIT-1	巴伊亚戾蝎 <i>Tityus bahiensis</i>	家蝇 <i>M. domestica</i> (钠离子通道 sodium channel)	[126]
BsIT (1,2,3,4)	杀牛蝎属 <i>Buthus sindicus</i>	肉蝇 <i>S. falculata</i> 德国小蠊 <i>B. germanica</i> (钠离子通道 sodium channel)	[127]
BmBKTx1	东亚钳蝎 <i>Mesobuthus martensii</i>	黑腹果蝇 <i>D. melanogaster</i> 美洲大蠊 <i>P. americana</i>	[128]
BjaIT	钳蝎 <i>Buthotus judaicus</i>	肉蝇 <i>S. falculata</i> (钠离子通道 sodium channel)	[129]
BoITx1	地中海黄蝎 <i>B. occitanus</i>	果蝇 <i>Drosophila</i>	[130]
U1-liotoxin-Lw1a	雨林蝎子 <i>Liocheles waigiensis</i>	黄粉虫 <i>Tenebrio molitor</i> 铜绿蝇 <i>L. cuprina</i>	[131]
Ct-IT (1,2)	特克曼似刺尾蝎 <i>Centruroides tecomanus</i>	蟋蟀 <i>A. domesticus</i> (钠离子通道 sodium channel)	[28]
AaIT	黄肥尾蝎 <i>Androctonus australis</i>	绿棉铃虫 <i>H. virescens</i> (钠离子通道 sodium channel)	[29]
Checacin1	伪蝎 <i>Chelifer Cancroides</i>	豌豆蚜 <i>A. pisum</i>	[132]
poneratoxin	子弹蚁 <i>Paraponera clavata</i>	草地贪夜蛾 <i>S. frugiperda</i> (钠离子通道 sodium channel)	[12]
U-MYRTX-MANr1	马尼卡蚁属 <i>Manica rubida</i>	蚜虫 aphids (离子通道 ion channels)	[13]
Ponericins	厚结猛蚁属 <i>Pachycondyla goeldii</i>	蟋蟀 <i>Acheta domesticus</i>	[14]
Brh-(I,V)	麦蛾茧蜂 <i>Bracon hebetor</i>	蜡螟 <i>Galleria mellonella</i>	[15]
Vespulakinin	额斑黄胡蜂 <i>Vespula maculifrons</i>	蟑螂 cockroach (缓激肽受体 bradykinin receptor)	[16]
NnFV	野村水母 <i>Nemopilema nomurai</i>	胭脂红蜘蛛螨 <i>T. cinnabarinus</i>	[31]
RFV	水母 <i>Rhopilema esculentum</i>	杜鹃冠网蝽 <i>Stephanitis pyri</i> , 花生蚜 <i>A. medicaginis</i> , 桃蚜 <i>M. persicae</i>	[33]
GF1	舟山黄海葵 <i>Anthopleura xanthogrammica</i>	黄粉虫 <i>Tenebrio molitor</i> (钠离子通道 sodium channel)	[35]
Av3	沟迎风海葵 <i>Anemonia viridis</i>	果蝇 <i>Drosophila</i> (钠离子通道 sodium channel)	[36]

续表 1
Table 1 (Continued)

多肽名称 Name of peptides	来源 Sources	靶标害虫 Target pests	参考文献 References
TxVIA	锥形蜗牛 <i>Conus</i>	家蝇 <i>M. domestica</i> (烟碱乙酰胆碱受体 nAChRs)	[40]
ImI	锥形蜗牛 <i>Conus</i>	黄粉虫 <i>T. molitor</i> (钠离子通道 sodium channel)	[41]
α -nemertides	靴带蠕虫 <i>Lineus longissimus</i>	绿蟹 <i>Carcinus maenas</i> (钠离子通道 sodium channel)	[133]
Adipokinetic hormone	东亚飞蝗 <i>Locusta migratoria</i>	东亚飞蝗 <i>L. migratoria</i> (影响发育和蜕皮 effects of development and ecdysis)	[134]
Anti-diuretic Factor	黄粉虫 <i>T. molitor</i>	黄粉虫 <i>T. molitor</i> (抑制马氏管液体分泌 inhibit liquid secretion in malpighian tubules)	[135]
Allatotropin	烟草天蛾 <i>Manduca sexta</i>	烟草天蛾 <i>M. sexta</i> (刺激 JH 生物合成 stimulate JH biosynthesis)	[136]
Neuropeptide F	果蝇 <i>Drosophila</i>	果蝇 <i>Drosophila</i> (影响觅食、取食 influence feeding and foraging)	[137]
Neuropeptide-like precursor	果蝇 <i>Drosophila</i>	果蝇 <i>Drosophila</i> (调控发育 regulate development)	[138]
Natalisin	果蝇 <i>Drosophila</i>	果蝇 <i>Drosophila</i> (影响繁殖 influence reproduction)	[139]
Short neuropeptide F	果蝇 <i>Drosophila</i>	(影响取食和生长 influence feeding and growth)	[140]
Bursicon	黑腹果蝇 <i>Drosophila melanogaster</i>	黑腹果蝇 <i>D. melanogaster</i> (影响角质层 influence cuticle)	[141-142]
GP2, 5	黑腹果蝇 <i>D. melanogaster</i>	黑腹果蝇 <i>D. melanogaster</i> (抗利尿 antidiuresis)	[143-144]
Partner of bursicon	黑腹果蝇 <i>D. melanogaster</i>	黑腹果蝇 <i>D. melanogaster</i> (影响角质层 influence cuticle)	[143-144]
Trissin	黑腹果蝇 <i>D. melanogaster</i>	黑腹果蝇 <i>D. melanogaster</i> (调节前肠、中肠收缩 regulate foregut-midgut contractions)	[145]
CNMamide	黑腹果蝇 <i>D. melanogaster</i>	黑腹果蝇 <i>D. melanogaster</i>	[146]
RY amide	寄生黄蜂 <i>Nasonia vitripennis</i>	寄生黄蜂 <i>N. vitripennis</i>	[147]
CCHamide	桑蚕 <i>Bombyx mori</i>	桑蚕 <i>B. mori</i> (影响取食 influence feeding)	[148]
Orcokinin	桑蚕 <i>B. mori</i>	桑蚕 <i>B. mori</i> (影响肠道功能 influence gut function)	[149]
Kinin	马德拉蜚蠊 <i>Leucophaea maderae</i>	马德拉蜚蠊 <i>L.maderae</i> (影响肌肉、利尿活动 influence myotropic, diuretic activities)	[72]
Pheromone biosynthesis Activating neuropeptide (PBAN)	马德拉蜚蠊 <i>L. maderae</i>	马德拉蜚蠊 <i>L.maderae</i> (调控信息素生物合成 regulate pheromone biosynthesis)	[58]
Sulfakinin	马德拉蜚蠊 <i>L. maderae</i>	马德拉蜚蠊 <i>L.maderae</i> (持续兴奋 continued excitement)	[150]
Diuretic hormone 31	太平洋折翅蠊 <i>Diploptera punctata</i>	太平洋折翅蠊 <i>D. punctata</i> (调节液体分泌 regulate fluid secretion)	[151]
AllatostatinA,B,C	蟑螂 Cockroach 蟋蟀 Cricket 蛾 Moth	蟑螂 Cockroach 蟋蟀 Cricket 蛾 Moth (抑制 JH 合成 inhibit JH synthesis)	[152-154]
H17	抑咽侧体素模拟物 Allatostatin mimic	太平洋折翅蠊 <i>D. punctata</i>	[64]
K15,K24	抑咽侧体素模拟物 Allatostatin mimic	太平洋折翅蠊 <i>D. punctata</i>	[65]
P5	抑咽侧体素模拟物 Allatostatin mimic	太平洋折翅蠊 <i>D. punctata</i>	[66]
B1	抑咽侧体素模拟物 Allatostatin mimic	太平洋折翅蠊 <i>D. punctata</i>	[67]
II12	抑咽侧体素模拟物 Allatostatin mimic	太平洋折翅蠊 <i>D. punctata</i>	[68]
A6	抑咽侧体素模拟物 Allatostatin mimic	太平洋折翅蠊 <i>D. punctata</i>	[69]
K-Aib-1	激肽模拟物 Kinin mimic	豌豆蚜 <i>Acyrtosiphon pisum</i>	[83]
II-1	激肽模拟物 Kinin mimic	大豆蚜 <i>Aphis glycines</i>	[84]
IV-3 等 IV-3 etc.	激肽模拟物 Kinin mimic	大豆蚜 <i>A. glycines</i>	[85]
M ₁ 等 M ₁ etc.	激肽模拟物 Kinin mimic	大豆蚜 <i>A. glycines</i>	[86]
L ₂₅ 、L ₇ 等 L ₂₅ , L ₇ etc.	激肽模拟物 Kinin mimic	大豆蚜 <i>A. glycines</i>	[87]

3 源于植物的杀虫活性多肽

在植物中分离出对害虫有毒、对非靶标生物安全的多肽, 可为绿色作物保护提供新的策略。植物源杀虫活性多肽是植物自身合成的、对害虫有杀虫活性的一类小分子多肽。关于植物源杀虫活性多肽及其作用靶标已有诸多报道, 它们大多来源于茜草科、豆科、堇菜科、茄科和葫芦科等植物中, 包括环肽、豌豆白蛋白、防御素及重组肽等, 对棉铃虫、蚜虫、烟粉虱、谷象及线虫等具有良好的防效, 其中植物环肽、豌豆白蛋白因具有突出的杀虫活性, 得到人们的广泛关注, 在此作为重点介绍。

3.1 植物环肽

环肽是一系列植物来源的肽家族, 它们由 26 至 37 个氨基酸以及 6 个保守的半胱氨酸残基组成, 这些半胱氨酸残基由 3 个分子间二硫键连接, 形成称为环胱氨酸结 (cyclic cysteine knot, CCK) 的环状结构^[155]。环肽独特的拓扑化学结构使其不易被酶降解, 不受温度变化和化学物质的影响^[156], 引起很多科学研究工作者的广泛重视与探究。植物环肽广泛存在于葫芦科、豆科、茜草科、茄科、堇菜科等植物中^[157], 这些环肽具有广泛的生物活性, 如抗菌、杀虫、杀线虫、杀软体动物等^[158], 可为植物提供自然保护使其免受各种病虫害的侵害, 利用该特性可以将具有杀虫或杀线虫活性的环肽配制成相应的生物农药, 用于农业病虫害的防治。

