



植物凝集素及其抗蚜作用研究进展*

邓青** 陈巨莲*** 程登发 孙京瑞

(中国农业科学院植物保护研究所 植物病虫害生物学国家重点实验室 北京 100193)

摘要 近年来利用植物凝集素控制蚜虫的研究越来越多。本文主要介绍了植物凝集素的分类、抗蚜作用及机理、定性及定量的测定方法;并对单子叶甘露糖结合凝集素家族和豆科类凝集素家族的抗蚜效益、凝集素对蚜虫天敌的影响等研究进行了综述;对其应用前景及可能存在的问题进行了讨论。

关键词 植物凝集素, 抗蚜, 单子叶甘露糖结合凝集素, 豆科类凝集素家族

Research progress on plant lectin and its application in anti-aphid

DENG Qing** CHEN Ju-Lian*** CHENG Deng-Fa SUN Jing-Rui

(State Key Laboratory for Biology of Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection,
Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract In the recent years, more and more researches were conducted on the impact of plant lectins on aphid controlling. In this paper, plant lectins' classification, anti-aphid effect and mechanism, and qualitative and quantitative detecting methods were introduced. Then, the application of monocot mannose-binding lectin and the legume lectin family in anti-aphid, and their impact on natural enemies of aphids were summarized. Finally, lectin's application perspectives and potential problems was also discussed.

Key words plant lectin, anti-aphid, monocot mannose-binding lectin, legume lectin family

植物凝集素是一类在植物界广泛分布的、非免疫来源的、不具有酶活性、能较专一与糖类结合的蛋白质,其本身可以是不含糖类的简单蛋白质,也可以是糖蛋白,具有至少一个非催化性的、能够可逆地与特异性单糖或低聚糖结合的结构域 (Peumans and Van Damme, 1995)。

蚜虫是很多农作物的重要害虫,其危害遍及蔬菜、粮食作物、经济作物;危害的方式不仅有直接取食作物汁液、严重降低作物产量和品质;而且分泌的蜜露影响植物的光合作用,导致霉菌滋生;更为严重的是蚜虫能够传播许多种植物病毒,已证明有 173 种蚜虫可以传播病毒,主要涉及 14 个属的病毒种类,如大麦黄矮病毒 (BYDV)、烟草黄瓜花叶病毒 (CMV)、烟草蚀纹病毒 (TEV)、马铃薯

Y 病毒 (PVY) 等。由于蚜虫世代周期短、种群繁殖速度快,所以蚜虫的防治一直是个棘手的问题。目前常用的蚜虫防治方法主要是化学防治。化学防治不仅效果有限,造成农药残留,而且容易使蚜虫产生抗性,并对蚜虫天敌具有一定的伤害。

植物凝集素是植物防御系统的重要组成部分,在植物生长发育阶段,以不同的方式使植物免受病虫害的侵害。近年来,已报道多种植物凝集素对蚜虫具有毒性,有利用蚜虫全纯人工饲料研究植物凝集素的抗生作用,也有进行转基因作物的抗蚜性研究。抗蚜效果明显的植物凝集素主要有雪花莲凝集素 (GNA)、伴刀豆凝集素 (Con A)、蒜叶凝集素 (ASAL)、半夏凝集素 (PTA) 等。植物凝集素在植物保护中的作用越来越受关注,本文

* 资助项目:转基因生物新品种培育重大专项 (2009ZX08012-007B)。

**E-mail: dengqing710@yahoo.cn

*** 通讯作者, E-mail: jlchen@ippcaas.cn

收稿日期:2011-08-04, 接受日期:2011-09-19

就植物凝集素的分类、抗虫作用及其作用机理、对蚜虫天敌的影响极其抗蚜应用前景等研究进行综述,旨在为合理应用植物凝集素进行蚜虫治理提供参考。

1 植物凝集素

1.1 植物凝集素的分类

根据植物凝集素的氨基酸序列的同源性及其进化关系,可将其分为 7 个蛋白质家族:豆科类凝集素家族、2-型核糖体失活蛋白家族、结合几丁质的凝集素家族、单子叶甘露糖结合凝集素家族、苋菜凝集素家族、葫芦科韧皮部凝集素家族、木菠萝凝集素家族(Van Damme, 2008)。目前,大部分已知的凝集素属于前 4 个家族,对刺吸式害虫有很好的控制作用的雪花莲凝集素、大蒜凝集素属于单子叶植物结合甘露糖凝集素家族,伴刀豆凝集素属于豆科类凝集素家族。

根据凝集素功能区域及与糖结合方式的不同,可将凝集素分为部分凝集素、全凝集素、嵌合凝集素和超凝集素(舒晓燕等,2006)。

根据单糖对凝集活性的抑制作用来研究植物凝集素的糖结合专一性,进而把它们分成了 7 类:岩藻糖组、半乳糖/N-乙酰半乳糖胺组、N-乙酰葡萄糖胺组、甘露糖组、唾液酸组、复合聚糖组(路子显等,2002)。雪花莲凝集素和伴刀豆凝集素属于甘露糖组;红肾豆凝集素属于复合聚糖组。

