

# The Potential Application of Genes for Aphid Resistance in Cotton Breeding

Caifeng Yang, Gangqiang Li, Nan Wang, Fangfang Xu, Wenfang Guo, Dehu Liu\*

Biotechnology Research Institute, Chinese Academy of Agricultural Sciences, Beijing  
Email: ycfcaas@163.com, \*liudehu2006@126.com

Received: May 4<sup>th</sup>, 2017; accepted: May 22<sup>nd</sup>, 2017; published: May 25<sup>th</sup>, 2017

---

## Abstract

Aphid is a common crop pest. As a kind of agricultural pest and the carrier of plant viruses, aphids result in serious damage in the development of agriculture. Scientists try their best to find out the effective method for aphid control. Scientists pay attention to transgenic engineering for its high efficiency in aphid resistance. In this paper, the progress of the aphid resistance engineering research in recent years were reviewed, the potential application of aphid-resistant gene in aphid-resistant cotton transgenic engineering and the development direction of aphid-resistant transgenic breeding were discussed. We provide an overview and information useful for aphid-resistant cotton transgenic breeding.

## Keywords

Aphid, Aphid-Resistant Genes, Agglutinin, Aphid-Resistant Cotton

---

# 抗蚜基因在棉花育种中的潜在应用

杨彩峰, 李刚强, 王楠, 许芳芳, 郭文芳, 刘德虎\*

中国农业科学院生物技术研究所, 北京  
Email: ycfcaas@163.com, \*liudehu2006@126.com

收稿日期: 2017年5月4日; 录用日期: 2017年5月22日; 发布日期: 2017年5月25日

---

## 摘要

蚜虫是一种常见的农作物害虫, 作为农作物害虫和多种植物病毒的传播者而成为影响农业发展的重要害虫之一。对蚜虫的有效防治一直是众多科学工作者所面对的难题。抗蚜植物基因工程以其对蚜虫较好的

\*通讯作者。

防治效果而受到广泛关注和重视。本文就当前已发现的抗蚜基因和植物防御机制进行了概述,讨论了抗蚜基因在棉花抗蚜基因工程中的应用价值并对未来抗蚜植物基因工程的发展方向提出看法,为抗蚜转基因棉花的研究提供理论依据。

## 关键词

蚜虫, 抗蚜基因, 凝集素, 棉花抗蚜

Copyright © 2017 by authors and Hans Publishers Inc.

This work is licensed under the Creative Commons Attribution International License (CC BY).

<http://creativecommons.org/licenses/by/4.0/>



Open Access

## 1. 引言

棉花是一种世界性分布的经济作物[1], 更是重要的战略物资, 其重要性仅次于主要的粮食作物[2], 棉花产量与品质对我国棉花相关产业乃至经济的发展至关重要。近年来, 随着转 Bt 基因抗虫棉的大规模种植, 棉铃虫的危害逐渐降低, 而以蚜虫为主的刺吸式害虫的危害却逐渐增大, 现已成为危害棉花的主要害虫之一[3]。蚜虫害不仅会造成棉花产量的减少, 而且会降低棉絮的品质。传统化药防蚜对生态环境的污染以及成本问题迫使人们寻求新的抗蚜途径, 而植物抗蚜虫基因工程的靶向性、经济性和环保性等优点使其成为一种比较理想的新选择。

## 2. 蚜虫特征及危害简介

蚜虫又称蜜虫, 属半翅目(Hemiptera) [传统上归为同翅目(Homoptera)]昆虫。在全世界广泛分布 5000 余种[4], 在中国已经发现 1000 余种[5]。目前, 棉花上已发现的蚜虫主要有 5 种: 棉蚜(*Aphis gossypii* Glover)、棉长管蚜(*Acyrtosiphon gossypii* Mordvilko)、苜蓿蚜(*Aphis craccivora* Koch)、拐枣蚜和菜豆根蚜(*Mynthurodes betae* Westwood), 其中又以棉蚜为优势群体。

蚜虫为刺吸式口器害虫, 一般通过三种方式给棉花带来危害[1] [3]: 1) 直接取食棉花汁液, 影响棉株生长; 2) 蜜露污染; 3) 传播植物病毒。蚜虫群生于植物叶片的背面、嫩茎、花蕾、顶芽等部位[6], 并用刺吸式口器吸食植物汁液, 它们分泌的唾液中含有多种蛋白, 可以阻止植物用于堵塞伤口的物质聚集, 进而抵制植物的防御系统[7] [8]; 在吸食汁液的同时, 由于植物组织或细胞受到破坏, 致使叶片正反面生长不均衡, 叶片向背面卷曲, 叶片变小、变黄和皱缩; 蚜虫的排泄物(蜜露)不仅可污染棉絮, 降低棉絮品质[9], 而且不利于后续的纺织加工, 还可诱发煤污病, 遮挡光线、影响植物光合作用等[1] [3]; 此外, 蚜虫还是是一些棉花病毒的传播介体, 在产生有翅蚜后, 具有极强的迁徙能力, 可导致植物病害的大面积发生。蚜虫对棉花的多方面损害使得在棉花产业上对蚜虫的防治变得极其重要。

## 3. 棉花抗蚜虫研究现状

近年来, 随着 Bt 转基因抗虫棉的大规模种植, 棉铃虫数量急剧减少。蚜虫已经取代棉铃虫成为危害棉花的主要害虫之一。尽管抗虫棉体内表达的各种 Cry 毒蛋白对蚜虫也有一定的抑制作用, 但由于蚜虫肠胃内较低的 pH 值, 导致 Bt 毒蛋白对蚜虫的毒性比较低[10], 无法有效地抑制蚜虫取食和繁殖; 蚜虫具有极强的繁殖能力, 很容易产生抗性蚜[6]; 另外, 蚜虫一般在棉花叶片的背面取食, 使棉花叶片成为其天然的保护屏障[11]而难以灭杀, 仅依靠研发新型灭蚜化学农药已经很难取得长期且良好的防治效果,