2017 年, 澳大利亚的 Innovate Ag 公司开发出一种无毒、蜜蜂友好的世界首个植物环肽类生物杀虫剂—Sero-X®^[6], 其是从蝴蝶豌豆 *Clitoria ternatea* 中提取出来的环肽混合物, 对棉铃虫 *Helicoverpa armigera*、烟粉虱 *Bemisia tabaci* 和稻绿蝽 *Nezara viridula* 等多种害虫有着良好的防治效果, 且对非靶标生物没有影响^[159]。百花蛇舌草 *Oldenlandia affinis* 中的环肽 kalata B1^[160] 与 kalata B2^[161] 可以杀死鳞翅目害虫棉铃虫 *H. armigera*, 蝴蝶豌豆 *Clitoria ternatea* 中环肽 cter M 也对棉铃虫具有杀虫活性^[162]。环肽 cycloviolacin O1、kalata B1、kalata B2、kalata B7 对一系列软体动物如福寿螺 *Pomacea canaliculata* 显示杀灭活性^[163]。Colgrave 等^[164] 发现环肽 cycloviolacin O14、kalata B1、kalata B6 具有杀线虫活性。Pinto 等^[165] 发现从茜

草科植物 *Palicourea rigida* 分离的环肽 paragidin-br1 会影响甘蔗害虫小蔗螟 *Diatraea saccharalis* 幼虫的生长发育, 对草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 也有一定防效。最近研究发现四种环肽 cycloviolacin O2、cycloviolacin O3、cycloviolacin O13 以及 cycloviolacin O19 对桃蚜的取食行为具有阻碍作用^[166]。

大多数杀虫环肽可引起害虫的肠道上皮细胞肿胀、损伤并最终破裂^[167], kalata B1 就是通过破坏棉铃虫肠道上皮细胞从而发挥杀虫作用^[168], 研究发现环肽通过破坏桃蚜中肠和消化道细胞来抑制桃蚜的取食行为^[166]。对二斑叶螨 *Tetranychus urticae* 喂食特定的环肽后, 环肽会作用于螨消化道并影响螨的正常生长^[169]。总之, 生物活性环肽通过与靶膜结合并发生相互作用, 最后将其破坏, 从而杀死昆虫。作用机制研究发现, 这些环肽化合物有特定的氨基酸残基形成的疏水性表面, 对其生物活性起着至关重要的作用, 例如具有高效杀虫活性的环肽 kalata B1、kalata B2、cycloviolacin O2 和 cycloviolacin O14 结构中都含有疏水表面^[170]。

3.2 豌豆白蛋白

1986 年, 豌豆白蛋白 (pea albumin 1b, PA1b) 首次从豌豆种子中分离与鉴定^[171]。PA1b 是由 37 个氨基酸组成的肽, 其中含有 6 个半胱氨酸参与构成 3 个分子内的二硫键, 二硫键的形成使得 PA1b 具有耐酶降解性和热稳定性^[172]。PA1b 作为一种有效的杀虫活性肽, 可以防治储粮害虫和蔬菜中的主要害虫, 如 PA1b 对储粮害虫米象 *Sitophilus oryzae*、谷象 *Sitophilus granarius* 和玉米象 *Sitophilus zeamays* 具有杀虫活性^[172], 对某些种类的蚜虫如豌豆蚜 *A. pisum*^[173] 也有一定活性。此外还发现其对媒介害虫蚊子如尖音库蚊 *Culex pipiens*^[174] 和埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 表现出杀虫活性 (表 2)。电生理学和生化的相关研究表明, PA1b 靶向一种名为液泡-ATP 酶 (V-ATP 酶) 的多聚体蛋白质复合物^[175]。V-ATP 酶大小约为 1 MDa, 由 ATP 水解结构域 (V₁) 与质子跨膜结构域 (V₀) 组成^[176], 主要存在于昆虫的马氏管、中肠和唾液腺等器官的上皮细胞质膜上, 对昆虫的生长发育有着重要作用^[177]。PA1b 是在植物体内发现的第一个 V-ATP 酶肽抑制剂, 通过与质子跨膜结构域 (V₀) 的亚基 c 和 e 结合^[178] 阻断昆虫中肠上的 V-ATP 酶活性, 导致昆虫死亡。一些疏水性残基

(如 Phe-10、Ile-23、Arg-21 和 Leu-27) 对 PA1b 发挥生物活性至关重要^[179]。研究发现, PA1b 对蜜蜂等有益昆虫没有影响且对哺乳动物低毒^[180]。由于 PA1b 具有对昆虫的独特选择性, 且可以从大豆和豌豆等常见植物中提取, 是一种很有前途的杀虫活性多肽。

3.3 其他植物源杀虫肽

源于豌豆、萝卜和大麦等一些植物组织中的 γ -硫堇蛋白防御素为富半胱氨酸家族, 是由 45~54 个氨基酸组成的碱性肽, 具有多种生物活性, 如抗菌、杀虫、抑制 α -淀粉酶和蛋白酶的活性^[181]。Chen 等^[182]报道了从绿豆中获得的新颖防御素 VrCRP 对绿豆象 *Callosobruchus chinensis* 有杀虫活性, 尤其是含有 0.2% VrCRP 的种子可以完全阻碍豆象发育。Choi 等^[183]在水稻体内表达来自芜菁 *Brassica rapa* 的植物防御素 BrD1, 结果发现表达 BrD1 的转基因水稻品系表现出明显的抗褐飞

虱 *Nilaparvata lugens* 的能力, 这些研究表明植物防御素在抗虫作物的开发中会有很好的前景。此外, 有研究表明, 由刀豆 *Canavalia ensiformis* 中的刀豆毒素衍生而来的重组多肽 jaburetox-2Ec, 对秘鲁皮蠹 *Dysdercus peruvianus* 和四纹豆象 *Callosobruchus maculatus* 具有良好的杀虫活性, 此活性是因刀豆毒素被昆虫组织蛋白酶水解产生 10 kDa 杀虫肽 pepcanatox 所致^[184]。Mulinari 等^[185]通过异源体系 (大肠杆菌) 产生相当于 pepcanatox 的重组肽 jaburetox-2Ec, 生测活性研究表明, 草地贪夜蛾 3 龄幼虫摄食含有 16.3 μ mol/L jaburetox-2Ec 的饲料 2 d 后, 虫体变小 (比对照小 20%), 若摄取 47 μ mol/L 的 jaburetox-2Ec 后, 则全部死亡。

有关不同植物来源的杀虫活性多肽及其作用的主要靶害虫详见表 2。

表 2 不同植物来源的杀虫活性多肽及其作用的主要靶标害虫			
Table 2 The insecticidal peptides from different plants and their main target pests			
多肽名称 Name of peptides	来源 Sources	靶标害虫 Target pests	参考文献 References
Kalata (B1, B2)	百花蛇舌草 <i>Oldenlandia affinis</i>	棉铃虫 <i>Helicoverpa armigera</i>	[161]
Kalata (B1, B2, B7, B8)	百花蛇舌草 <i>O. affinis</i>	福寿螺 <i>Pomacea canaliculata</i>	[162]
Kalata (B1, B2, B6, B7)	百花蛇舌草 <i>O. affinis</i>	捻转血矛线虫 <i>Hemonchus contortus</i> 蛇形毛圆线虫 <i>Trichostrongylus colubriformis</i>	[163]
Cycloviolacin (O2, O3, O13, O19)	香堇菜 <i>Viola odorata</i>	桃蚜 <i>Myzus persicae</i>	[164]
Cycloviolacin O1	香堇菜 <i>V. odorata</i>	福寿螺 <i>P. canaliculata</i>	[163]
Varv A/ Kalata S	香堇菜 <i>V. odorata</i>	捻转血矛线虫 <i>H. contortus</i> 蛇形毛圆线虫 <i>T. colubriformis</i>	[170]
VarvE/Cycloviolacin O12	香堇菜 <i>V. odorata</i>	捻转血矛线虫 <i>H. contortus</i> 蛇形毛圆线虫 <i>T. colubriformis</i>	[170]
Cycloviolacin (H3, O1, O8, O13, O14, O15, O16, O24, Y1, Y4, Y5)	肾叶堇菜 <i>Viola hederacea</i>	捻转血矛线虫 <i>H. contortus</i> 蛇形毛圆线虫 <i>T. colubriformis</i>	[170]
Vhl-1	肾叶堇菜 <i>V. hederacea</i>	捻转血矛线虫 <i>H. contortus</i> 蛇形毛圆线虫 <i>T. colubriformis</i>	[170]
Hypa A	鼠鞭草 <i>Hybanthus parviflorus</i>	地中海实蝇 <i>Ceratitis capitata</i>	[185]
Cter M (clotide T3)	蝴蝶豌豆 <i>Clitorea ternatea</i>	棉铃虫 <i>H. armigera</i>	[162]
Sero-X	蝴蝶豌豆 <i>C. ternatea</i>	棉铃虫 <i>H. armigera</i> 烟粉虱 <i>Bemesia tabaci</i> 稻绿蝽 <i>Nezara viridula</i>	[159]
Parigidin-Br1	茜草科 <i>Palicourea rigida</i>	小蔗螟 <i>Diatraea saccharalis</i> 草地贪夜蛾 <i>Spodoptera frugiperda</i>	[165]
PA1b	豌豆 <i>Pisum sativum</i>	米象 <i>Sitophilus oryzae</i> 谷象 <i>Sitophilus granarius</i> 玉米象 <i>Sitophilus zeamays</i>	[172]
PA1b	豌豆 <i>P. sativum</i>	尖音库蚊 <i>Culex pipiens</i> 豌豆蚜 <i>Acyrtosiphon pisum</i>	[173]
PA1b	豌豆 <i>P. sativum</i>	埃及伊蚊 <i>Aedes aegypti</i>	[174]

续表 2

Table 2 (Continued)

多肽名称 Name of peptides	来源 Sources	靶标害虫 Target pests	参考文献 References
VrCRP	绿豆 <i>Vigna radiata</i>	绿豆象 <i>Callosobruchus chinensis</i>	[182]
VrD1	绿豆 <i>V. radiata</i>	豆象科 Bruchidae	[181]
BrD1	芜菁 <i>Brassica rapa</i>	褐飞虱 <i>Nilaparvata lugens</i>	[183]
Jaburetox-2Ec	刀豆 <i>Canavalia ensiformis</i>	秘鲁皮蠹 <i>Dysdercus peruvianus</i> 四纹豆象 <i>Callosobruchus maculatus</i> 草地贪夜蛾 <i>S. frugiperda</i>	[185]