按照在植物中存在方式和产生的条件,植物凝集素又分为固有凝集素和可诱导凝集素(Vandenborre *et al.*, 2009a)。目前研究的凝集素大部分是固有凝集素。大部分固有凝集素存在于植物种子中,有的也存在于植物营养器官中。个别凝集素只有在植物组织受到某种压力才产生,这些就是可诱导凝集素。一些凝集素对植物可诱导的防御机制的植物激素产生反应,近来也发现虫害能诱导某些植物凝集素的高表达;如海灰翅夜蛾 *Spodoptera littoralis* (Boisduval) 和烟草天蛾 *Manduca sexta* (Johanssen) 可诱导烟草中的凝集素 Nictaba (Vandenborre *et al.*, 2009b)、麦麋蝇 *Mayetiola destructor* (Say) 的幼虫危害可诱导小麦中的 HFR-1 凝集素(Williams *et al.*, 2002)、禾谷缢管蚜 *Rhopalosiphum padi* L. 的取食可提高小麦中的 HFR-2 (Puthoff *et al.*, 2005) 和 HFR-3 凝集素(Giovanini *et al.*, 2007) 的表达。

凝集素的分类为其功能研究提供了重要参考,因为不同凝集素,其抗虫机理可能存在差异。受虫害诱导高表达的凝集素可能在技术上比较容易突破转基因高表达的障碍,而且对靶标害虫的作用更有针对性。

1.2 植物凝集素的抗虫机理

植物凝集素的抗虫作用与其特异地结合到昆虫肠内的糖化合物分不开,不同的凝集素的作用方式也不同,确切的作用机理目前还不是很清楚。Sauvion 等(2004a, 2004b)的研究表明伴刀豆凝集素改变了豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* (Harris) 的氨基酸代谢,通过组织荧光定位和免疫化学法证明伴刀豆凝集素先与中肠结合然后与整个消化道中的糖基化的受体结合,并引起上皮细胞肿胀、分泌过多并脱落但不裂解,并结合选择实验与取食行为观察证明甘露糖组的凝集素对豌豆蚜的取食行为的影响是蚜虫对凝集素中毒的结果而不是受感觉调节的。红肾豆凝集素降低了麦长管蚜 *Sitobion avenae* Fabricius 体内的 α -葡萄糖苷酶和碱性磷酸酶的活性(Sprawka *et al.*, 2011)。大蒜叶片凝集素(ASAL)在桃蚜 *Myzus persicae* (Sulzer) 体内以内源蛋白的形式结合到其中肠刷状缘隔膜囊感受器上(Dutta *et al.*, 2005a),并在桃蚜的刷状缘膜泡上分离到了作为 ASAL 配体的受体蛋白;通过配体印记的方法在萝卜蚜 *Lypaphis erysimi* (Kaltenbach) 上得到了证实(Bandyopadhyay *et al.*, 2001)。

目前比较一致的认为植物凝集素的抗虫机理为:植物凝集素与昆虫消化道上皮细胞的糖络合物结合,降低了膜的通透性,影响营养物质的正常吸收。同时,植物凝集素可能在昆虫消化道内诱发病灶,促使消化道内细菌繁殖,使昆虫感病、拒食、生长发育受抑制,甚至死亡,最终达到杀虫或对动物产生毒害的作用(张小霞等,2010)。

2 植物凝集素的测定方法

2.1 定性检测

植物凝集素的定性测定主要包括基因水平和蛋白水平的检测。基因水平的测定方法有 DNA 点杂交、PCR、PCR-Southern、Southern 杂交。高泽发等(2006)对 42 株转雪花莲凝集素小麦进行了 DNA 点杂交及 PCR,证明外源基因已经整合到小

麦基因组中并通过 PCR-Southern 进行了验证。梁辉等(2004)经 PCR 和 Southern 杂交证明了 16 株转雪花莲凝集素基因的小麦成功的转入了外源基因。

蛋白水平的定性测定方法有 western blot 和血凝法。Down 等(1996)利用 western blot 证明了转雪花莲凝集马铃薯正确表达了凝集素蛋白,大小约为 12 ku。血凝法既可用于凝集素的定性也可用于半定量。高泽发等(2006)通过血凝法检测到转基因小麦叶片中表达的雪花莲凝集素可使红细胞凝集,具有正常的生物学活性。

2.2 定量检测

植物凝集素的定量方法有血凝法、火箭免疫电泳、酶联免疫吸附法(ELISA)、免疫印迹等方法。植物凝集素的凝集效价与含量成线性关系,Bandyopadhyay 等(2001)的研究表明凝集素的凝血活性与抗蚜活性呈正相关。杨丽杰等(1999)利用火箭免疫电泳测定了黑龙江几个大豆品种中的凝集素平均含量为 3 mg/mL。Dutta 等(2005a)用 Elisa 的方法测定了转蒜叶凝集素(ASAL)的油菜中 ASAL 占可溶性蛋白的 0.06%~0.82%。很多凝集素可以用 ELISA 试剂盒进行定量检测,如红肾豆凝集素(PHA)、麦胚凝集素(WGA)、扁豆凝集素(LCA)等,检测下限达到 10 ng/mL,方便大样本量的测定。Down 等(1996)利用免疫印迹的方法测定了转雪花莲凝集素(GNA)马铃薯中的 GNA 含量占可溶性蛋白的 0.3%~0.4%。