且化学农药对生态环境的破坏作用促使科技人员寻找更为环保高效的灭蚜途径。

随着基因工程理论基础研究和分子生物技术的日益成熟,通过转基因方法增强植物的抗蚜性或耐害性已成为可能,根据防治对象不同,当前大致可将抗蚜基因工程研究方向分为两大类:1)广谱性抗蚜途径;2)特异性抗蚜途径。

### 3.1. 广谱性抗蚜途径

该类抗蚜途径对半翅目具有刺吸式口器的蚜虫以及白粉虱均具有一定的抗性,由于抗虫谱较广,使得该类途径具有较大的应用范围和价值,主要有以下几类:

#### 3.1.1. 植物凝集素

在抗蚜虫基因工程研究中,目前研究最多和最深入的是植物所编码的凝集素基因。凝集素是能够与一个或多个单糖或寡聚糖特异性可逆性结合的蛋白质,广泛存在于动植物和微生物中[10],通常为二聚体或四聚体。在植物中,其主要功能是介导植物防御体系的建立[12]。植物表达的凝集素主要存在于细胞内的蛋白体中,在被蚜虫等昆虫取食后会释放出来并与昆虫消化道围食膜上的蛋白糖链结合,降低膜的通透性,阻碍营养物质的正常吸收,同时诱发病灶和促进细菌繁殖对昆虫造成伤害。许多植物来源的凝集素具有较高的稳定性,在波动较大的 pH 值范围内,高温、蛋白酶作用下,甚至在一些化学溶液中也不会变性。因此,在长期的自然进化中,凝集素逐渐被植物当作防御自身安全的重要物质[13]。根据凝集素的分子结构和进化关系将凝集素分为 7 类不同家族:单子叶半乳糖结合凝集素;几丁质结合凝集素;豆科凝集素;甘露糖结合凝集素(GNA 相关超家族);苜蓿科凝集素家族;葫芦科韧皮部凝集素;木菠萝相关凝集素和 II 型核糖体失活蛋白及相关凝集素。当前研究较为深入的植物凝集素主要有如下几类:

##### 1) 雪花莲凝集素(*Galanthus nivalis* agglutinin, GNA)

雪花莲凝集素是属于结合甘露糖的植物凝集素,源自植物雪花莲,是目前使用最为广泛的抗蚜虫基因,雪花莲凝集素可与消化道中的消化酶以及中肠表皮细胞的末端为  $\alpha$ -1,3-甘露糖的多糖链结合,介导抗蚜功能。除对蚜虫具有很高的抗性之外,对其它刺吸式害虫如飞虱也具有一定的抑制作用。雪花莲凝集素基因已经广泛应用于植物抗蚜基因工程,例如 Elaine Fitches [15] 等将蜘蛛毒素  $\delta$ -amaurobitoxin-PI1a 或  $\omega$ -hexatoxin-hv1a 与 GNA 进行融合表达;王志斌、郭三堆[16]曾将 Cry 基因和 GNA 同时导入烟草中;Stoger [14]将 GNA 导入小麦中。

##### 2) 苜蓿凝集素(*Amaranthus caudatus* agglutinin, ACA)

苜蓿凝集素存在于苜蓿种子细胞的细胞质中,是一种贮藏蛋白,属于苜蓿凝集素家族的典型代表。此类凝集素富含多种人体必需氨基酸,是改善食物营养成分及含量的一种新途径。研究表明,ACA 可中肠围食膜上的 2-乙酰氨基-2-脱氧-D 半乳糖缀合物专一性结合介导抗蚜性。对 ACA 的研究仅次于 GNA,例如 Guo [17]等利用来自竹节花黄斑驳病毒(CoYMV)的韧皮部特异性启动子驱动 ACA 基因在烟草中表达,使转基因烟草获得了一定的抗蚜能力。还有学者将 ACA 基因导入棉花中表达,转基因棉花的最高抗蚜率可达 64.5% [18],该基因工程棉花现已经进入田间试验阶段,表现出一定的实用前景。

##### 3) 半夏凝集素(*Pinellia ternate* agglutinin, PTA)

半夏凝集素基因源于半夏属天南星科,后者是一种药用植物。从掌叶半夏或半夏中提取的半夏凝集素,对麦管蚜、桃蚜、棉蚜、白粉虱及一些病原菌均有致死作用。目前,已有学者将 PTA 基因导入烟草并得到转基因植株,抗蚜实验表明,转 PTA 烟草 T0 和 T1 代的桃蚜数量比非转基因烟草植株减少 89%~92%,白粉虱数量减少 91%~93%;另外,对耳虫、食心虫和甜菜夜蛾等三种害虫的致死率达到 100% [19]。该基因已经应用于棉花抗蚜虫基因工程研究,如雒珺瑜[8]得到的转半夏凝集素棉花具有一定的抗蚜能力,

肖松华[20]对得到的转半夏凝集素棉花检测也得到同样的结论。

#### 4) 大蒜凝集素(*Allium sativum* agglutinin, ASA)

大蒜凝集素是一种源自单子叶植物的甘露糖凝集素,是由印度人 Dutta 在 2005 年首次克隆得到的[21]。曾经先后导入烟草、印度芥菜和鹰嘴豆等植物,其中转大蒜凝集素基因在鹰嘴豆具有较好的抗蚜虫能力,对蚜虫致死率超过 90% [22]。大蒜凝集素对蚜虫的影响与其他凝集素不同, Sadeghi [23]等人在将大蒜叶子凝集素和鳞茎凝集素分别转入烟草,在进行抗蚜分析时发现,大蒜凝集素对蚜虫从若虫变成成虫的过程几乎没有影响,但对成虫的抑制率效果较好,可减缓虫体的发育使虫口密度降低 40%。