4 源于微生物的杀虫活性多肽

微生物源多肽是一类重要的活性物质，主要来源于真菌和细菌，具有丰富的化学结构和生物活性。早在 1939 年，杜博斯 (René Jules Dubos) 在微生物中发现短杆菌肽具有良好的抗菌作用，此后许多学者在微生物中发现具有多种功能的多肽^[186]。笔者以‘microbial peptides’为检索词在 SciFinder 数据库进行检索发现，近 30 年发表微生物多肽的相关文献量有 18 248 篇。这些微生物多肽按照其功能可以分为 8 类，分别为抗真菌、抗细菌、抗病毒、抗癌、抗藻、免疫抑制、抗疟疾以及杀虫活性等 (图 3)。统计结果表明，微生物多肽的作用以抗细菌、免疫抑制、抗病毒以及抗真菌为主，占比达 90%，而有关微生物杀虫肽的报道非常少，仅占 3%。但随着粮食需求的增加以及全球提倡绿色农药的大背景下，有关微生物杀虫肽的研究会逐渐成为研究热点。

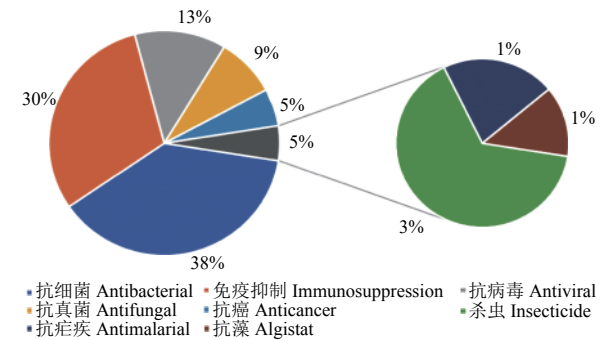


图 3 不同功能微生物多肽的发文章占比 (1992—2022 年, 数据源自 Scifinder 数据库)

Fig. 3 Proportion of publications about microbial peptides with different functions from 1992 to 2022

已有文献报道，一些源自真菌的多肽具有良好的杀虫活性。例如，绿僵菌的代谢产物-绿僵菌素是由 5 个氨基酸和 1 个羧基酸残基形成的一类六元环缩肽化合物^[187]，目前已经被广泛用于防治

鳞翅目、同翅目、双翅目、等翅目、直翅目和鞘翅目等多种昆虫。Mochizuki 等^[188] 从白僵菌中提取到的 Beauveriolide I 可以杀死斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 和绿豆象 *Callosobruchus chinensis*，杜丰玉^[189] 等发现来自白僵菌的另一种菌株 *Beauveria felina* EN-135 中的环肽 iso-isariin D 具有杀虫活性。周立刚课题组^[190] 综述了 635 种真菌环二肽 (也称 2,5-二酮哌嗪类)，并根据其生物合成起源和结构特征把这些环二肽分为 6 类：色氨酸-脯氨酸、色氨酸-色氨酸、色氨酸-Xaa (Xaa 表示为未指定的氨基酸)、脯氨酸-Xaa、非色氨酸-非脯氨酸和硫代类似物，并分别介绍了其结构和生物活性，其中部分化合物对谷实夜蛾 *Helicoverpa zea* 有较好活性。此外报道了缩羧酸环肽 (cyclic depsipeptides, CDPs) 如环状三肽、环状四肽、环状五肽等的相关研究进展，并介绍了其杀虫 (如斜纹夜蛾 *Spodoptera litura*、绿豆象 *Callosobruchus chinensis* 等) 活性的相关探索^[191]。

一些源于细菌的多肽也具有良好的杀虫活性，例如，Mohamed 等^[192] 发现长枝木霉菌株 *Trichoderma longibrachiatum* RIFAI 的 2 种线性肽 longibrachin A-I 和 longibrachinA-II-b 可以杀死红头丽蝇 *Calliphora vomitoria*。来自链霉菌属 *Streptomyces laindensis* H008 的多肽 SLP1 具有杀死菜缢管蚜 *Lipaphis erysimi* 的活性^[193]。Moreira 等^[194] 发现芽孢杆菌中提取到的表面活性素家族的 2 种环肽 pumilacidin 和 pumilacidin C 对埃及伊蚊 *Aedes aegypti* 有良好的活性。最近，Vestaron 公司以苏云金芽孢杆菌库斯塔克亚种 (Bt kurstaki strain) EVB-113-19 株系为活性成分开发上市的 Bt 生物杀虫剂 Leprotec®，在美国 50 个州均获得了登记。该产品为液态剂型，可有效防治多种大田或温室作物的鳞翅目害虫，其与 Spear®-Lep 联合使用效果更理想。

5 天然杀虫肽的应用开发

天然杀虫肽在实际应用中存在一些局限性:

1) 天然杀虫肽的稳定性差, 易被昆虫体内的一些酶降解, 也会受到外界环境条件(如温度、光照、湿度)的影响。2) 一些天然杀虫肽的生物活性较弱, 或具有一定的毒性。3) 部分杀虫肽生产成本较高, 影响市场竞争力。因此, 将天然杀虫活性肽开发为杀虫剂需要综合考虑其田间稳定性、生物利用度、施用方法、安全性、生产成本等多方面因素, 如基于其合成成本及稳定性差等问题, 可以从生产合成(化学合成、生物合成)及性能优化(模拟肽技术的结构优化、剂型优化、递送系统优化)等方面进行改良, 基于天然杀虫肽的安全性, 需要评估其对人类和其他脊椎动物、以及其它非靶标生物(如传粉媒介昆虫和目标害虫的天敌)的安全性等。

5.1 生产合成

天然杀虫活性肽的生产合成以化学合成以及生物合成途径为主。

5.1.1 化学合成 多肽化学合成主要通过氨基酸缩合反应来实现, 其可以分为固相合成和液相合成, 目前多以固相合成来制备杀虫活性肽。1963年, Merrifield 首次提出了固相合成多肽方法, 并因此获得 1984 年的诺贝尔化学奖^[195]。研究最多的环肽 kalata B1, 目前已使用 SPSS 方法有效合成^[196]。此外, 具有杀虫活性的昆虫神经肽类似物等均使用 SPSS 的方法进行合成。值得注意的是, 使用 SPSS 方法合成的肽不宜超过 50 个氨基酸残基, 若肽链过长会导致低产率和低纯度^[197]。

5.1.2 生物合成 多肽的生物合成方法主要包括发酵法和基因工程法。Narayani 等^[196]介绍了利用微生物系统(如大肠杆菌系统、酵母菌系统)以及基于植物系统(植物本身、植物细胞与组织培养物)合成环肽的生物技术。Rivera-de-Torre 等^[18]报道了动物毒素的异源表达、合成及纯化的多种方法。已经商品化的 Spear®杀虫剂是经乳酸克鲁维酵母发酵生产, 其成本可以与市场现有杀虫剂相媲美^[3]。因此使用合成生物学或微生物发酵的方法代替传统的多肽固相合成方法来制备多肽杀虫剂, 是值得深入研究的方向。生物合成方法原料虽然具备来源广泛和成本低等优点, 但也存在一些技术不成熟, 存在不易分离、产率低等问题^[197],

目前仍处于发展阶段。

5.2 性能优化

目前主要通过模拟肽技术或基因工程技术的结构优化、剂型加工技术、递送系统优化等措施来改善天然杀虫活性多肽的稳定性和提高其生物利用度等。

5.2.1 天然杀虫活性多肽的结构优化 对杀虫活性多肽进行化学修饰或改性可以提高其生物活性和药效稳定性, 如天然昆虫神经肽易受温度、pH 等因素的影响。因此, 国内外诸多团队(如 Nachman 团队、杨新玲团队、董守良团队等)通过对天然昆虫神经肽进行化学结构的修饰改造, 从而得到稳定性与活性都显著提高的模拟肽化合物^[77-87]。此外, 通过基因工程技术对天然多肽进行修饰也可以获得更高活性和稳定性的多肽, 如美国韦斯塔隆公司(Vestaron Corporation)采用基因工程技术将甘氨酸-丝氨酸二肽的核苷酸密码子添加至天然蜘蛛毒肽 ω/κ -HXTX-Hv1a 的基因序列, 最终发现了兼具化学杀虫剂的有效性和生物制品的低风险性的多肽杀虫剂 GS- ω/κ -HXTX-Hv1a (商品名 Spear®), 有望为农业和公共卫生领域害虫防控提供一种持续有效的绿色新工具^[198]。

5.2.2 剂型优化 将天然活性肽设计成不同剂型, 可以提高药剂的使用效果和使用价值, 并达到提高稳定性、延缓抗性、降低毒性、减少环境污染、降低成本等效果。通过改进剂型(如增添具有分散、润湿和稳定等作用的功能性助剂)的方法促进多肽透过害虫表皮进入体内与靶标位点结合, 增强药效稳定性(如抗光解、耐雨水冲刷等性能)^[198]。

5.2.3 递送系统优化 药物递送系统(Drug Delivery System, DDS)可以将适量的药物递送到正确的位置, 从而增加药物的利用效率, 提高疗效, 减少毒副作用, 降低成本。Nakasu 等^[199]将杀虫活性肽融合到植物凝集素或病毒外套蛋白中, 杀虫肽的利用率和杀虫活性得到提高。Herzig 等^[200]使用转基因昆虫病原体(例如杆状病毒, 苏云金芽孢杆菌或绿僵菌)来输送杀虫毒素, 其在感染昆虫的同时可以表达杀虫毒素, 从而显示出协同杀虫作用。因此, 今后可以利用生物融合、昆虫病原体等方法改善天然杀虫活性肽的活性。此外, 可以开发与其它作用机制的生物农药或化学农药的复配, 通过不同作用机制的活性成分协同发挥增效作用、扩大杀虫谱和延缓害虫抗药性。

5.3 安全性评价

杀虫剂的开发、生产及使用的整个过程中都需要进行安全性评价, 包括其使用情况、理化性质、环境行为特征以及对非靶标生物的毒性, 其中对非靶标生物的毒性是安全性评价的重要指标, 杀虫多肽也不例外。动物毒液是由多肽、蛋白质等多种物质组合而成的混合物, 这些毒液具有一定的毒性, 但并不一定意味着它们会对人类产生影响^[18]。杀虫活性多肽是从毒液分离出的一种或几种化合物, 安全评价研究发现这些杀虫肽对蜂、鸟、鱼、蚕等非靶标生物是安全的^[20-21,33,159,180]。另一方面, 天然杀虫肽由氨基酸缩合而成且其半衰期较短, 能够在环境中快速降解为氨基酸而不会达到对非靶标生物产生风险, 例如, 源于蜘蛛毒液的商品化 Spear®杀虫剂的急性毒性试验结果表明, 其在最高施用剂量下对哺乳动物、环境生物(蜜蜂、家蚕)及水生生物无显著影响, 高剂量(896.7 g/hm²)未观察到对植物出苗和营养活力的毒害作用^[188]。此外, Grover 等^[158]发现具有杀虫活性的植物环肽(如 cycloviolacin O1、kalata B1、kalata B2、kalata B7 等)具有低溶血毒性和低细胞毒性。