血凝法操作简单,但是不同的凝集素对不同的血红细胞凝集反应敏感性不同,因此对红细胞的选择有严格的要求,而且只能用于半定量。火箭免疫电泳法具有准确度高、敏感性高等优点但是操作步骤繁杂。酶联免疫吸附法(ELISA)和免疫印迹具有准确度高、敏感性高,但是制备抗体的时间长。

3 植物凝集素的抗蚜作用研究与应用

目前报道对蚜虫控制效果比较好的凝集素主要属于单子叶甘露糖结合凝集素家族和豆科类凝集素家族,下面主要介绍这 2 个家族的凝集素的抗蚜作用。

3.1 单子叶甘露糖结合凝集素家族

单子叶甘露糖结合凝集素家族是一类具有甘露糖特异性结合位点的凝集素,也是目前具有抗蚜研究报道最多的家族,主要有雪花莲凝集素 GNA,大蒜球茎凝集素 ASAH,蒜叶凝集素 ASAL 和半夏凝集素 PTA。

在人工饲料中添加 0.1% 雪花莲凝集素(GNA)能减缓蚜虫的发育;让蚜虫整个生命周期都取食含 GNA 的人工饲料可以降低产仔率高达 65%,而用含 GNA 的饲料饲养桃蚜成虫,毒性作用明显降低,产仔率只降低了 14%(Down *et al.*, 1996)。Hilder 等(1995)通过转 GNA 烟草离体叶蝶和整株植物都证明了转 GNA 烟草减小了桃蚜种群数量,延长了种群加倍时间,经历 GNA 适应后的桃蚜同样对转 GNA 烟草敏感。Down 等(1996)得到的转 GNA 马铃薯上桃蚜的单虫产仔数减少了 60%,种群数量减小了 4 倍。雪花莲凝集素对桃蚜的半抑制浓度是 630 $\mu\text{g/mL}$,含 1 500 $\mu\text{g/mL}$ 雪花莲凝集素的人工饲料饲养的桃蚜在第 8 天的死亡率比对照高了 30%(Sauvion *et al.*, 1996)。梁辉等(2004)研究表明转化了 GNA 基因的小麦对禾谷缢管蚜在接种当代即表现出明显的毒杀作用;对麦长管蚜则表现为虫体发育减缓并且降低了其所产的若蚜成活率,在自然放养条件下,对这 2 种麦蚜的取食均起到了一定的抑制作用。高泽发等(2006)获得的叶肉细胞特异表达的转 GNA 基因小麦的平均抑蚜率达到了 47%。

用 4 nmol 的蒜叶凝集素 ASAL 饲喂萝卜蚜 48 h 死亡率达 79.8%(Bandyopadhyay *et al.*, 2001)。Dutta 等(2005a, 2005b)首次报道转蒜叶凝集素(ASAL)的油菜对萝卜蚜有持续的抗性,并在转 ASAL 烟草的抗桃蚜的试验中表明 6 d 后桃蚜的成活率为 16%~20%,显著低于非转基因烟草上的 75%。重组大蒜凝集素(ASA)对豌豆蚜的毒性有一定的剂量依赖性,ASAH 比 ASAI 毒性强,ASAH 在 2 mg/mL 时 48 h 后死亡率达到 45%(Fitches *et al.*, 2008)。转 ASAL 和 ASAH 的烟草上第 2 代烟蚜的繁殖力降低了 40%左右,延长了产仔前期和种群加倍时间(Sadeghi *et al.*, 2007)。转 ASAL 烟草上桃蚜的存活率为 18.9%~26.7%,而对照上为 74.8%(Chakraborti *et al.*, 2008)。蒜叶凝集素 ASAL 对豌豆蚜的半致死浓度是 3.17 $\mu\text{g/mL}$,转 ASAL 基因鹰嘴豆 3 d 后豌豆蚜的存活率为 11%~26%(对照为 79%),7 d

后的繁殖力为对照的 28% ~ 42% (Chakraborti *et al.*, 2009)。

黄大昉等(1997)最早研究表明人工饲料中含添加活性蛋白半夏凝集素引起棉蚜 *Aphis gossypii* Glover、桃蚜和麦蚜的成活率明显下降。转半夏凝集素(PTA)的作物对蚜虫也有较好的控制作用。转基因 PTA 烟草能明显地抑制桃蚜的生长;吴志明等(2010)用根瘤农杆菌介导法获得的转 PTA 烟草对桃蚜的群体增长率抑制率达 77.02%。

从人工饲料饲喂到转基因作物都表明单子叶甘露糖结合凝集素对蚜虫的生长、发育、繁殖都有一定的影响,而且对于不同发育阶段的蚜虫影响不完全相同,研究的蚜虫物种有桃蚜、麦蚜、玉米蚜 *Rhopalosiphum maidis* (Fitch)、豌豆蚜、萝卜蚜和棉蚜。