#### 5) 韭兰凝集素(*Zephyranthes grandiflora* agglutinin, Zga)

韭兰凝集素是源自石蒜科葱莲属中的一种凝集素,具有三个可与甘露糖特异性结合位点。对桃蚜具有抗性作用, Zhou [24]等人将该基因导入烟草中表达,整株蚜口密度降低 77.9%,若虫密度降低 35.6%。尽管韭兰凝集素对于提高烟草的抗蚜能力较好,但尚未发现其在棉花抗蚜基因工程中有应用。

#### 6) 菊芋凝集素(*Helianthus Tuberosus* agglutinin, HTA)

菊芋凝集素源于菊科植物菊芋,介导对桃蚜的抗性。HTA 是由四个 15.5KD 的亚基形成的同源四聚体,结构于 GNA 相似。HTA 由 hta-a, hta-b, hta-c 和 hta-d 基因家族表达。Chang [25]等人利用花椰菜花叶病毒 35S 启动子调控该基因,然后导入烟草中表达,获得的转基因烟草植株可使绿桃蚜的虫口密度降低 70%,此外,还观察到菊芋凝集素能够降低绿桃蚜的繁殖力并延缓其发育,HTA 对蚜虫的抗性在抗蚜基因工程具有一定的应用价值,是个较佳的候选基因。

#### 7) 菜豆凝集素(*Phaseolus vulgaris* agglutinin, PHA)

菜豆凝集素对哺乳动物的毒性相对较强,在没有正确加工后食用会造成食物中毒现象,故需谨慎使用 [5]。但针对于棉花的非食用性,该基因具有参考价值,但迄今尚未发现用于棉花抗蚜虫基因工程的报道。

#### 8) 山药块茎凝集素 1 (*Dioscorea batatas* tuber lectin 1, DB1)

山药块茎凝集素 1 是发现于山药块茎中的一种甘露糖凝集素,其糖链结合位点与雪花莲凝集素具有高度相似性[26], Kato [27]用含 1 mg/mL 山药块茎凝集素 1 的人工饲料饲喂桃蚜时发现,桃蚜的存活率和繁殖率明显降低。随后, Kato 首先将该基因分别与不同的植物启动子拼接,然后导入烟草中表达, DB1 表达量约占到烟草总可溶性蛋白中分别为 1.8% 和 0.25%,但其植株蚜虫虫口密度均降低 60%,故推测 DB1 的抗蚜虫效果与表达量的关系不大。虽然 DB1 可以在一定程度上增强转基因植株的抗蚜虫能力,但增强程度有限。

#### 9) 伴刀豆凝集素 A (*Concanavalin A* agglutinin, ConA)

该凝集素源于刀豆,属于甘露糖凝集素。ConA 可与消化道表皮细胞的甘露糖受体结合,影响蚜虫进食以及细胞的正常代谢[28], Angharad [29]用含有 ConA 蛋白的饲料饲喂甘蓝夜蛾幼虫发现,在最高剂量时不仅对夜蛾幼虫可产生 90% 的致死作用,而且能够减缓若蚜的发育;在饲喂桃蚜时,可以使蚜虫的虫体体积减少 30%,发育迟缓和繁殖率降低 35% 以上,但对于蚜虫并不致死;这一点与菊芋凝集素相似,目前尚无人将其转入棉花中,故而该基因在棉花上的实际效应有待验证。

#### 10) 小麦胚芽凝集素(*Wheat germ* agglutinin, WGA)

小麦胚芽凝集素可与几丁质结合,它对芥菜蚜具有较好抑制作用,可诱使菜管蚜拒食,发育迟缓,并具有一定的致死作用。目前,该基因主要应用在印度芥菜中[30],对于芥菜上的蚜虫抑制效果明显。芥菜蚜并不是危害棉花的主要蚜虫,因此,小麦胚芽凝集素基因在棉花抗蚜虫基因工程中的应用价值有限。

#### 11) 西洋接骨木凝集素(*Sambucus nigra* Agglutinin, SNA-1)

它是一种核糖体钝化蛋白(RIP),属于 II 型核糖体失活蛋白。与前面所述的所有凝集素作用机制都不相同,并不与糖基结合,具体机制尚不清楚。但该蛋白对蚜虫的存活率、繁殖率、寿命及体重均能产生



明显的抑制效应[31]。

### 3.1.2. 蛋白酶抑制剂(Protease inhibitor)基因

蛋白酶抑制剂是一类小分子多肽或蛋白质，可与蛋白酶的活性部位或变构部位相结合抑制蛋白酶的催化活性。根据酶催化反应底物，蛋白酶抑制剂可分为四类：1) 丝氨酸蛋白酶抑制剂；2) 酸性蛋白酶抑制剂；3) 半胱氨酸蛋白酶抑制剂；4) 金属蛋白酶抑制剂[32]。蚜虫主要取食植物韧皮部汁液，而韧皮部汁液中多为游离或结合的氨基酸，因而认为蚜虫对氮元素营养的需求并不依赖于对蛋白质消化，故多数蛋白酶抑制剂对蚜虫作用较小，但是，少数的丝氨酸蛋白酶抑制剂如抑糜酶素(Chy8)却表现出对蚜虫一定的毒害作用[33]。

### 3.1.3. 细胞分裂素

细胞分裂素具有调节细胞分裂的功能，在结构上多为腺嘌呤的氨基上连接着一个异戊烯基侧链。细胞分裂素可调节植物的生长发育，同时产生的次生代谢产物对蚜虫具有抗性。如异戊烯基转移酶(isopentenyltransferase, IPT)是细胞分裂素合成途径中的限速酶。细胞分裂素在调节植物生长时会使得叶片中异戊烯基转移酶增多从而导致 N-异戊烯腺嘌呤的水平相应增加，抑制桃蚜的取食，延迟虫体的发育，减少虫体的体重。从而抑制桃蚜的发育使种群密度降低[34]。