6 总结及展望

随着世界人口的日益增长, 耕地面积的急剧减少, 全球气候的恶化, 提高单位面积农作物产量是保障粮食安全的重要策略。农药的使用可以大幅度减少因病、虫、草害所造成的损失, 保障了农作物安全, 在农业生产中做出了巨大贡献。但由于人们对传统农药的不合理使用以及其自身固有的一些缺陷, 导致环境污染、害虫抗药性的产生以及影响非靶标生物等一系列问题, 阻碍了农业的可持续发展。多种来源于动物、植物或微生物的多肽物质具有开发为生物杀虫剂的潜力, 其具有高效低毒、在环境中降解为氨基酸、对非靶标生物安全等优点, 是极具应用前景的绿色防控手段。针对杀虫活性肽合成成本和稳定性问题, 深化天然杀虫活性肽的生产合成、提高天然杀虫多肽的生物活性、创制新农药等方面的创新性研究显得尤为重要。

寻求农药减量、发展高效低毒环保的生物农药已是全球趋势。杀虫活性多肽作为一种高效低毒、无残留、且对人畜安全的一类生物农药, 有

益于保护生态平衡、保证农业的可持续发展。随着分子生物学、生物化学、合成生物学以及基因工程等技术的飞速发展, 将会极大地推进天然活性肽的产业化发展。相信在未来的可持续农业生产中, 杀虫活性多肽一定会成为防治害虫的重要手段之一, 在植物保护中发挥重要作用。

谨以此文庆贺中国农业大学农药学学科成立 70 周年。

Dedicated to the 70th Anniversary of Pesticide Science in China Agricultural University.

作者简介:



叶德兴, 男, 硕士研究生。2021年6月在山东农业大学制药工程(农药方向)专业获工学学士学位。2021年9月至今在中国农业大学理学院农药学专业攻读硕士学位, 主要从事多肽类农药的创制及其作用机制的研究。



杨新玲, 教授, 博士生导师, 绿色农药分子设计与发现团队负责人。1995年于北京农业大学农药学专业获得理学博士学位。1995年至今在中国农业大学从事教学科研工作, 研究领域为新农药分子设计与合成、化学生物学, 主要研究方向包括靶标导向的新型昆虫生长调节剂的创制、以昆虫源或植物源活性物质为模型的新型害虫行为控制剂研究等, 先后主持或参加国家自然科学基金、国家科技支撑计划、973计划、农业部公益行业项目、国家重点研发计划等课题10余项。曾获IUPAC农药化学‘农药科学特殊贡献奖’, 现任北京农药学会副理事长兼秘书长, 中国农药工业协会知识产权专业委员会副主任委员, 中国化工学会农药专业委员会委员, 中国化学会农业化学专业委员会委员, 中国生化制药工业协会多肽分会专家委员会委员等。担任*Pest Management Science*等期刊编委, 现任《农药学报》常务编委。

参考文献 (References):

- [1] ZHAO Y Y, YANG J W, REN J B, et al. Exposure level of neonicotinoid insecticides in the food chain and the evaluation of their human health impact and environmental risk: an overview[J]. *Sustainability*, 2020, 12(18): 7523.

- [2] 林涛, 游泳, 郑丽祯, 等. 三种双酰胺类杀虫剂制剂对环境非靶标生物的急性毒性[J]. *农药学报*, 2015, 17(6): 757-762.
LIN T, YOU Y, ZHENG L Z, et al. Acute toxicity of three diamide insecticide preparations to environmental non-target organisms[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2015, 17(6): 757-762.
- [3] BOMGARDNER M. Spider venom: an insecticide whose time has come?[J]. *C&EN Glob Enterp*, 2017, 95(11): 30-31.
- [4] TAM J K, LEE L T, JIN J, et al. Molecular evolution of GPCRs: secretin/secretin receptors[J]. *J Mol Endocrinol*, 2014, 52(3): T1-14.
- [5] AKBARIAN M, KHANI A, EGHBALPOUR S, et al. Bioactive peptides: synthesis, sources, applications, and proposed mechanisms of action[J]. *Int J Mol Sci*, 2022, 23(3): 1445.
- [6] MUTTENTHALER M, KING G F, ADAMS D J, et al. Trends in peptide drug discovery[J]. *Nat Rev Drug Discov*, 2021, 20(4): 309-325.
- [7] SHAMBHAWI, SRIVASTAVA S, MISHRA A, et al. Biopesticidal potential of cyclotides: an insight[J]. *Phytochem Rev*, 2022: 1-21.
- [8] BLAND J M, EDWARDS J V, EATON S R, et al. Potential of natural peptidic compounds as leads for novel pesticides[J]. *Pestic Sci*, 1993, 39(4): 331-340.
- [9] GÄDE G, GOLDSWORTHY G J. Insect peptide hormones: a selective review of their physiology and potential application for pest control[J]. *Pest Manag Sci*, 2003, 59(10): 1063-1075.
- [10] GRESSEL J. Perspective: it is time to consider new ways to attack unpesticidable (undruggable) target sites by designing peptide pesticides[J]. *Pest Manag Sci*, 2022, 78(6): 2108-2112.
- [11] CASEWELL N R, WÜSTER W, VONK F J, et al. Complex cocktails: the evolutionary novelty of venoms[J]. *Trends Ecol Evol*, 2013, 28(4): 219-229.
- [12] ORIVEL J, REDEKER V, LE CAER J P, et al. Ponericins, new antibacterial and insecticidal peptides from the venom of the ant *Pachycondyla goeldii*[J]. *J Biol Chem*, 2001, 276(21): 17823-17829.
- [13] SZOLAJSKA E, POZNANSKI J, FERBER M L, et al. Poneratoxin, a neurotoxin from ant venom[J]. *Eur J Biochem*, 2004, 271(11): 2127-2136.
- [14] HEEP J, SKALJAC M, GROTMANN J, et al. Identification and functional characterization of a novel insecticidal decapeptide from the myrmicine ant *Manica rubida*[J]. *Toxins*, 2019, 11(10): 562.
- [15] QUISTAD G B, NGUYEN Q, BERNASCONI P, et al. Purification and characterization of insecticidal toxins from venom glands of the parasitic wasp, *Bracon hebetor*[J]. *Insect Biochem Mol Biol*, 1994, 24(10): 955-961.
- [16] PIEK T, HUE B, LE CORRONC H, et al. Presynaptic block of transmission in the insect CNS by mono- and di-galactosyl analogues of vesiculakinin 1, a wasp (*Paravespula maculifrons*) venom neurotoxin[J]. *Comp Biochem Physiol C Comp Pharmacol Toxicol*, 1993, 105(2): 189-196.
- [17] SCHWARTZ E F, MOURÃO C B F, MOREIRA K G, et al. Arthropod venoms: a vast arsenal of insecticidal neuropeptides[J]. *Biopolymers*, 2012, 98(4): 385-405.
- [18] RIVERA-DE-TORRE E, RIMBAULT C, JENKINS T P, et al. Strategies for heterologous expression, synthesis, and purification of animal venom toxins[J]. *Front Bioeng Biotechnol*, 2022, 9: 811905.
- [19] UTKIN Y N. Animal venom studies: Current benefits and future developments[J]. *World J Biol Chem*, 2015, 6(2): 28-33.
- [20] SAEZ N J, HERZIG V. Versatile spider venom peptides and their medical and agricultural applications[J]. *Toxicon*, 2019, 158: 109-126.
- [21] BENDE N S, DZIEMBOWICZ S, MOBLI M, et al. A distinct sodium channel voltage-sensor locus determines insect selectivity of the spider toxin Dc1a[J]. *Nat Commun*, 2014, 5: 4350.
- [22] HERZIG V, CRISTOFORI-ARMSTRONG B, ISRAEL M R, et al. Animal toxins - Nature's evolutionary-refined toolkit for basic research and drug discovery[J]. *Biochem Pharmacol*, 2020, 181: 114096.
- [23] MUKHERJEE A K, SOLLOD B L, WIKEL S K, et al. Orally active acaricidal peptide toxins from spider venom[J]. *Toxicon*, 2006, 47(2): 182-187.
- [24] GUO S D, HERZIG V, KING G F. Dipteran toxicity assays for determining the oral insecticidal activity of venoms and toxins[J]. *Toxicon*, 2018, 150: 297-303.
- [25] HARDY M C, DALY N L, MOBLI M, et al. Isolation of an orally active insecticidal toxin from the venom of an Australian tarantula[J]. *PLoS One*, 2013, 8(9): e73136.
- [26] DOWN R E, FITCHES E C, WILES D P, et al. Insecticidal spider venom toxin fused to snowdrop lectin is toxic to the peach-potato aphid, *Myzus persicae* (Hemiptera: Aphididae) and the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Hemiptera: Delphacidae)[J]. *Pest Manag Sci*, 2006, 62(1): 77-85.
- [27] AL-ASMARI A K, KUNNATHODI F, AL SAADON K, et al. Elemental analysis of scorpion venoms[J]. *J Venom Res*, 2016, 7: 16-20.
- [28] BERMÚDEZ-GUZMÁN M J, JIMÉNEZ-VARGAS J M, POSSANI L D, et al. Biochemical characterization and insecticidal activity of isolated peptides from the venom of the scorpion *Centruroides tecomanus*[J]. *Toxicon*, 2022, 206: 90-102.
- [29] DENG S Q, CHEN J T, LI W W, et al. Application of the scorpion neurotoxin Aa1T against insect pests[J]. *Int J Mol Sci*, 2019, 20(14): 3467.
- [30] GUREVITZ M, KARBAT I, COHEN L, et al. The insecticidal potential of scorpion β -toxins[J]. *Toxicon*, 2007, 49(4): 473-489.
- [31] YU H H, YUE Y, DONG X L, et al. The acaricidal activity of venom from the jellyfish *Nemopilema nomurai* against the carmine spider mite *Tetranychus cinnabarinus*[J]. *Toxins*, 2016, 8(6): 179.
- [32] YU H H, LI R F, WANG X Q, et al. Field experiment effect on *Citrus* spider mite *Panonychus citri* of venom from jellyfish *Nemopilema nomurai*: the potential use of jellyfish in agriculture[J]. *Toxins*, 2021, 13(6): 411.
- [33] YU H H, LIU X G, DONG X L, et al. Insecticidal activity of proteinous venom from tentacle of jellyfish *Rhopilema esculentum* Kishinouye[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2005, 15(22): 4949-4952.
- [34] BOSMANS F, TYTGAT J. Sea anemone venom as a source of insecticidal peptides acting on voltage-gated Na^+ channels[J]. *Toxicon*, 2007, 49(4): 550-560.
- [35] 刘少华, 杨林, 章晨, 等. 舟山黄海葵杀虫活性多肽的初步研究[J]. *浙江海洋学院学报(自然科学版)*, 2010, 29(6): 566-571.
LIU S H, YANG L, ZHANG C, et al. Purification of peptides with insecticidal activity from the venom of sea *Anemone Anthopleura xanthogrammica*[J]. *J Zhejiang Ocean Univ (Nat Sci)*, 2010, 29(6): 566-571.
- [36] GUR BARZILAI M, KAHN R, REGEV N, et al. The specificity of Av3 sea Anemone toxin for arthropods is determined at linker DI/SS2-S6 in the pore module of target sodium channels[J]. *Biochem J*, 2014, 463(2): 271-277.
- [37] YAN F, CHENG X, DING X Z, et al. Improved insecticidal toxicity by fusing Cry1Ac of *Bacillus thuringiensis* with Av3 of *Anemonia viridis*[J]. *Curr Microbiol*, 2014, 68(5): 604-609.
- [38] CHEN J, LIU X M, ZHANG Y. Venom based neural modulators[J].