3.2 豆科类凝集素家族

豆科类凝集素是来自于豆类作物的一类同源蛋白,大部分具有甘露糖/葡萄糖、半乳糖/N-乙酰半乳糖胺结合位点。这个家族中已报道具有抗蚜效果的有伴刀豆凝集素 ConA 和红肾豆凝集素 PHA 等,对蚜虫的影响主要有以下 3 个方面:1)对存活、产仔、发育历期等生命参数的影响;2)对氨基酸代谢、葡萄糖苷酶和磷酸酶活性等生理的影响;3)对蚜虫的取食行为的影响。

伴刀豆凝集素 Concanavalin A (ConA)是最早从植物中分离出来的一种植物凝集素。不同种类的蚜虫对伴刀豆凝集素的敏感性不同,豌豆蚜和羽扇豆蚜 *Macrosiphum albifrons* Essig 对 ConA 最敏感。Rahbé 等(1995)报道伴刀豆凝集素对豌豆蚜、桃蚜、羽扇豆蚜、棉蚜、马铃薯长管蚜 *Macrosiphum euphorbiae* (Thomas)、茄无网蚜 *Aulacorthum solani* (Kaltenbach) 6 种蚜虫有毒性,对豌豆蚜的半致死浓度是 310 $\mu\text{g/mL}$ 、羽扇豆蚜是 330 $\mu\text{g/mL}$ 、桃蚜的半致死浓度是 1 200 $\mu\text{g/mL}$,其余的 3 种的半致死浓度超过了 1 500 $\mu\text{g/mL}$;并且在含 ConA 高于 750 $\mu\text{g/mL}$ 的人工饲料上豌豆蚜和羽扇豆蚜在成虫期前全部死亡。人工饲料中含有 0.0125% ~ 0.1% (W/V)的伴刀豆凝集素能减少桃蚜的累积产仔数 35% ~ 65%;延长发育历期;个体大小减小了 30%;转伴刀豆凝集素的马铃薯上桃蚜若虫数量减少 15% ~ 45% (Gatehouse *et al.*, 1999)。Sauvion 等(2004a,

2004b)的研究表明伴刀豆凝集素对豌豆蚜具有拒食作用;干扰虫体的正常生理代谢和细胞功能,并引起取食行为的变化。

Sprawka 等(2011)的研究表明麦长管蚜在含 1.5 mg/mL 红肾豆凝集素 PHA 的饲料上生长 15 d 后存活率仅为对照的 11.66%,日均产仔数极显著地减少了 30%,产仔前期延长了 65%,平均世代周期延长了 66%。红肾豆凝集素 PHA 减少了水溶性唾液(E1 波)的分泌和被动取食(E2 波);PHA 浓度低于 250 $\mu\text{g/mL}$ 时能观察到麦长管蚜完整的取食波形,不低于 500 $\mu\text{g/mL}$ 时没有 E 波出现;随着浓度的升高,麦长管蚜在饲料上刺探的次数越来越多,刺探持续的时间越来越长(Sprawka and Goławska, 2010)。

豆科类凝集素对蚜虫的控制作用研究一直还在实验室和温室水平,缺乏大田实验数据,因此种群水平的大田试验研究还有待展开。

4 植物凝集素对蚜虫天敌的影响

转基因作物对天敌的影响越来越受到关注。植物凝集素在植物转基因育种中的研究已经很广泛,虽然植物凝集素可以作为一种控制蚜虫的资源,但是其对蚜虫天敌的影响还存在争议,这主要跟凝集素的多样性和抗虫机理还不是很清楚有关。

植物凝集素对捕食性天敌和寄生性天敌都有一定的影响。Down 等(2003)用含 0.1% 的人工饲料饲养的桃蚜饲喂二星瓢虫 *Adalia bipunctata* (L.) 的幼虫,研究表明 GNA 对二星瓢虫幼虫没有显著的影响;但是 Birch 等(1999)用取食转 GNA 马铃薯叶片的桃蚜饲喂二星瓢虫的成虫 12 d 后繁殖力、卵的孵化能力和寿命明显降低,GNA 能通过食物链对二星瓢虫有副作用,但是转 GNA 马铃薯对二星瓢虫没有直接毒害作用。1% 的 GNA 的人工饲料对蚜虫天敌草蛉 *Chrysoperla carnea* (Stephens)、二星瓢虫和七星瓢虫 *Coccinella septempunctata* L. 的体重增加没有明显的影响,但是影响了这 3 种天敌的寿命(Hogervorst *et al.*, 2006)。Li 和 Romeis(2009)研究表明含 GNA 的人工饲料对草蛉成虫寿命没有影响,对产卵前期、日均产卵数和总产卵数的不良影响跟 GNA 浓度有关,摄食 GNA 的草蛉幼虫的发育历期明显变长;从取食 GNA 的幼虫羽化而来的成虫的鲜重、产卵