### 3.1.4. 植物防御机制相关基因

在长期的进化过程中，植物与植食性昆虫间的不断斗争，使得两者之间互有克服对方的方法与彼此的优势。植物进化出一条完整的防御机制，因此可从植物本身的防御机制入手，通过改进其现有的防御机制来提高目标植物针对某种害虫的抗性或对于虫害的耐受性。当前已经发现的能增强植物抗性或耐受性的基因如下：

#### 1) 过量表达 GhPSAK1 增强植物对蚜虫的抗性和耐受性

棉花光合作用相关基因(Cotton photosynthesis-related gene, GhPSAK1)属于 PSI-PSAK 家族，编码含 162 个氨基酸的蛋白。PSAK 是光合系统 I 的反应中心亚基，是维持捕光复合体反应中心反应稳定的关键。棉花受到棉蚜危害或轻度伤害后，GHPSAK1 在叶片中的转录水平上升[35]，证明 GHPSAK1 在拟南芥中的过表达可以提高植株对绿桃蚜的耐受性。但是过表达 GHPSAK1 增强植物的抗蚜性和耐受性的详细机制以及过表达 GHPSAK1 对植物其他方面是否存在损害尚不清楚。有待进一步研究。

#### 2) 过量表达 GhTCTP1 增强植物对蚜虫的抗性和耐受性

GhTCTP1 属于 TCTP 亚家族，为编码含有 168 个氨基酸的蛋白，GhTCTP1 具有 95 个氨基酸的保守序列。张建民等[7]发现，GhTCTP1 在棉花的下胚轴、真叶受到伤害后表达水平上调，推测 GhTCTP1 在棉花受到棉蚜侵害后的反应机制中起到一定作用。通过农杆菌介导法，将 GhTCTP1 导入拟南芥中使其过表达。发现桃蚜对转基因拟南芥选择性低于野生型拟南芥。转基因拟南芥叶片上桃蚜的种群密度低于野生型。因此，GhTCTP1 在增强植物对桃蚜的抗性方面具有一定的作用。

#### 3) $\omega$ -3 脂肪酸去饱和酶 7 ( $\omega$ -3 FATTY ACID DESATURASE7, FAD7)

Avila [36]发现抑制植株体内 FAD7 基因的表达量可以增强植物的抗蚜性。FAD7 通过中间物 SA 和 NPR1 来调节植物的防御力，下调 FAD7 基因的表达量会降低马铃薯蚜虫的迁移能力、生存能力和繁殖力，降低感蚜性，而且还可以增强植物的耐旱、耐盐及环境适应能力。

#### 4) Hpa1 基因

Hpa1 (harpin protein 1)是水稻白叶枯病菌(*Xanthomonas oryzae*)产生的一种过敏致病性蛋白，该基因 10~40 (hpa110~40)区域编码的功能性片段作用于水稻可以增强对致病菌和病虫害的抗性。Fu M [37]将该

基因与诱导型启动子结合转入烟草，表达蛋白质作用于植株韧皮部，可以增强韧皮部对蚜虫的抵抗力。

#### 5) ATPP2-A1 基因

ATPP2-A1 基因是棉花韧皮部含量最高的蛋白之一，Zhang 等[38]研究发现：ATPP2-A1 的过表达可以阻止植食性昆虫尤其是绿桃蚜吸食汁液在叶片繁殖，可以通过基因工程调节该基因的表达量来达到抑制蚜虫的目的，但具体作用机制目前并不清楚。

蚜虫和病害诱导的植物防御级联反应是部分交叉重叠的。而且不同的蚜虫激活不同的信号传导途径，如 Mi-1.2 基因对马铃薯蚜虫(*Macrosiphum euphorbiae*)的抗性依赖于水杨酸信号途径，而对蓝绿蚜(*M.truncatula*)的抗性则依赖于茉莉酸响应途径[39]。有趣的是，依赖于水杨酸的植物响应途径被激活的同时，依赖于茉莉酸的植物响应途径则被抑制。这些现象的出现预示着在特定植物与蚜虫相互作用涉及到植物的整体代谢系统和调控机制，涉及到多种信号途径的交叉对话，牵一发而动全身，在提高植物本身单一物质表达量来防治蚜虫方面较为复杂需要进一步深入研究。在抗蚜棉花基因工程研究中不能只依赖于已有的模式。

### 3.2. 特异性抗蚜途径

该类途径只能在特定的植物上或对特定种类的蚜虫具有抗性，当转基因植株或靶蚜虫发生变化时会导致抗虫谱或者抗虫能力的改变。特异性抗蚜途径又分为导入特异性抗蚜基因途径和其他抗蚜途径。

#### 3.2.1. 特异性抗蚜基因

##### 1) Vat (Virus aphid transmission)

抗病毒蚜转基因是源自朝鲜一个甜瓜品种中的基因，通过化学因子抑制蚜虫在植物器官上的繁殖或者通过较高的氧化还原反应电位短时间堵塞虫口末端[40]，转 Vat 基因植株可抑制棉蚜毒素的传播，但对于桃蚜则没有效果[39]。在棉花抗蚜基因工程中的应用价值不大。

##### 2) Nr 基因

Nr 基因源于野生莴苣，它对莴苣衲长管蚜(*Nasonovia ribisnigri*)具有专一抗性，故此得名[41]。目前该基因只应用于莴苣的育种，未见其它转 Nr 基因的植物，原因在于该基因对于其它种类蚜虫没有抗性或者只有较弱的抗性，这也是特异性抗蚜基因不能广泛应用的主要原因[42]。