Exp Ther Med, 2018, 15(1): 615-619.

- [39] LEBBE E K M, PEIGNEUR S, WIJESEKARA I, et al. Conotoxins targeting nicotinic acetylcholine receptors: an overview[J]. *Mar Drugs*, 2014, 12(5): 2970-3004.
- [40] BRUCE C, FITCHES E C, CHOUGULE N, et al. Recombinant conotoxin, TxVIA, produced in yeast has insecticidal activity[J]. *Toxicon*, 2011, 58(1): 93-100.
- [41] GAO B M, PENG C, LIN B, et al. Screening and validation of highly-efficient insecticidal conotoxins from a transcriptome-based dataset of Chinese tubular cone snail[J]. *Toxins*, 2017, 9(7): 214.
- [42] 黄翠燕, 彭超, 高炳森. 海洋多肽CTx-btg01的制备及其杀虫活性研究[J]. *毒理学杂志*, 2020, 34(6): 441-444.
HUANG C Y, PENG C, GAO B M. The preparation and insecticidal activity of marine peptide CTx-btg01[J]. *J Toxicol*, 2020, 34(6): 441-444.
- [43] KOPEĆ S. Studies on the necessity of the brain for the inception of insect metamorphosis[J]. *Biol Bull*, 1922, 42: 323-342.
- [44] KRISHNAMOORTHY E, PERUMAL Y, JUSTIN G, et al. Neuropeptides as novel insecticidal agents[J]. *Int J Curr Microbiol Appl Sci*, 2019, 8(2): 869-878.
- [45] KATAOKA H, NAGASAWA H, ISOGAI A, et al. Prothoracicotropic hormone of the silkworm, *Bombyx mori*: amino acid sequence and dimeric structure[J]. *Agric Biol Chem*, 1991, 55(1): 73-86.
- [46] HUA Y J, TANAKA Y, NAKAMURA K, et al. Identification of a prothoracicostatic peptide in the larval brain of the silkworm, *Bombyx mori*[J]. *J Biol Chem*, 1999, 274(44): 31169-31173.
- [47] STAY B. A review of the role of neurosecretion in the control of juvenile hormone synthesis: a tribute to *Berta* Scharrer[J]. *Insect Biochem Mol Biol*, 2000, 30(8-9): 653-662.
- [48] KATAOKA H, TROETSCHLER R G, KRAMER S J, et al. Isolation and primary structure of the eclosion hormone of the tobacco hornworm, *Manduca sexta*[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1987, 146(2): 746-750.
- [49] GIRARDIE J, RICHARD O, HUET J C, et al. Physical characterization and sequence identification of the ovary maturing parsin. A new neurohormone purified from the nervous corpora cardiaca of the African locust (*Locusta migratoria migratorioides*)[J]. *Eur J Biochem*, 1991, 202(3): 1121-1126.
- [50] PREDEL R, NACHMAN R J. The FXPRamide (pyrokinin/PBAN) peptide family[M]//Handbook of Biologically Active Peptides. Amsterdam: Elsevier, 2006: 207-212.
- [51] COAST G M. Insect diuretic and antidiuretic hormones[M]//Handbook of Biologically Active Peptides. Amsterdam: Elsevier, 2006: 157-162.
- [52] BROWN B E. Proctolin: a peptide transmitter candidate in insects[J]. *Life Sci*, 1975, 17(8): 1241-1252.
- [53] HOLMAN G M, NACHMAN R J, COAST G M. Isolation, characterization and biological activity of a diuretic myokinin neuropeptide from the housefly, *Musca domestica*[J]. *Peptides*, 1999, 20(1): 1-10.
- [54] NÄSSEL D R, ZANDAWALA M, KAWADA T, et al. Tachykinins: neuropeptides that are ancient, diverse, widespread and functionally pleiotropic[J]. *Front Neurosci*, 2019, 13: 1262.
- [55] TAYLOR-CLARK T, UNDEM B J. Transduction mechanisms in airway sensory nerves[J]. *J Appl Physiol (1985)*, 2006, 101(3): 950-959.
- [56] STRAND M R, BROWN M R, VOGEL K J. Mosquito peptide hormones: diversity, production, and function[J]. *Adv Insect Phys*, 2016, 51: 145-188.
- [57] TOBE S S, BENDENA W G. Allatostatins[M]//Handbook of Biologically Active Peptides. Amsterdam: Elsevier, 2013: 191-196.
- [58] NACHMAN R J, KIM Y J, WANG X J, et al. Potent activity of a PK/PBAN analog with an (E)-alkene, trans-Pro mimic identifies the Pro orientation and core conformation during interaction with HevPBANR-C receptor[J]. *Bioorg Med Chem*, 2009, 17(12): 4216-4220.
- [59] HARITON A, BEN-AZIZ O, DAVIDOVITCH M, et al. Bioavailability of backbone cyclic PK/PBAN neuropeptide antagonists: inhibition of sex pheromone biosynthesis elicited by the natural mechanism in *Heliothis peltigera* females[J]. *FEBS J*, 2010, 277(4): 1035-1044.
- [60] NACHMAN R J, ROBERTS V A, LANGE A B, et al. Active conformation and mimetic analog development for the pyrokinin-pban-diapause-pupariation and myosuppressin insect neuropeptide families[M]//Phytochemicals for Pest Control: Vol. 658. American Chemical Society, 1997: 277-291.
- [61] NORONHA K F, LANGE A, OSBORNE R. Proctolin analogues and a proctolin metabolite as antagonists of the peptide proctolin 1 l taken in part from a paper presented at a satellite symposium on insect neuropeptides during the seventh annual neuropeptide conference, February 1-6, 1996, Brecke[J]. *Peptides*, 1997, 18: 67-72.
- [62] SCHERKENBECK J, ZDOBINSKY T. Insect neuropeptides: Structures, chemical modifications and potential for insect control[J]. *Bioorg Med Chem*, 2009, 17(12): 4071-4084.
- [63] KONOPINSKA D. Insect neuropeptide proctolin and its analogues. An overview of the present literature[J]. *J Pept Res*, 1997, 49(6): 457-466.
- [64] KAI Z P, HUANG J, TOBE S S, et al. A potential insect growth regulator: synthesis and bioactivity of an allatostatin mimic[J]. *Peptides*, 2009, 30(7): 1249-1253.
- [65] KAI Z P, HUANG J, XIE Y, et al. Synthesis, biological activity, and hologram quantitative structure-activity relationships of novel allatostatin analogues[J]. *J Agric Food Chem*, 2010, 58(5): 2652-2658.
- [66] 吴小庆. 抑咽侧体素类似物的设计、合成、生物活性及构效关系研究[D]. 北京: 中国农业大学, 2016
WU X Q. Design, synthesis, bioactivity and structure-activity relationship of allatostatin analogs[D]. Beijing: China Agricultural University, 2016
- [67] XIE Y, KAI Z P, TOBE S S, et al. Design, synthesis and biological activity of peptidomimetic analogs of insect allatostatins[J]. *Peptides*, 2011, 32(3): 581-586.
- [68] WANG M Z, ZHANG L, WANG X W, et al. Exploring the N-Terminus region: synthesis, bioactivity and 3D-QSAR of allatostatin analogs as novel insect growth regulators[J]. *Chin Chem Lett*, 2018, 29(9): 1375-1378.
- [69] WANG M Z, LI X L, CHEN M T, et al. 3D-QSAR based optimization of insect neuropeptide allatostatin analogs[J]. *Bioorg Med Chem Lett*, 2019, 29(7): 890-895.
- [70] 汪梅子, 金小宇, 周源琳, 等. 昆虫神经肽抑咽侧体素及其类似物的研究进展[J]. *农药学报*, 2019, 21(3): 255-272.
WANG M Z, JIN X Y, ZHOU Y L, et al. Research progress of insect neuropeptide allatostatins and their analogues[J]. *Chin J Pestic Sci*, 2019, 21(3): 255-272.
- [71] NACHMAN R J, HOLMAN G M. Myotropic insect neuropeptide families from the cockroach *Leucophaea maderae*[M]//ACS