前期、日均产卵数和总产卵数与对照没有什么区别。被苜蓿蚜小蜂 *Aphelinus abdominalis* (Dalman), 寄生的转 GNA 马铃薯上的蚜虫大小对蚜小蜂的性比及虫体大小有着间接的影响 (Couty *et al.*, 2001)。Romeis 等 (2003) 从味觉反应、寿命、繁殖、蛹的羽化及性比等方面研究了 GNA 对蚜茧蜂 *Aphidius colemani* Viereck、甘蓝夜蛾赤眼蜂 *Trichogramma brassicae* Bezdenko 及菜粉蝶盘绒茧蜂 *Cotesia glomerata* (L.) 3 种寄生蜂的影响, 结果表明 GNA 对 3 种寄生蜂的影响不完全相同, GNA 对 3 种寄生蜂的存活率都有影响; 能刺激蚜茧蜂取食, 抑制菜粉蝶盘绒茧蜂取食; 降低了赤眼蜂生殖力, 而对蚜茧蜂生殖力没有影响。

凝集素对蚜虫天敌的影响可能是由于蚜虫取食含凝集素的饲料或转基因植物后自身大小和营养状况下降, 天敌受营养不良的间接影响从而生长发育受限制 (Couty *et al.*, 2001)。目前的研究都是在实验室和温室水平, 可能在大田中有其他的食物作为补充, 能消除由于凝集素引起的食物不足或质量不好对天敌的影响。

5 植物凝集素的抗蚜应用前景及存在的问题

5.1 应用前景

植物凝集素是植物源的, 对高等动物相对比较安全, 而且对刺吸式害虫具有控制效果, 因此将成为蚜虫防治的重要研究领域。随着蚜虫人工饲养技术和植物凝集素检测方法地不断进步, 越来越多的植物凝集素被用于抗蚜研究中。植物凝集素的开发可从两方面进行: (1) 筛选植物本身含量较高的凝集素品种; (2) 将筛选出的控蚜效果好的凝集素基因利用转基因技术导入植物中。

5.1.1 植物本身的凝集素 自从 1888 年 Stillmark 首次在蓖麻种子中分离纯化到伴刀豆凝集素 (ConA) 以来, 已有数百种植物凝集素得到了纯化分离, 其中以豆科作物中本身的凝集素含量比较高, 含量最高的是红肾豆, 生的红肾豆含有 20 000 ~ 70 000 凝集素单位。杨明亮和王继安 (2009) 测得 64 份大豆种质资源中凝集素含量最高的达到 37.5 mg/g。研究表明纯化得到的雪花莲凝集素、伴刀豆凝集素、大蒜凝集素、红肾豆凝集素等对蚜虫的存活、产仔和取食行为产生了影响。

天南星科植物为我国特有的中草药植物, 从中得到的凝集素提取物对蚜虫具有毒杀、拒食和致死作用。潘映红等 (1998) 的研究表明分别含 0.12% 或 0.15% 的掌叶半夏的人工饲料即对棉蚜或桃蚜显示出明显的致死作用。天南星凝集素提取物 (AMA) 在低浓度 (1.0 g/L) 时即对棉蚜有明显的致死性和降低生殖、抑制发育进程的作用; 棉花凝集素提取物 (GHA) 在 2.0 g/L 时对棉蚜有很强的抑制作用 (毛雪等, 1999)。朝鲜天南星凝集素 (ACA) 提取物在 1.5 g/L 和 2.5 g/L 时对棉蚜有明显的致死活性; 取食 1.5 g/L 的 ACA 营养液的棉蚜生殖力显著低于对照 30%, 繁殖高峰也明显向后推迟 4 d (李润植等, 2000)。潘科等 (2004) 的研究表明海芋凝集素提取物对豆蚜有较强胃毒作用和忌避作用, 用 1% 海芋凝集素饲养豆蚜 3 d 死亡率高达 89%, 降低了生殖率, 抑制蜜露分泌。

这些凝集素的研究为筛选新型、高效的抗虫基因提供了理论基础, 也被广泛的应用在转基因技术中。

5.1.2 转基因表达的植物凝集素 植物凝集素的抗蚜功能为抗刺吸式害虫转基因作物的研究提供了新的出路, 在一定程度上弥补了 Bt 杀虫谱窄的某些不足, 而且不易产生抗性, 它可以单独转入小麦、水稻、棉花等作物体内来防治蚜虫、飞虱、叶蝉等刺吸式口器害虫, 也可以和 Bt 基因同时转入植物体内构建双抗的转基因植物, 是抗虫转基因作物育种的新选择。已经获得的抗蚜转基因植物有转雪花莲凝集素烟草、马铃薯、小麦、玉米、棉花、白菜、菊花和苜蓿等; 转蒜叶凝集素水稻、烟草、鹰嘴豆和油菜; 转半夏凝集素烟草、转伴刀豆凝集素马铃薯、转麦胚凝集素油菜、转苋菜凝集素烟草等, 一部分已经有大田试验的报道。2002 年和 2005 年转雪花莲凝集素小麦已经进行了环境释放实验, 不仅证明对蚜虫有控制效果而且还提高了小麦品质 (徐琼芳等, 2003, 2005)。肖松华等 (2005) 在温室和田间对 2 个品系的转半夏凝集素基因棉花和 1 个品系的转天南星凝集素基因棉花进行了抗蚜鉴定, 结果表明这 3 个品系均对棉蚜表现为高抗。2003 年和 2004 年在吉林省进行了转雪花莲凝集素大豆的大田试验, 结果表明转基因品系抗蚜性明显优于对照, 并且农艺性状无明显改变 (姜昱等, 2005)。2007 年通过对转