##### 3) Sd-1 Gene

Sd-1 基因具有抗苹果红尾蚜生物型 I 和 II 功能。Cevik 等[43]绘制的精密遗传物理图谱，为最终克隆该基因提供了依据，由于苹果红尾蚜不在危害棉花的五大蚜虫之列，故该基因在棉花抗蚜基因工程中应用价值有限，但可为棉花抗蚜的理论研究提供参考。

##### 4) Mi-1.2 Gene

Mi-1.2 基因源自番茄，为一显性单基因[44]，其表达产物主要分布在植株的韧皮部，可遏制筛管部的取食性昆虫，如蚜虫、根瘤线虫和粉虱。该基因是研究的比较清楚的一个特异性抗蚜基因，Godshen [45]发现，该基因表达产物虽然不影响以捕食蚜虫为生的小黑花椿象的产卵量，但却会降低未成熟的小黑花椿象的存活率，即转 Mi-1.2 Gene 植物对生态潜在的影响力较大。由于其对非靶昆虫会造成伤害，所以在用于棉花抗蚜基因工程研究时需慎重考虑。

##### 5) 大豆 Rag family

2006 年，Hill 等通过遗传分析，首次发现在 PI 548663 (Dowling)和 PI548657 (Jackson)等大豆材料中，抗蚜能力表现为单基因显性遗传；随后，2 个抗性基因被发现并被定位于 7 号染色体(M 连锁群)，且命名为 Rag 和 Rag1。在其后的几年又发现的其他隐形抗蚜基因被分别命名为 rag2、rag3 和 rag4 [44] [46]。大豆中发现的这些抗性基因均可通过基因工程的方式应用于棉花的育种研究。

### 3.2.2. 其他抗蚜途径

在大家将注意力集中在抗蚜基因的搜寻时, Gong 等[47]从已产生变异的抗氧化乐果或有机磷农药的蚜虫入手, 发现抗药蚜虫体内的 CarE 基因表达量升高。CarE 基因编码羧酸酯酶, 可以降解氧化乐果和有机磷等农药, 通过人工饲喂含 CarE 基因的 dsRNA 的食物后, 蚜虫体内的羧酸酯酶基因表达受到干扰, 对上述两种农药的抗性降低, 通过 RNA 干扰途径, 可达到控制目标蚜虫的目的, 当属特异性抗蚜途径。此外, Zhang 等[48]也在谷类中的蚜虫抗性方面验证了此种方法的可行性。这种抗蚜虫新途径的最大好处就是无需费力寻找新的抗蚜基因, 只需要分析抗药蚜虫的体内基因便可以找到有效的控制方法, 为大田蚜虫防治提供新思路。但此种方法是否会作用于具有与蚜虫相似基因序列的非标靶昆虫还有待观察, 而且在大田中如何能更便捷地让 ds-RNA 导入蚜虫体内仍有待探索。

## 4. 抗蚜基因在棉花抗蚜基因工程育种中的应用分析

棉花抗蚜基因工程作为植物抗蚜转基因工程的一部分, 重点在于物种的特异性。因此, 无视植物种属特异性的广谱性抗蚜途径以及 RNA 干扰途径对棉花抗蚜基因工程的研究具有较大参考价值。当前, 已经应用于棉花抗蚜基因工程研究的有雪花莲凝集素(GNA)、苜蓿凝集素(ACA)和半夏凝集素(PTA)。J. Wu [18]已将 ACA 基因导入棉花中表达, 转基因棉花的最高抗蚜率可达 64.5%, 该转基因棉花现已经进入田间试验阶段, 表现出一定的实用前景。菜豆凝集素(PHA)由于其较强的毒性而无法广泛应用[5], 但棉花的非食用性使得菜豆凝集素基因仍有应用的可能。其他凝集素在棉花抗蚜基因工程的研究暂无报道, 抗蚜效果有待验证。细胞分裂素和参与植物防御机制的基因的表达对于植物对蚜虫的抗性有一定作用。但植物体内每种防御机制都涉及到多种信号途径的交叉响应, 单独增加一种物质的表达量对植物整体的影响需要进一步研究, 尚未应用到棉花抗蚜基因工程中, 棉花抗蚜基因工程的研究重心仍集中在导入外源凝集素基因获得抗蚜植株。

## 5. 展望

培育转基因抗蚜棉花是今后人们重点关注的研究方向之一, 转基因抗蚜棉花不仅能减少农药的使用和残留, 更可以提高棉花产量和品质, 减少益虫死亡和维持生态平衡[4]。除毒杀蚜虫外, 增强植物对蚜虫取食的耐受性也是未来抗蚜虫基因工程的研究方向之一, 这是因为蚜虫的高繁殖率容易产生抗性的变异品种, 而增强对蚜虫的耐受性可以减缓抗性蚜的产生, 在生产上具有一定的应用价值。总结上述研究进展, 有以下问题需要引起人们的关注:

### 5.1. 抗蚜的持久性

植物抗蚜性具有特异性, 不同的抗蚜基因的抗性机制不同。但正是由于这种特异性的抗性和蚜虫高速的繁殖, 使得相应的抗性蚜虫迅速出现。如抗蚜基因 Nr 在欧洲使用已达 10 年左右, 抗蚜基因已被整合到了 30 个甜瓜栽培品种中, 而其对莠苣蚜(*Pemphigus bursarius*)的抗性也正在丧失, 2007 年, 首次报道该基因对特定蚜虫的抗性失效[49]。并且这种情形正在迅速地增多, 目前提出了三种策略有助于减缓相应抗蚜基因抗蚜能力的丧失, 分别是: 1) 在使用当前抗蚜基因的同时, 继续研究和鉴定新的抗性基因; 2) 为了减缓抗性蚜虫的产生, 应同时使用多个抗性基因, 扩大抗虫谱; 3) 应积极研究引入不易产生抗性的由多个数量位点和隐性位点控制的抗性基因[50]。