- Symposium Series. Washington, DC: American Chemical Society, 1991: 194-214.
- [72] HOLMAN G M, COOK B J, NACHMAN R J. Isolation, primary structure and synthesis of leucokinins VII and VIII: the final members of this new family of cephalomyotropic peptides isolated from head extracts of *leucophaea maderae*[J]. *Comp Biochem Physiol C Comp Pharmacol*, 1987, 88(1): 31-34.
- [73] COAST G M, HOLMAN G M, NACHMAN R J. The diuretic activity of a series of cephalomyotropic neuropeptides, the acetakinins, on isolated Malpighian tubules of the house cricket, *Acheta domesticus*[J]. *J Insect Physiol*, 1990, 36(7): 481-488.
- [74] CORNELL M J, WILLIAMS T A, LAMANGO N S, et al. Cloning and expression of an evolutionary conserved single-domain angiotensin converting enzyme from *Drosophila melanogaster*[J]. *J Biol Chem*, 1995, 270(23): 13613-13619.
- [75] ZUBRZAK P, WILLIAMS H, COAST G M, et al. Beta-amino acid analogs of an insect neuropeptide feature potent bioactivity and resistance to peptidase hydrolysis[J]. *Biopolymers*, 2007, 88(1): 76-82.
- [76] NACHMAN R J, STREY A, ISAAC E, et al. Enhanced *in vivo* activity of peptidase-resistant analogs of the insect kinin neuropeptide family[J]. *Peptides*, 2002, 23(4): 735-745.
- [77] NACHMAN R J, ZABROCKI J, OLCZAK J, et al. Cis-peptide bond mimetic tetrazole analogs of the insect kinins identify the active conformation[J]. *Peptides*, 2002, 23(4): 709-716.
- [78] NACHMAN R J, HOLMAN G M, HADDON W F. Leads for insect neuropeptide mimetic development[J]. *Arch Insect Biochem Physiol*, 1993, 22(1-2): 181-197.
- [79] NACHMAN R J, COAST G M, DOUAT C, et al. A C-terminal aldehyde insect kinin analog enhances inhibition of weight gain and induces significant mortality in *Helicoverpa zea* larvae[J]. *Peptides*, 2003, 24(10): 1615-1621.
- [80] 黄云. 昆虫激肽硫代类似物: 合成、光致异构化以及构效关系研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2008.
- HUANG Y. Thioxo analog of insect kinin: Synthesis, characterization, and conformation-activity correlation study[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2008.
- [81] 张波. 昆虫激肽伪脯氨酸类似物的合成及其构效关系的相关研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2009.
- ZHANG B. The study of the pseudoproline(ΨPro) analogs of insect kinin in synthesis and structure-activity relationship[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2009.
- [82] 丛志远. 可光致异构化昆虫激肽的合成、活性及结构研究[D]. 兰州: 兰州大学, 2009.
- CONG Z Y. Synthesis, activity and conformation studies of the photoswitchable insect kinins[D]. Lanzhou: Lanzhou University, 2009.
- [83] SMAGGHE G, MAHDIAN K, ZUBRZAK P, et al. Antifeedant activity and high mortality in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* (Hemiptera: Aphidae) induced by biostable insect kinin analogs[J]. *Peptides*, 2010, 31(3): 498-505.
- [84] ZHANG C L, QU Y Y, WU X Q, et al. Eco-friendly insecticide discovery via peptidomimetics: design, synthesis, and aphicidal activity of novel insect kinin analogues[J]. *J Agric Food Chem*, 2015, 63(18): 4527-4532.
- [85] ZHANG C L, LI X L, SONG D L, et al. Synthesis, aphicidal activity and conformation of novel insect kinin analogues as potential eco-friendly insecticides[J]. *Pest Manag Sci*, 2020, 76(10): 3432-3439.
- [86] ZHOU Y L, ZHANG Y M, ZHANG Y H, et al. Insect kinin mimics act as potential control agents for aphids: structural modifications of Trp⁴[J]. *J Pept Sci*, 2022: 2022Jul28:e3444.
- [87] ZHOU Y L, LI X L, ZHANG Y M, et al. A novel bee-friendly peptidomimetic insecticide: synthesis, aphicidal activity and 3D-QSAR study of insect kinin analogs at Phe² modification[J]. *Pest Manag Sci*, 2022, 78(7): 2952-2963.
- [88] CORZO G, ESCOUBAS P, STANKIEWICZ M, et al. Isolation, synthesis and pharmacological characterization of delta-palutoxins IT, novel insecticidal toxins from the spider *Paracoelotes luctuosus* (Amaurobiidae)[J]. *Eur J Biochem*, 2000, 267(18): 5783-5795.
- [89] CORZO G, GILLES N, SATAKE H, et al. Distinct primary structures of the major peptide toxins from the venom of the spider *Macrothele gigas* that bind to sites 3 and 4 in the sodium channel 1[J]. *FEBS Lett*, 2003, 547(1-3): 43-50.
- [90] TITAU-DELGADO G, CARRILLO E, MENDOZA A, et al. Successful refolding and NMR structure of rMagi3: a disulfide-rich insecticidal spider toxin[J]. *Protein Sci*, 2018, 27(3): 692-701.
- [91] OLIVEIRA L C, DE LIMA M E, PIMENTA A M C, et al. PnTx4-3, a new insect toxin from *Phoneutria nigriventer* venom elicits the glutamate uptake inhibition exhibited by PhTx4 toxic fraction[J]. *Toxicon*, 2003, 42(7): 793-800.
- [92] RICHARDSON M, PIMENTA A M C, BEMQUERER M P, et al. Comparison of the partial proteomes of the venoms of Brazilian spiders of the genus *Phoneutria*[J]. *Comp Biochem Physiol C Toxicol Pharmacol*, 2006, 142(3-4): 173-187.
- [93] WANG X, CONNOR M, SMITH R, et al. Discovery and characterization of a family of insecticidal neurotoxins with a rare vicinal disulfide bridge[J]. *Nat Struct Biol*, 2000, 7(6): 505-513.
- [94] CHONG Y M, HAYES J L, SOLLOD B, et al. The *Omega*-atracotoxins: Selective blockers of insect M-LVA and HVA calcium channels[J]. *Biochem Pharmacol*, 2007, 74(4): 623-638.
- [95] FIGUEIREDO S G, GARCIA M E, VALENTIM A C, et al. Purification and amino acid sequence of the insecticidal neurotoxin Tx4(6-1) from the venom of the 'armed' spider *Phoneutria nigriventer* (Keys)[J]. *Toxicon*, 1995, 33(1): 83-93.
- [96] KUHN-NENTWIG L, FEDOROVA I M, LÜSCHER B P, et al. A venom-derived neurotoxin, CsTx-1, from the spider *Cupiennius salei* exhibits cytolytic activities[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(30): 25640-25649.
- [97] DENG M C, LUO X, MENG E, et al. Inhibition of insect calcium channels by huwentoxin-V, a neurotoxin from Chinese tarantula *Ornithoctonus huwena* venom[J]. *Eur J Pharmacol*, 2008, 582(1-3): 12-16.
- [98] CORZO G, BERNARD C, CLEMENT H, et al. Insecticidal peptides from the therapsid spider *Brachypelma albiceps*: an NMR-based model of Ba₂[J]. *Biochim Biophys Acta*, 2009, 1794(8): 1190-1196.
- [99] VASSILEVSKI A A, FEDOROVA I M, MALEEVA E E, et al. Novel class of spider toxin: active principle from the yellow sac spider *Cheiracanthium puncturium* venom is a unique two-domain polypeptide[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(42): 32293-32302.
- [100] SACHKOVA M Y, SLAVOKHOTOVA A A, GRISHIN E V, et al. Structure of the yellow sac spider *Cheiracanthium puncturium* genes provides clues to evolution of insecticidal two-domain knottin toxins[J]. *Insect Mol Biol*, 2014, 23(4): 527-538.
- [101] ZOBEL-THROPP P A, KERINS A E, BINFORD G J. Sphingomyelinase D in sicariid spider venom is a potent insecticidal toxin[J]. *Toxicon*, 2012, 60(3): 265-271.
- [102] WINDLEY M J, HERZIG V, DZIEMBOROWICZ S A, et al. Spider-venom peptides as bioinsecticides[J]. *Toxins*, 2012, 4(3):