GNA&Bt 基因棉花的大田抗蚜性研究表明双价棉上的绝对蚜量分别比常规棉减少 54.51%,比单价 Bt 棉减少 13.85% (廉慧草, 2007)。玉米蚜在表达量高于 0.22% 的转 GNA 的玉米上的产仔量降低了 46.9%,而且田间试验跟室内接虫试验结果一致 (Wang *et al.*, 2005)。

5.2 存在主要问题

虽然植物凝集素对蚜虫的抗性已经得到了研究证明,并且关于不同凝集素的抗性机理与作用方式的研究也越来越多,但是仍然有一些问题存在。凝集素的抗虫效果跟凝集素的浓度是相关的,高于一定浓度时才对蚜虫有抑制作用 (Fitches *et al.*, 2008),低浓度时甚至能促进蚜虫生长 (Sauvion *et al.*, 1996)。凝集素的抗虫效果跟剂量的关系要求对转基因植物体内凝集素的表达有一定的要求,尤其是对蚜虫这类刺吸式害虫的控制,如能突破将外源凝集素的基因在植物韧皮部特异性的高表达技术更好。

一些其他种类的凝集素的抗虫性研究因为受凝集素的纯化技术限制难获得大量的高纯度的凝集素而没有开展。

转凝集素基因作物的安全性是凝集素转基因作物应用最受关注和最具争议的问题。虽然有研究表明转凝集素基因作物的农艺性状没有明显改变;但是转基因作物的外源基因被导入后,可能会导致植物的生理代谢发生变化 (武予清和郭予元, 2001)。目前尚未见关于导入外源凝集素基因后的转基因作物的生理代谢变化的报道。转凝集素与其他抗虫因子的交互作用也很少受到关注。目前仅有报道转雪花莲凝集素作物对哺乳动物没有危害 (Down *et al.*, 1996),在实验室条件下对天敌没有直接的危害 (Couty *et al.*, 2001)。其他凝集素转基因作物对哺乳动物和非靶标害虫的影响如何尚不清楚,而且一直缺乏关于凝集素转基因作物对生态环境的安全性评价研究。转凝集素基因作物对天敌、非目标害虫和生态环境的潜在风险还需多年的大田试验作进一步评估。

参考文献 (References)

Bandyopadhyay S, Roy A, Das S, 2001. Binding of garlic (*Allium sativum*) leaf lectin to the gut receptors of homopteran pests is correlated to its insecticidal activity.

Plant Sci., 161(5):1025 – 1033.

Birch ANE, Geoghegan IE, Majerus MEN, Mcnicol JW, Hackett CA, Gatehouse AMR, Gatehouse JA, 1999. Tri-trophic interactions involving pest aphids, predatory 2-spot ladybirds and transgenic potatoes expressing snowdrop lectin for aphid resistance. *Mol. Breed.*, 5(1):75 – 83.

Chakraborti D, Sarkar A, Monda H, Das S, 2009. Tissue specific expression of potent insecticidal, *Allium sativum* leaf agglutinin (ASAL) in important pulse crop, chickpea (*Cicer arietinum* L.) to resist the phloem feeding *Aphis craccivora*. *Transg. Res.*, 18(4):529 – 544.

Chakraborti D, Sarkar A, Mondal H, Schuermann D, Hohn B, Sarmah B, Das S, 2008. Cre/ lox system to develop selectable marker free transgenic tobacco plants conferring resistance against sap sucking homopteran insect. *Plant Cell Rep.*, 27(10):1623 – 1633.

Couty A, de la Viña C, Clark SJ, Kaiser L, PhamDelègue MH, Poppy GM, 2001. Direct and indirect sublethal effects of *Galanthus nivalis* agglutinin (GNA) on the development of a potato-aphid parasitoid, *Aphelinus abdominalis* (Hymenoptera: Aphelinidae). *J. Insect Physiol.*, 47(6):553 – 561.

Down RE, Ford L, Woodhouse SD, Davison GM, Majerus MEN, Gatehouse JA, Gatehouse AMR, 2003. Tritrophic interactions between transgenic potato expressing snowdrop lectin (GNA), an aphid pest (peach-potato aphid; *Myzus Persicae* (Sulz.) and a beneficial predator (2-spot ladybird; *Adalia Bipunctata* L.). *Transg. Res.*, 12(2):229 – 241.