### 5.2. 转单个抗蚜基因的抗蚜效果不理想

迄今为止, 棉花抗蚜基因工程的研究均集中在导入单个抗蚜基因, 国内外已先后报道了多种具有抗蚜功能的转基因植物, 而大多数抗蚜效果并不理想。抗蚜效果较差的原因可归纳为三点: 1) 转单个抗蚜

基因对靶标蚜虫的致死作用有限。蚜虫消化道内存在着其它营养补偿机制,在靶标消化途径受到抑制外,它可借助其它的代谢途径顽强存活下来。应对这种现象,可考虑同时导入多个外源抗蚜基因。多抗蚜基因的同时导入,不仅可以扩大杀虫谱、增强杀虫能力,而且可同时减缓蚜虫抗性的产生;2) 外源基因表达量较低。毫无疑问,外源基因的表达量与植株的抗蚜性成正比,所以提高抗蚜外源基因表达量是一条增加植株抗性的重要途径。一般可通过外源基因密码子优化,使用强植物启动子,利用基质结合区、定位信号等方式提高目的基因的表达量[51];3) 与其他抗蚜途径相互补充。例如,通过调节植物体内自身的防御途径,增强植物对蚜虫的耐受性。对蚜虫的非致死作用可以减缓抗性蚜虫的产生,进而延长了相应外源抗蚜基因的使用期限寿命。

### 5.3. 抗蚜应采用综合策略

尽管目前已发现多种类型的抗蚜基因并显现出一定的生产应用价值,但对于棉田蚜虫的防治,应从整个生态系统的角度出发,尽可能通过微调来减轻蚜虫的危害,不能希望对蚜虫百分百得致死率,而是将蚜虫得危害降低在较低水平即可。转 Bt 棉花就是一个极好的例子,在防治棉铃虫的同时,忽略了棉铃虫对整个生态系统平衡的作用,结果导致次要害虫上升为主要害虫。

总的来说,当前基因工程培育棉花抗蚜品种重点、难点仍在于提升抗蚜基因的表达量和寻找高效抗蚜基因,棉花抗蚜品种的培育仍然需要深入的探索研究。

## 致 谢

感谢刘德虎老师给予的指导和帮助。感谢我的妻子张静静给予的鼓励和支持。

## 基金项目

本研究课题受国家转基因生物新品种培育重大科技专项资助,课题编号:2015ZX08005-004。

## 参考文献 (References)

- [1] Dubey, N.K., Goel, R., Ranjan, A., *et al.* (2013) Comparative Transcriptome Analysis of *Gossypium hirsutum* L. in Response to Sap Sucking Insects: Aphid and Whitefly. *BMC Genomics*, **14**, 241. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-241>
- [2] 杨忠娜,唐继军,喻晓玲. 新疆棉花产业对国民经济的影响及对策研究[J]. 农业现代化研究, 2013(3): 298-302.
- [3] Sujii, E.R., Togni, P.H., De, A.R.P., *et al.* (2013) Field Evaluation of Bt Cotton Crop Impact on Nontarget Pests: Cotton Aphid and Boll Weevil. *Neotropical Entomology*, **42**, 102-111. <https://doi.org/10.1007/s13744-012-0094-0>
- [4] Smith, C.M. and Chuang, W.P. (2014) Plant Resistance to Aphid Feeding: Behavioral, Physiological, Genetic and Molecular Cues Regulate Aphid Host Selection and Feeding. *Pest Manage Science*, **70**, 528-540. <https://doi.org/10.1002/ps.3689>
- [5] Yu, X., Wang, G., Huang, S., *et al.* (2014) Engineering Plants for Aphid Resistance: Current Status and Future Perspectives. *Theoretical and Applied Genetics*, **127**, 2065-2083. <https://doi.org/10.1007/s00122-014-2371-2>
- [6] 马亚玲,刘长仲. 蚜虫的生态学特性及其防治[J]. 草业科学, 2014(3): 519-525.
- [7] 张建民. 棉花抗蚜基因的筛选及功能研究[D]: [博士学位论文]. 武汉: 华中师范大学, 2014.
- [8] 雒珺瑜,崔金杰,吴冬梅. 转半夏凝集素基因抗蚜棉花材料对棉蚜的控制效果[J]. 中国棉花, 2010(9): 12-14.
- [9] Bhatia, V., Bhattacharya, R., Uniyal, P.L., *et al.* (2012) Host Generated siRNAs Attenuate Expression of Serine Protease Gene in *Myzus persicae*. *PLoS ONE*, **7**, e46343. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0046343>
- [10] Chougule, N.P. and Bonning, B.C. (2012) Toxins for Transgenic Resistance to Hemipteran Pests. *Toxins*, **4**, 405-429. <https://doi.org/10.3390/toxins4060405>
- [11] Hagenbucher, S., Wackers, F.L. and Romeis, J. (2014) Aphid Honeydew Quality as a Food Source for Parasitoids Is Maintained in Bt Cotton. *PLoS ONE*, **9**, e107806. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0107806>
- [12] 高莹,瞿礼嘉,陈章良. 植物凝集素的分子生物学研究[J]. 生物技术通报, 2000(5): 18-22.