- 191-227.
- [103] WINDLEY M J, ESCOUBAS P, VALENZUELA S M, et al. A novel family of insect-selective peptide neurotoxins targeting insect large-conductance calcium-activated K^+ channels isolated from the venom of the theraphosid spider *Euratoscelus constrictus*[J]. *Mol Pharmacol*, 2011, 80(1): 1-13.
 - [104] IKONOMOPOULOU M P, SMITH J J, HERZIG V, et al. Isolation of two insecticidal toxins from venom of the Australian theraphosid spider *Coremiocnemis tropix*[J]. *Toxicon*, 2016, 123: 62-70.
 - [105] CORZO G, VILLEGAS E, GÓMEZ-LAGUNAS F, et al. Oxyopinins, large amphipathic peptides isolated from the venom of the wolf spider *Oxyopes kitabensis* with cytolytic properties and positive insecticidal cooperativity with spider neurotoxins[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(26): 23627-23637.
 - [106] ZHONG Y H, SONG B, MO G X, et al. A novel neurotoxin from venom of the spider, *Brachypelma albopilosum*[J]. *PLoS One*, 2014, 9(10): e110221.
 - [107] MIKOV A N, FEDOROVA I M, POTAPIEVA N N, et al. Ω -tbo-IT1-new inhibitor of insect calcium channels isolated from spider venom[J]. *Sci Rep*, 2015, 5: 17232.
 - [108] CLEMENT H, FLORES V, DIEGO-GARCIA E, et al. A comparison between the recombinant expression and chemical synthesis of a short cysteine-rich insecticidal spider peptide[J]. *J Venom Anim Toxins Incl Trop Dis*, 2015, 21: 19.
 - [109] LEI Q, YU H, PENG X Z, et al. Isolation and preliminary characterization of proteinaceous toxins with insecticidal and antibacterial activities from black widow spider (*L. tredecimguttatus*) eggs[J]. *Toxins*, 2015, 7(3): 886-899.
 - [110] BENDE N S, DZIEMBOROWICZ S, HERZIG V, et al. The insecticidal spider toxin SFI₁ is a knottin peptide that blocks the pore of insect voltage-gated sodium channels via a large β -hairpin loop[J]. *FEBS J*, 2015, 282(5): 904-920.
 - [111] ESTRADA G, SILVA A O, VILLEGAS E, et al. Heterologous expression of five disulfide-bonded insecticidal spider peptides[J]. *Toxicon*, 2016, 119: 152-158.
 - [112] VASSILEVSKI A A, SACHKOVA M Y, IGNATOVA A A, et al. Spider toxins comprising disulfide-rich and linear amphipathic domains: a new class of molecules identified in the *Lynx spider* *Oxyopes takobius*[J]. *FEBS J*, 2013, 280(23): 6247-6261.
 - [113] HERZIG V, IKONOMOPOULOU M, SMITH J J, et al. Molecular basis of the remarkable species selectivity of an insecticidal sodium channel toxin from the African spider *Augacephalus ezendami*[J]. *Sci Rep*, 2016, 6: 29538.
 - [114] JIN L, FANG M Q, CHEN M R, et al. An insecticidal toxin from *Nephila clavata* spider venom[J]. *Amino Acids*, 2017, 49(7): 1237-1245.
 - [115] SOUSA S R, WINGERD J S, BRUST A, et al. Discovery and mode of action of a novel analgesic β -toxin from the African spider *Ceratogyrus darlingi*[J]. *PLoS One*, 2017, 12(9): e0182848.
 - [116] MATSUBARA F H, MEISSNER G O, HERZIG V, et al. Insecticidal activity of a recombinant knottin peptide from *Loxosceles intermedia* venom and recognition of these peptides as a conserved family in the genus[J]. *Insect Mol Biol*, 2017, 26(1): 25-34.
 - [117] SMITH J J, HERZIG V, IKONOMOPOULOU M P, et al. Insect-active toxins with promiscuous pharmacology from the African theraphosid spider *Monocentropus balfourii*[J]. *Toxins*, 2017, 9(5): 155.
 - [118] XIAO Z, ZHANG Y X, ZENG J, et al. Purification and characterization of a novel insecticidal toxin, μ -sparatoxin-Hv2, from the venom of the spider *Heteropoda venatoria*[J]. *Toxins*, 2018, 10(6): 233.
 - [119] DE LIMA M E, MARTIN M F, DINIZ C R, et al. *Tityus serrulatus* toxin VII bears pharmacological properties of both beta-toxin and insect toxin from scorpion venoms[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 1986, 139(1): 296-302.
 - [120] ZLOTKIN E, EITAN M, BINDOKAS V P, et al. Functional duality and structural uniqueness of depressant insect-selective neurotoxins[J]. *Biochemistry*, 1991, 30(19): 4814-4821.
 - [121] KOPEYAN C, MANSUELLE P, MARTIN-EAUCLAIRE M F, et al. Characterization of toxin III of the scorpion *Leiurus quinquestriatus* quinquestriatus: a new type of alpha-toxin highly toxic both to mammals and insects[J]. *Nat Toxins*, 1993, 1(5): 308-312.
 - [122] BORCHANI L, STANKIEWICZ M, KOPEYAN C, et al. Purification, structure and activity of three insect toxins from *Buthus occitanus tunetanus* venom[J]. *Toxicon*, 1997, 35(3): 365-382.
 - [123] BORCHANI L, MANSUELLE P, STANKIEWICZ M, et al. A new scorpion venom toxin paralytic to insects that affects Na^+ channel activation. Purification, structure, antigenicity and mode of action[J]. *Eur J Biochem*, 1996, 241(2): 525-532.
 - [124] MEJRI T, BORCHANI L, SRAIRI-ABID N, et al. BotIT6: a potent depressant insect toxin from *Buthus occitanus tunetanus* venom[J]. *Toxicon*, 2003, 41(2): 163-171.
 - [125] ESCOUBAS P, STANKIEWICZ M, TAKAOKA T, et al. Sequence and electrophysiological characterization of two insect-selective excitatory toxins from the venom of the Chinese scorpion *Buthus martensi*[J]. *FEBS Lett*, 2000, 483(2-3): 175-180.
 - [126] PIMENTA A M, MARTIN-EAUCLAIRE M, ROCHAT H, et al. Purification, amino-acid sequence and partial characterization of two toxins with anti-insect activity from the venom of the South American scorpion *Tityus bahiensis* (Buthidae)[J]. *Toxicon*, 2001, 39(7): 1009-1019.
 - [127] ALI S A, STOEVA S, GROSSMANN J G, et al. Purification, characterization, and primary structure of four depressant insect-selective neurotoxin analogs from scorpion (*Buthus sindicus*) venom[J]. *Arch Biochem Biophys*, 2001, 391(2): 197-206.
 - [128] XU C Q, BRÔNE B, WICHER D, et al. BmBKTx1, a novel Ca^{2+} -activated K^+ channel blocker purified from the Asian scorpion *Buthus martensi* Karsch[J]. *J Biol Chem*, 2004, 279(33): 34562-34569.
 - [129] ARNON T, POTIKHA T, SHER D, et al. BjalpIT: a novel scorpion alpha-toxin selective for insects: unique pharmacological tool[J]. *Insect Biochem Mol Biol*, 2005, 35(3): 187-195.
 - [130] KOZMINSKY-ATIAS A, SOMECH E, ZILBERBERG N. Isolation of the first toxin from the scorpion *Buthus occitanus israelis* showing preference for *Shaker* potassium channels[J]. *FEBS Lett*, 2007, 581(13): 2478-2484.
 - [131] SMITH J J, HILL J M, LITTLE M J, et al. Unique scorpion toxin with a putative ancestral fold provides insight into evolution of the inhibitor cystine knot motif[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(26): 10478-10483.
 - [132] KRÄMER J, LÜDDECKE T, MARNER M, et al. Antimicrobial, insecticidal and cytotoxic activity of linear venom peptides from the pseudoscorpion *Chelifera cancrivora*[J]. *Toxins*, 2022, 14(1): 58.
 - [133] JACOBSSON E, ANDERSSON H S, STRAND M, et al. Peptide ion channel toxins from the bootlace worm, the longest animal on Earth[J]. *Sci Rep*, 2018, 8(1): 4596.

- [134] SIEGERT K J. Locust corpora cardiaca contain an inactive adipokinetic hormone[J]. *FEBS Lett*, 1999, 447(2-3): 237-240.
- [135] EIGENHEER R A, NICOLSON S W, SCHEGG K M, et al. Identification of a potent antidiuretic factor acting on beetle Malpighian tubules[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2002, 99(1): 84-89.
- [136] KATAOKA H, TOSCHI A, LI J P, et al. Identification of an allatotropin from adult *Manduca sexta*[J]. *Science*, 1989, 243(4897): 1481-1483.
- [137] BROWN M R, CRIM J W, ARATA R C, et al. Identification of a *Drosophila* brain-gut peptide related to the neuropeptide Y family[J]. *Peptides*, 1999, 20(9): 1035-1042.
- [138] BAGGERMAN G, CERSTIAENS A, DE LOOF A, et al. Peptidomics of the larval *Drosophila melanogaster* central nervous system[J]. *J Biol Chem*, 2002, 277(43): 40368-40374.
- [139] JIANG H B, LKHAGVA A, DAUBNEROVÁ I, et al. Natalisin, a tachykinin-like signaling system, regulates sexual activity and fecundity in insects[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2013, 110(37): E3526-E3534.
- [140] NÄSSEL D R, WEGENER C. A comparative review of short and long neuropeptide F signaling in invertebrates: any similarities to vertebrate neuropeptide Y signaling?[J]. *Peptides*, 2011, 32(6): 1335-1355.
- [141] LUO C W, DEWEY E M, SUDO S, et al. Bursicon, the insect cuticle-hardening hormone, is a heterodimeric cystine knot protein that activates G protein-coupled receptor LGR2[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2005, 102(8): 2820-2825.
- [142] MENDIVE F M, VAN LOY T, CLAEYSEN S, et al. *Drosophila* molting neurohormone bursicon is a heterodimer and the natural agonist of the orphan receptor DLGR2[J]. *FEBS Lett*, 2005, 579(10): 2171-2176.
- [143] SUDO S, KUWABARA Y, PARK J I, et al. Heterodimeric fly glycoprotein hormone- α 2 (GPA2) and glycoprotein hormone- β 5 (GPB $_5$) activate fly leucine-rich repeat-containing G protein-coupled receptor-1 (DLGR1) and stimulation of human thyrotropin receptors by chimeric fly GPA2 and human GPB $_5$ [J]. *Endocrinology*, 2005, 146(8): 3596-3604.
- [144] HSU S Y, NAKABAYASHI K, BHALLA A. Evolution of glycoprotein hormone subunit genes in bilateral Metazoa: identification of two novel human glycoprotein hormone subunit family genes, GPA2 and GPB $_5$ [J]. *Mol Endocrinol*, 2002, 16(7): 1538-1551.
- [145] IDA T, TAKAHASHI T, TOMINAGA H, et al. Identification of the endogenous cysteine-rich peptide trissin, a ligand for an orphan G protein-coupled receptor in *Drosophila*[J]. *Biochem Biophys Res Commun*, 2011, 414(1): 44-48.
- [146] JUNG S H, LEE J H, CHAE H S, et al. Identification of a novel insect neuropeptide, CNMa and its receptor[J]. *FEBS Lett*, 2014, 588(12): 2037-2041.
- [147] HAUSER F, NEUPERT S, WILLIAMSON M, et al. Genomics and peptidomics of neuropeptides and protein hormones present in the parasitic wasp *Nasonia vitripennis*[J]. *J Proteome Res*, 2010, 9(10): 5296-5310.
- [148] ROLLER L, YAMANAKA N, WATANABE K, et al. The unique evolution of neuropeptide genes in the silkworm *Bombyx mori*[J]. *Insect Biochem Mol Biol*, 2008, 38(12): 1147-1157.
- [149] YAMANAKA N, ROLLER L, ZITÑAN D, et al. *Bombyx* orcokins are brain-gut peptides involved in the neuronal regulation of ecdysteroidogenesis[J]. *J Comp Neurol*, 2011, 519(2): 238-246.
- [150] NACHMAN R J, HOLMAN G M, HADDON W F, et al. Leucosulfakinin, a sulfated insect neuropeptide with homology to gastrin and cholecystokinin[J]. *Science*, 1986, 234(4772): 71-73.
- [151] FURUYA K, MILCHAK R J, SCHEGG K M, et al. Cockroach diuretic hormones: characterization of a calcitonin-like peptide in insects[J]. *PNAS*, 2000, 97(12): 6469-6474.
- [152] WOODHEAD A P, STAY B, SEIDEL S L, et al. Primary structure of four allatostatsins: neuropeptide inhibitors of juvenile hormone synthesis[J]. *PNAS*, 1989, 86(15): 5997-6001.
- [153] LORENZ M W, KELLNER R, HOFFMANN K H. A family of neuropeptides that inhibit juvenile hormone biosynthesis in the cricket, *Gryllus bimaculatus*[J]. *J Biol Chem*, 1995, 270(36): 21103-21108.
- [154] KRAMER S J, TOSCHI A, MILLER C A, et al. Identification of an allatostatin from the tobacco hornworm *Manduca sexta*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 1991, 88(21): 9458-9462.
- [155] GRUBER C W, CEMAZAR M, ANDERSON M A, et al. Insecticidal plant cyclotides and related cystine knot toxins[J]. *Toxicon*, 2007, 49(4): 561-575.
- [156] COLGRAVE M L, CRAIK D J. Thermal, chemical, and enzymatic stability of the cyclotide kalata B1: the importance of the cyclic cystine knot[J]. *Biochemistry*, 2004, 43(20): 5965-5975.
- [157] CRAIK D J. Discovery and applications of the plant cyclotides[J]. *Toxicon*, 2010, 56(7): 1092-1102.
- [158] GROVER T, MISHRA R, BUSHRA, et al. An insight into biological activities of native cyclotides for potential applications in agriculture and pharmaceuticals[J]. *Peptides*, 2021, 135: 170430.
- [159] OGUIS G K, GILDING E K, JACKSON M A, et al. Butterfly pea (*Clitoria ternatea*), a cyclotide-bearing plant with applications in agriculture and medicine[J]. *Front Plant Sci*, 2019, 10: 645.
- [160] JENNINGS C, WEST J, WAINE C, et al. Biosynthesis and insecticidal properties of plant cyclotides: the cyclic knotted proteins from *Oldenlandia affinis*[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2001, 98(19): 10614-10619.
- [161] JENNINGS C V, ROSENGREN K J, DALY N L, et al. Isolation, solution structure, and insecticidal activity of kalata B2, a circular protein with a twist: do Möbius strips exist in nature?[J]. *Biochemistry*, 2005, 44(3): 851-860.
- [162] POTH A G, COLGRAVE M L, LYONS R E, et al. Discovery of an unusual biosynthetic origin for circular proteins in legumes[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2011, 108(25): 10127-10132.
- [163] PLAN M R R, SASKA I, CAGAUAN A G, et al. Backbone cyclised peptides from plants show molluscicidal activity against the rice pest *Pomacea canaliculata* (golden apple snail)[J]. *J Agric Food Chem*, 2008, 56(13): 5237-5241.
- [164] COLGRAVE M L, KOTZE A C, KOPP S, et al. Anthelmintic activity of cyclotides: *in vitro* studies with canine and human hookworms[J]. *Acta Trop*, 2009, 109(2): 163-166.
- [165] PINTO M F S, FENSTERSEIFER I C M, MIGLIOLO L, et al. Identification and structural characterization of novel cyclotide with activity against an insect pest of sugar cane[J]. *J Biol Chem*, 2012, 287(1): 134-147.
- [166] DANCEWICZ K, SLAZAK B, KIELKIEWICZ M, et al. Behavioral and physiological effects of *Viola* spp. cyclotides on *Myzus persicae* (Sulz.)[J]. *J Insect Physiol*, 2020, 122: 104025.
- [167] HENRIQUES S T, HUANG Y H, CHAOUSIS S, et al. The prototypic cyclotide kalata B1 has a unique mechanism of entering cells[J]. *Chem Biol*, 2015, 22(8): 1087-1097.
- [168] BARBETA B L, MARSHALL A T, GILLON A D, et al. Plant cyclotides disrupt epithelial cells in the midgut of lepidopteran