Down RE, Gatehouse AMR, Hamilton WDO, Gatehouse JA, 1996. Snowdrop lectin inhibits development and decreases fecundity of the glasshouse potato aphid (*Aulacorthum solani*) when administered in vitro and via transgenic plants both in laboratory and glasshouse trials. *J. Insect Physiol.*, 42(11/12):1035 – 1045.

Dutta I, Majumder P, Saha P, Ray K, Das S, 2005a. Constitutive and phloem specific expression of *Allium sativum* leaf agglutinin (ASAL) to engineer aphid (*Lipaphis erysimi*) resistance in transgenic Indian mustard (*Brassica juncea*). *Plant Sci.*, 169(6):996 – 1007.

Dutta I, Saha P, Majumder P, Sarkar A, Chakraborti D, Banerjee S, Das S, 2005b. The efficacy of a novel insecticidal protein, *Allium sativum* leaf lectin (ASAL), against homopteran insects monitored in transgenic tobacco. *Plant Biotechnol. J.*, 3(6):601 – 611.

Fitches E, Wiles D, Douglas AE, Hinchliffe G, Audsley N, Gatehouse JA, 2008. The insecticidal activity of reco-

- mbinant garlic lectins towards aphids. *Insect Biochem. Mol. Biol.*, 38(10):905–915.
- Gatehouse AMR, Davison GM, Stewart JN, 1999. Concanavalin A inhibits development of tomato moth (*Lacanobia oleracea*) and peach-potato aphid (*Myzus persicae*) when expressed in transgenic potato plants. *Mol. Breed.*, 5(2):153–165.
- Giovanini MP, Saltzmann KD, Puthoff DP, Gonzalo M, Ohm HW, Williams CE, 2007. A novel wheat gene encoding a putative chitin-binding lectin is associated with resistance against Hessian fly. *Mol. Plant Pathol.*, 8(1):69–82.
- Hilder VA, Powell KS, Gatehouse AMR, Gatehouse JA, Gatehouse LN, Shi Y, Hamilton WDO, Merryweather A, Newell CA, Timans JC, Peumans WJ, Van Damme E, Boulter D, 1995. Expression of snowdrop lectin in transgenic tobacco plants results in added protection against aphids. *Transg. Res.*, 4(1):18–25.
- Hogervorst PAM, Ferry N, Gatehouse AMR, Wäckers FL, Romeis J, 2006. Direct effects of snowdrop lectin (GNA) on larvae of three aphid predators and fate of GNA after ingestion. *J. Insect Physiol.*, 52(6):614–624.
- Li YH, Romeis J, 2009. Impact of snowdrop lectin (*Galanthus nivalis* agglutinin; GNA) on adults of the green lacewing, *Chrysoperla carnea*. *J. Insect Physiol.*, 55(2):136–143.
- Peumans WJ, Van Damme EJM, 1995. Lectins as plant defense proteins. *Plant Physiol.*, 109(2):347–352.
- Puthoff DP, Sardesai N, Subramanyam S, Nemacheck JA, Williams CE, 2005. Hfr-2, a wheat cytolytic toxin-like gene, is up-regulated by virulent Hessian fly larval feeding. *Mol. Plant Pathol.*, 6(4):411–423.
- Rahbé Y, Sauvion N, Febvay G, Peumans W, Gatehouse A, 1995. Toxicity of lectins and processing of ingested proteins in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *Entomol. Exp. Appl.*, 76(2):143–155.
- Romeis J, Babendreier D, Wäckers FL, 2003. Consumption of snowdrop lectin (*Galanthus nivalis* agglutinin) causes direct effects on adult parasitic wasps. *Oecologia*, 134(4):528–536.
- Sadeghi A, Boreders S, Greve HD, Hernalsteens JP, Peumans WJ, Van Damme EJM, Smagghe G, 2007. Expression of garlic leaf lectin under the control of the phloem-specific promoter *Asu1* from *Arabidopsis thaliana* protects tobacco plants against the tobacco aphid (*Myzus nicotianae*). *Pest Manag. Sci.*, 63(12):1215–1223.
- Sauvion N, Charles H, Febvay G, Rahbé Y, 2004a. Effects of jackbean lectin (ConA) on the feeding behaviour and kinetics of intoxication of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Entomol. Exp. Appl.*, 110(1):31–44.
- Sauvion N, Nardon C, Febvay G, Gatehouse AMR, Rahb Y, 2004b. Binding of the insecticidal lectin Concanavalin A in pea aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Harris) and induced effects on the structure of midgut epithelial cells. *J. Insect Physiol.*, 50(12):1137–1150.
- Sauvion N, Rahbé Y, Peumans WJ, Van Damme EJM, Gatehouse JA, Gatehouse AMR, 1996. Effects of GNA and other mannose binding lectins on development and fecundity of the peach-potato aphid *Myzus persicae*. *Entomol. Exp. Appl.*, 79(3):285–293.
- Sprawka I, Goławska S, 2010. Effect of the lectin PHA on the feeding behavior of the grain aphid. *Journal of Pest Science*, 83(2):149–155.
- Sprawka I, Golawska S, Czerniewicz P, Sytykiewicz H, 2011. Insecticidal action of phytohemagglutinin (PHA) against the grain aphid, *Sitobion avenae*. *Pestic. Biochem. Physiol.*, 100(1):64–69.
- Van Damme EJM, 2008. Plant Lectins as Part of the Plant Defense System Against Insects Induced Plant Resistance to Herbivory. Springer Netherlands. 285–307.
- Vandenborre G, Van Damme EJM, Smagghe G, 2009a. Natural products: plant lectins as important tools in controlling pest insects. *Biorational Control of Arthropod Pests*, Springer Netherlands. 163–187.
- Vandenborre G, Van Damme EJM, Smagghe G, 2009b. *Nicotiana tabacum* agglutinin expression in response to different biotic challengers. *Arthropod-Plant Interact.*, 3(4):193–202.
- Wang ZY, Zhang KW, Sun XF, Tang KX, Zhang JR, 2005. Enhancement of resistance to aphids by introducing the snowdrop lectin gene *gna* into maize plants. *J. Biosci.*, 30(5):627–638.
- Williams CE, Collier CC, Nemacheck JA, Liang C, Cambron SE, 2002. A Lectin-Like wheat gene responds systemically to attempted feeding by avirulent first-instar hessian fly larvae. *J. Chem. Ecol.*, 28(7):1411–1428.
- 高泽发, 陈绪清, 杨凤萍, 梁荣奇, 张立全, 张晓东, 2006. 人工合成 *gna* 基因在小麦中的表达及其抗蚜虫效果研究. 农业生物技术学报, 14(4):559–564.
- 黄大昉, 潘映红, 张淑香, 曹景萍, 杨雪梅, 张杰, 尹蔚庄, 1997. 从掌叶半夏和半夏中发现对几种蚜虫有致死活性的蛋白. 中国农业科学, 30(2):94–96.
- 姜昱, 刘德璞, 王中伟, 周正平, 王浩, 袁鹰, 刘娜, 郝文媛, 2005. 转雪花莲凝集素(GNA)基因抗蚜大豆后代材料的田间试验. 吉林农业科学, 30(4):31–32, 43.