- [13] 赵寅生. 凝集素生物学功能及应用(综述)[J]. 安徽农业大学学报, 2001, 28(4): 445-447.
- [14] Stoger, E., *et al.* (1999) Expression of the Insecticidal Lectin from Snowdrop (*Galanthus nivalis agglutinin*: GNA) in Transgenic Wheat Plants: Effect on Predation by the Grain Aphid *Sitobion avenae*. *Molecular Breeding*, **5**, 65-73. <https://doi.org/10.1023/A:1009616413886>
- [15] Yang, S., Fitches, E., Pyati, P., *et al.* (2015) Effect of Insecticidal Fusion Proteins Containing Spider Toxins Targeting Sodium and Calcium Ion Channels on Pyrethroid-Resistant Strains of Peach-Potato Aphid (*Myzus persicae*). *Pest Management Science*, **71**, 951-956. <https://doi.org/10.1002/ps.3872>
- [16] 王志斌, 郭三堆. 表达 cryIA/gna 双价抗虫基因烟草兼抗棉铃虫和蚜虫[J]. 科学通报, 1999(19): 2068-2075.
- [17] Guo, H.N.J.Y.T.Z. (2004) The Effect of Transgenic Tobacco Plants Expressing Agglutinin Gene from *Amaranthus caudatus* on the Population Development of *Myzus persicae*. *Acta Botanica Sinica*, **46**, 1100-1105.
- [18] Wu, J., Luo, X., *et al.* (2006) Transgenic Cotton, Expressing *Amaranthus caudatus* Agglutinin, Confers Enhanced Resistance to Aphids. *Plant Breeding*, **125**, 390-394. <https://doi.org/10.1111/j.1439-0523.2006.01247.x>
- [19] Jin, S., Zhang, X. and Daniell, H. (2012) *Pinellia ternata* Agglutinin Expression in Chloroplasts Confers Broad Spectrum Resistance against Aphid, Whitefly, Lepidopteran Insects, Bacterial and Viral Pathogens. *Plant Biotechnol Journal*, **10**, 313-327. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2011.00663.x>
- [20] 肖松华, 刘剑光, 吴巧娟, 等. 转外源凝集素棉花对棉蚜的抗性鉴定[J]. 棉花学报, 2005, 17(2): 72-78.
- [21] Dutta, I., Saha, P., Majumder, P., *et al.* (2005) The Efficacy of a Novel Insecticidal Protein, *Allium sativum* Leaf Lectin (ASAL), against Homopteran Insects Monitored in Transgenic Tobacco. *Plant Biotechnol Journal*, **3**, 601-611. <https://doi.org/10.1111/j.1467-7652.2005.00151.x>
- [22] Chakraborti, D., Sarkar, A., Mondal, H.A., *et al.* (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*. *Transgenic Research*, **18**, 529-544. <https://doi.org/10.1007/s11248-009-9242-7>
- [23] Sadeghi, A., Broeders, S., De Greve, H., *et al.* (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 Manage Science*, **63**, 1215-1223. <https://doi.org/10.1002/ps.1455>
- [24] Zhou, C., Qian, Z., Ji, Q., *et al.* (2011) Expression of the Zga Agglutinin Gene in Tobacco Can Enhance Its Anti-Pest Ability for Peach-Potato Aphid (*Myzus persicae*). *Acta Physiologiae Plantarum*, **33**, 2003-2010. <https://doi.org/10.1007/s11738-011-0715-y>
- [25] Chang, T., Chen, L., Chen, S., *et al.* (2003) Transformation of Tobacco with Genes Encoding *Helianthus tuberosus* Agglutinin (HTA) Confers Resistance to Peach-Potato Aphid (*Myzus persicae*). *Transgenic Research*, **12**, 607-614. <https://doi.org/10.1023/A:1025810213869>
- [26] Ohizumi, Y., Gaidamashvili, M., Ohwada, S., *et al.* (2009) Mannose-Binding Lectin from Yam (*Dioscorea batatas*) Tubers with Insecticidal Properties against *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera: Noctuidae). *Journal Agricultural Food Chemistry*, **57**, 2896-2902. <https://doi.org/10.1021/jf8040269>
- [27] Kato, T., Hori, M., Ogawa, T., *et al.* (2010) Expression of Gene for *Dioscorea batatas* Tuber Lectin 1 in Transgenic Tobacco Confers Resistance to Green-Peach Aphid. *Plant Biotechnology*, **27**, 141-145. <https://doi.org/10.5511/plantbiotechnology.27.141>
- [28] Sauvion, N., Nardon, C., Febvay, G., *et al.* (2004) Binding of the Insecticidal Lectin Concanavalin A in Pea Aphid, *Acyrtosiphon pisum* (Harris) and Induced Effects on the Structure of Midgut Epithelial Cells. *Journal of Insect Physiology*, **50**, 1137-1150.
- [29] Gatehouse, A.R., Davison, G., Stewart, J., *et al.* (1999) Concanavalin A Inhibits Development of Tomato Moth (*Lacanobia oleracea*) and Peach-Potato Aphid (*Myzus persicae*) When Expressed in Transgenic Potato Plants. *Molecular Breeding*, **5**, 153-165. <https://doi.org/10.1023/A:1009681705481>
- [30] Kanrar, S., Venkateswari, J., Kirti, P., *et al.* (2002) Transgenic Indian Mustard (*Brassica juncea*) with Resistance to the Mustard Aphid (*Lipaphis erysimi* Kalt.). *Plant Cell Reports*, **20**, 976-981. <https://doi.org/10.1007/s00299-001-0422-z>
- [31] Shahidi-Noghabi, S., Van Damme, E.M. and Smagghe, G. (2009) Expression of *Sambucus nigra* Agglutinin (SNA-I) from Elderberry Bark in Transgenic Tobacco Plants Results in Enhanced Resistance to Different Insect Species. *Transgenic Research*, **18**, 249-259. <https://doi.org/10.1007/s11248-008-9215-2>
- [32] 曲晓华, 浦冠勤. 蛋白酶抑制剂的研究与应用[J]. 桑蚕茶叶通讯, 2003, 1: 19-22.
- [33] Ceci, L.R., Volpicella, M., *et al.* (2003) Selection by Phage Display of a Variant Mustard Trypsin Inhibitor Toxic against Aphids. *The Plant Journal*, **33**, 557-566. <https://doi.org/10.1046/j.1365-313X.2003.01645.x>
- [34] Smigock, A., Neal, J.W., Canna, M.I., *et al.* (1993) Cytokinin-Mediated Insect Resistance in Nicotiana Plants Transformed with the *Ipt* Gene. *Plant Molecular Biology*, **23**, 325-335. <https://doi.org/10.1007/BF00029008>