- larvae[J]. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2008, 105(4): 1221-1225.
- [169] SLAZAK B, JĘDRZEJSKA A, BĄDYRA B, et al. The involvement of cyclotides in mutual interactions of violets and the two-spotted spider mite[J]. *Sci Rep*, 2022, 12(1): 1914.
- [170] COLGRAVE M L, KOTZE A C, HUANG Y H, et al. Cyclotides: natural, circular plant peptides that possess significant activity against gastrointestinal nematode parasites of sheep[J]. *Biochemistry*, 2008, 47(20): 5581-5589.
- [171] 王建和. 生物活性肽PA1b分布及作用机理研究[D]. 武汉: 华中科技大学, 2006.
- WANG J H. Investigation distribution and action mechanism of the bioactive peptide PA1b[D]. Wuhan: Huazhong University of Science and Technology, 2006.
- [172] EYRAUD V, BALMAND S, KARAKI L, et al. The interaction of the bioinsecticide PA1b (Pea Albumin 1 subunit b) with the insect V-ATPase triggers apoptosis[J]. *Sci Rep*, 2017, 7(1): 4902.
- [173] EYRAUD V, KARAKI L, RAHIOUI I, et al. Expression and biological activity of the cystine knot bioinsecticide PA1b (Pea Albumin 1 Subunit b)[J]. *PLoS One*, 2013, 8(12): e81619.
- [174] GRESSENT F, DUPOUR G, RAHIOUI I, et al. Biological activity and binding site characteristics of the PA1b Entomotoxin in insects from different orders[J]. *J Insect Sci*, 2007, 7: 1-10.
- [175] CHOUABE C, EYRAUD V, DA SILVA P, et al. New mode of action for a knottin protein bioinsecticide: Pea albumin 1 subunit b (PA1b) is the first peptidic inhibitor of V-ATPase[J]. *J Biol Chem*, 2011, 286(42): 36291-36296.
- [176] COTTER K, STRANSKY L, MCGUIRE C, et al. Recent insights into the structure, regulation, and function of the V-ATPases[J]. *Trends Biochem Sci*, 2015, 40(10): 611-622.
- [177] WIECZOREK H, BEYENBACH K W, HUSS M, et al. Vacuolar-type proton pumps in insect epithelia[J]. *J Exp Biol*, 2009, 212(Pt 11): 1611-1619.
- [178] MUENCH S P, RAWSON S, EYRAUD V, et al. PA1b inhibitor binding to subunits *c* and *e* of the vacuolar ATPase reveals its insecticidal mechanism[J]. *J Biol Chem*, 2014, 289(23): 16399-16408.
- [179] DA SILVA P, RAHIOUI I, LAUGIER C, et al. Molecular requirements for the insecticidal activity of the plant peptide pea albumin 1 subunit b (PA1b)[J]. *J Biol Chem*, 2010, 285(43): 32689-32694.
- [180] RAHIOUI I, EYRAUD V, KARAKI L, et al. Host range of the potential biopesticide Pea Albumin 1b (PA1b) is limited to insects[J]. *Toxicon*, 2014, 89: 67-76.
- [181] LIU Y J, CHENG C S, LAI S M, et al. Solution structure of the plant defensin VrD1 from mung bean and its possible role in insecticidal activity against bruchids[J]. *Proteins Struct Funct Bioinform*, 2006, 63(4): 777-786.
- [182] CHEN K C, LIN C Y, KUAN C C, et al. A novel defensin encoded by a mungbean cDNA exhibits insecticidal activity against bruchid[J]. *J Agric Food Chem*, 2002, 50(25): 7258-7263.
- [183] CHOI M S, KIM Y H, PARK H M, et al. Expression of BrD1, a plant defensin from *Brassica rapa*, confers resistance against brown planthopper (*Nilaparvata lugens*) in transgenic rice[J]. *Mol Cells*, 2009, 28(2): 131-137.
- [184] CARLINI C R, GROSSI-DE-SÁ M F. Plant toxic proteins with insecticidal properties. A review on their potentialities as bioinsecticides[J]. *Toxicon*, 2002, 40(11): 1515-1539.
- [185] MULINARI F, STANISCUASKI F, BERTHOLDO-VARGAS L R, et al. Jaburetox-2Ec: an insecticidal peptide derived from an isoform of urease from the plant *Canavalia ensiformis*[J]. *Peptides*, 2007, 28(10): 2042-2050.
- [186] DUBOS R J. Studies on a bactericidal agent extracted from a soil *Bacillus*: I. Preparation of the agent. Its activity *in vitro*[J]. *J Exp Med*, 1939, 70(1): 1-10.
- [187] 胡琼波, 任顺祥. 绿僵菌素的研究进展[J]. 中国生物防治, 2004, 20(4): 234-242.
- HU Q B, REN S X. Review of destruxins of *Metarhizium anisopliae* sorokin[J]. *Chin J Biol Control*, 2004, 20(4): 234-242.
- [188] MOCHIZUKI K, OHMORI K, TAMURA H, et al. The structures of bioactive cyclodepsipeptides, beauveriolides I and II, metabolites of entomopathogenic Fungi *Beauveria* sp.[J]. *Bull Chem Soc Jpn*, 1993, 66(10): 3041-3046.
- [189] DU F Y, LI X M, ZHANG P, et al. Cyclodepsipeptides and other *O*-containing heterocyclic metabolites from *Beauveria felina* EN-135, a marine-derived entomopathogenic fungus[J]. *Mar Drugs*, 2014, 12(5): 2816-2826.
- [190] WANG X H, LI Y Y, ZHANG X P, et al. Structural diversity and biological activities of the cyclodipeptides from fungi[J]. *Molecules*, 2017, 22(12): 2026.
- [191] WANG X H, GONG X, LI P, et al. Structural diversity and biological activities of cyclic depsipeptides from fungi[J]. *Molecules*, 2018, 23(1): 169.
- [192] MOHAMED-BENKADA M, FRANÇOIS POUCHUS Y, VÉRITÉ P, et al. Identification and biological activities of long-chain peptaibols produced by a marine-derived strain of *Trichoderma longibrachiatum*[J]. *Chem Biodivers*, 2016, 13(5): 521-530.
- [193] XU L J, LIANG K K, DUAN B S, et al. A novel insecticidal peptide SLP1 produced by *Streptomyces laindensis* H008 against *Lipaphis erysimi*[J]. *Molecules*, 2016, 21(8): 1101.
- [194] MOREIRA E A, REZENDE-TEIXEIRA P, ALBERNAZ L C, et al. Marine bacteria from the southeast coast of Brazil as a source of insecticidal compounds[J]. *Revista Brasileira De Farmacognosia*, 2022: 1-10.
- [195] NOBEL PRIZES: Merrifield wins chemistry award[J]. *Chem Eng News Archive*, 1984, 62(43): 6-7.
- [196] NARAYANI M, BABU R, CHADHA A, et al. Production of bioactive cyclotides: a comprehensive overview[J]. *Phytochem Rev*, 2020, 19(4): 787-825.
- [197] 曲朋, 宋利, 赵好冬, 等. 多肽合成研究进展[J]. 中国现代中药, 2015, 17(3): 285-289.
- QU P, SONG L, ZHAO H D, et al. Research progress of peptide synthesis[J]. *Mod Chin Med*, 2015, 17(3): 285-289.
- [198] 谭海军, 童益利. 新型多肽类生物杀虫剂GS- ω /K-HXTX-Hv1a的研究开发与应用进展[J]. 世界农药, 2022, 44(7): 29-40.
- TAN H J, TONG Y L. Progress of research, development and application on GS-*Omega*/kappa-HXTX-Hv1a, a new polypeptide biological insecticide[J]. *World Pestic*, 2022, 44(7): 29-40.
- [199] NAKASU E Y T, EDWARDS M G, FITCHES E, et al. Transgenic plants expressing ω -ACTX-Hv1a and snowdrop lectin (GNA) fusion protein show enhanced resistance to aphids[J]. *Front Plant Sci*, 2014, 5: 673.
- [200] HERZIG V, BENDE N S, ALAM Md S, et al. Chapter Eight - Methods for deployment of spider venom peptides as bioinsecticides[M]//DHADIALLA T S, GILL S S. *Advances in Insect Physiology*: Vol. 47. Academic Press, 2014: 389-411.