李润植,高武军,季道藩,李采霞,2000. 朝鲜天南星凝集素的分离及抗棉蚜效应分析. 棉花学报, 12(1):54.

廉慧草,2007. 转双价基因棉花的大田抗蚜性的研究. 科学之友, 12(B版):28,44.

梁辉,朱银峰,朱祯,孙东发,贾旭,2004. 雪花莲凝集素基因转化小麦及转基因小麦抗蚜性的研究. 遗传学报, 31(2):189-194.

路子显,常团结,朱祯,2002. 植物外缘凝集素及其在植物基因工程中的应用. 生物工程进展, 22(2):3-10.

毛雪,高丽峰,李彩霞,李润植,1999. 植物凝集素对蚜虫的抗生效应. 山西农业大学学报, 19(2):122-126.

潘科,侯学文,黄炳球,2004. 海芋凝集素对豆蚜的抗生作用研究. 华南农业大学学报, 25(3):51-54.

潘映红,张淑香,曹景萍,杨雪梅,张杰,尹蔚庄,黄大昉,1998. 掌叶半夏凝集素的分离纯化及抗蚜活性研究. 自然科学进展, 8(4):502-506.

舒晓燕,阮期平,侯大斌,2006. 植物凝集素的研究进展. 现代中药研究与实践, 20(6):53-56.

吴志明,董文琦,党志红,潘文亮,谢晓亮,温春秀,陈劲枫,2010. 半夏凝集素基因克隆及其对桃蚜的抗性研究. 南京农业大学学报, 33(2):45-50.

武予清,郭予元,2001. 棉花单宁-黄酮类化合物对棉铃虫的抗性潜力. 生态学报, 21(2):286-289.

肖松华,刘剑光,吴巧娟,狄佳春,徐乃银,陈旭升,柏立新,2005. 转外源凝集素基因棉花对棉蚜的抗性鉴定. 棉花学报, 17(2):72-78.

徐琼芳,陈孝,田芳,李连城,杜丽璞,马有志,辛志勇,2003. 转基因小麦京411的选育及其利用. 全国作物细胞工程与分子技术育种学术研讨会. 江苏苏州. 343-346.

徐琼芳,田芳,陈孝,李连城,林志姗,莫英,徐惠君,刘燕,许为钢,杜丽璞,辛志勇,2005. 转GNA基因小麦新株系的分子检测和抗蚜虫性鉴定. 麦类作物学报, 25(3):7-10.

杨丽杰,李素芬,张永成,霍贵成,杨庆凯,1999. 黑龙江几个大豆品种中抗营养因子含量的分析. 大豆科学, 18(1):77-80.

杨明亮,王继安,2009. 大豆凝集素含量测定及聚类分析. 大豆科技, 17(5):20-23.

张小霞,曹素梅,梁振普,乔冠华,许锋,陈晓慧,2010. 植物凝集素在抗刺吸式害虫转基因工程中的应用. 植物保护, 36(4):23-28.