- [35] Zhang, J.M., Huang, G.Q., Li, Y., *et al.* (2014) Cotton Photosynthesis-Related PSAK1 Protein Is Involved in Plant Response to Aphid Attack. *Molecular Biology Reports*, **41**, 3191-3200. <https://doi.org/10.1007/s11033-014-3179-5>
- [36] Avila, C.A., Arevalo-Soliz, L.M., Jia, L., *et al.* (2012) Loss of Function of Fatty Acid Desaturase7 in Tomato Enhances Basal Aphid Resistance in a Salicylate-Dependent Manner. *Plant Physiology*, **158**, 2028-2041. <https://doi.org/10.1104/pp.111.191262>
- [37] Fu, M., Xu, M., Zhou, T., *et al.* (2014) Transgenic Expression of a Functional Fragment of Harpin Protein Hpa1 in Wheat Induces the Phloem-Based Defence against English Grain Aphid. *Journal of Experimental Botany*, **65**, 1439-1453. <https://doi.org/10.1093/jxb/ert488>
- [38] Zhang, C., Shi, H., Chen, L., *et al.* (2011) Harpin-Induced Expression and Transgenic Over Expression of the Phloem Protein Gene AtPP2-A1 in Arabidopsis Repress Phloem Feeding of the Green Peach Aphid *Myzus persicae*. *BMC Plant Biology*, **11**, 11. <https://doi.org/10.1186/1471-2229-11-11>
- [39] Klingler, J., Creasy, R., Gao, L., *et al.* (2005) Aphid Resistance in *Medicago truncatula* Involves Antixenosis and Phloem-Specific, Inducible Antibiosis, and Maps to a Single Locus Flanked by NBS-LRR Resistance Gene Analogs. *Plant Physiology*, **137**, 1445-1455. <https://doi.org/10.1104/pp.104.051243>
- [40] Chen, J., Martin, B., Rahbé, Y., *et al.* (1997) Early Intracellular Punctures by Two Aphid Species on Near-Isogenic Melon Lines with and without the Virus Aphid Transmission (Vat) Resistance Gene. *European Journal of Plant Pathology*, **103**, 521-536. <https://doi.org/10.1023/A:1008610812437>
- [41] Cid, M., ávila, A., García, A., *et al.* (2012) New Sources of Resistance to Lettuce Aphids in *Lactuca* Spp. *Arthropod-Plant Interactions*, **6**, 655-669. <https://doi.org/10.1007/s11829-012-9213-4>
- [42] Ten Broeke, C.M., Dicke, M. and Van Loon, J.A. (2013) Resistance to a New Biotype of the Lettuce Aphid *Nasonovia ribisnigri* in *Lactuca virosa* Accession IVT280. *Euphytica*, **193**, 265-275. <https://doi.org/10.1007/s10681-013-0941-z>
- [43] Cevik, V. and King, G. (2002) High-Resolution Genetic Analysis of the Sd-1 Aphid Resistance Locus in *Malus* spp. *Theoretical and Applied Genetics*, **105**, 346-354.
- [44] Pallipparambil, G.R., Saylor, R.J., Shapiro, J.P., *et al.* (2015) Mi-1.2, an R Gene for Aphid Resistance in Tomato, Has Direct Negative Effects on a Zoophytophagous Biocontrol Agent, *Orius insidiosus*. *Journal of Experimental Botany*, **66**, 549-557. <https://doi.org/10.1093/jxb/eru361>
- [45] Zhang, G., Gu, C. and Wang, D. (2010) A Novel Locus for Soybean Aphid Resistance. *Theoretical and Applied Genetics*, **120**, 1183-1191. <https://doi.org/10.1007/s00122-009-1245-5>
- [46] 肖亮, 武天龙. 大豆抗蚜虫研究进展[J]. 中国农学通报, 2013, 29(36): 326-333.
- [47] Gong, Y.H., Yu, X.R., Shang, Q.L., *et al.* (2014) Oral Delivery Mediated RNA Interference of a Carboxylesterase Gene Results in Reduced Resistance to Organophosphorus Insecticides in the Cotton Aphid, *Aphis gossypii* Glover. *PLoS ONE*, **9**, e102823. <https://doi.org/10.1371/journal.pone.0102823>
- [48] Zhang, M., Zhou, Y., Wang, H., *et al.* (2013) Identifying Potential RNAi Targets in Grain Aphid (*Sitobion avenae* F.) Based on Transcriptome Profiling of Its Alimentary Canal after Feeding on Wheat Plants. *BMC Genomics*, **14**, 560. <https://doi.org/10.1186/1471-2164-14-560>
- [49] Cindy, J.M., *et al.* (2013) Resistance to a New Biotype of the Lettuce Aphid *Nasonovia ribisnigri* in *Lactuca virosa* Accession IVT280. *Euphytica*, **193**, 265-275. <https://doi.org/10.1007/s10681-013-0941-z>
- [50] Dogimont, *et al.* (2010) Host Plant Resistance to Aphids in Cultivated Crops: Genetic and Molecular Bases, and Interactions with Aphid Populations. *Comptes Rendus Biologies*, **333**, 566-573.
- [51] 郑光宇. 基因工程防止蚜虫研究进展[J]. 喀什师范学院学报, 2006, 27(3): 54-60.

**期刊投稿者将享受如下服务：**

1. 投稿前咨询服务 (QQ、微信、邮箱皆可)
2. 为您匹配最合适的期刊
3. 24 小时以内解答您的所有疑问
4. 友好的在线投稿界面
5. 专业的同行评审
6. 知网检索
7. 全网络覆盖式推广您的研究

投稿请点击：<http://www.hanspub.org/Submission.aspx>

期刊邮箱：[br@hanspub.org](mailto:br@hanspub.org)