

文章编号 :1003-8701(2003)05-0030-04

# 分子生物学在昆虫系统学研究中的应用

李茂海<sup>1,2</sup>, 丛 斌<sup>1</sup>, 李建平<sup>2</sup>, 杨光冬<sup>3</sup>, 杨春英<sup>3</sup>

(1. 沈阳农业大学, 辽宁 沈阳 110161 ;2. 吉林省农科院植保所, 吉林 公主岭 136100 ;  
3. 吉林市农业科学院, 吉林 132101)

**摘 要** :随着分子生物学理论与研究的发展,昆虫系统学科的研究也逐渐深入到分子水平。本文描述了分子生物学在昆虫系统学中的应用及昆虫分子生物学在农业生产中的研究现状。

**关键词** :分子生物学 ;昆虫系统学 ;生物技术

**中图分类号** :Q7 S186

**文献标识码** :A

20 世纪 50 年代 DNA 双螺旋结构的确立和 X-射线蛋白质空间结构的测定,奠定了现代分子生物学的基础,从而给生命科学研究带来了一场革命。以研究基因结构和功能为主的分子生物学和以 DNA 重组技术为核心的生物技术研究,在 20 世纪末伴随克隆羊的诞生,预示着分子生物学和生物技术,必将成为 21 世纪的主要发展方向,是具有重大发展前景的新兴学科和产业。

随着分子生物学理论和研究技术的不断发展,以及植物保护实践的需要,昆虫学各分支学科的研究也逐渐深入到分子水平。昆虫分子生物学应用于昆虫系统学研究,开始于 20 世纪 80 年代末期,近些年得到迅速发展,通过研究昆虫核酸分子结构来探求各类群之间的亲缘关系和进化关系,从生命本质上寻找各类群之间的内在联系。昆虫分子生物学研究的内容和目标,可以分为基础和应用基础两个方面。基础研究揭示了昆虫生命活动的本质,并以昆虫为模式探索生物学的普通规律;应用基础研究则侧重于应用生物技术和方法来解决应用昆虫学的各种疑难问题,通过各种生物技术手段来研究昆虫的利用和害虫防治的新途径和新策略。

## 1 昆虫细胞培养和重组病毒研究

昆虫细胞培养研究主要是用于昆虫基础生理生化研究,并且是作为生物反应器、表达基因产物的重要研究工具。国际上从 1930 年开始进行昆虫细胞培养研究以来,成功地建立了 200 个昆虫细胞株。20 世纪 50 年代,我国首次成功进行了家蚕细胞单层培养。

### 1.1 昆虫细胞培养

20 世纪 80 年代以来,国内已经报道的昆虫细胞培养系有昆虫血细胞(沈立美, 1980)、茶尺蠖蛹卵巢细胞系、小菜蛾细胞系(陈曲侯, 1986)、油桐尺蠖血细胞系(谢天恩,

收稿日期 :2003-02-19

作者简介 :李茂海(1972-),男,吉林省农业科学院植物保护研究所,助理研究员,在职硕士,从事昆虫学与传粉昆虫研究。

1987)、油桐尺蠖卵巢细胞系(邹帅洲,1989)及粘虫卵巢细胞系(刘淑珊,1997)等。

医学昆虫细胞培养研究领域也取得显著的成绩。其中有关蚊虫细胞系的有:嗜人按蚊、中华蚊、埃及伊蚊、白纹伊蚊和三带喙库蚊 CT188 等细胞系。其中,我国在 80 年代建立的白纹伊蚊细胞系填补了国内空白,对推进我国蚊虫细胞遗传和流行病学研究起到了重大作用。

## 1.2 重组病毒

昆虫细胞-杆状病毒表达系统(BEUS)是当今基因工程四大表达系统之一,可以产生具有医用价值的重组蛋白,如疫苗和各种生长因子等。其研究具有广泛的应用前景,目前国际上利用此系统表达的外源蛋白有 500 多种,其中一些具有应用价值的重组杆状病毒杀虫剂的开发研究,已成功地实现重组,如保幼激素酯酶羽化激素、Bt- $\delta$  内毒素和利尿激素等。

# 2 昆虫生物技术的应用

## 2.1 重组微生物

随着环境保护意识的不断提高,微生物农药对环境和生态安全的发展一直受到国内外高度重视,传统选育方法得到的自然菌株防治对象比较窄、效果稳定性差,生物技术为这些菌株的遗传提供了有效的手段。新一代杀虫重组微生物的研究已取得显著的进展,如采用交换技术和质粒修饰开发的新型 Bt 杀虫剂 Foil 和 Cutlsss,利用基因重组技术开发的新型 Bt 杀虫剂 Raven OF 和 Crymux WDG;利用基因转移与生物微囊技术开发杀虫荧光假单胞菌菌剂 MVP、M-Trak 和 M-Peril 等。

## 2.2 转基因昆虫

转基因昆虫是经济昆虫学中具有较大应用潜力的,但转基因昆虫技术和管理策略上的难度比转基因植物和其它转基因动物大。目前仅有一些初级转基因昆虫出现,真正用于实际生产的尚未成功。如除转基因果蝇已成为研究基础生物学和分子遗传学的重要工具外,目前只有家蚕的转基因研究获得了带有天蚕丝质特性的转基因家蚕。转基因昆虫涉及到 3 个关键问题:①重组 DNA 的构建,即要选择合适的目的基因、标记基因、启动子和适用于不同种昆虫的转座子;②外源基因如何导入昆虫体内达到种系转化方法研究;③转基因昆虫的释放、自然选择和种群竞争的问题。有关转基因昆虫的研究国内涉及的比较少。

## 2.3 转基因抗虫作物

使用基因工程手段培育抗虫作物是农业发展的一个方向。将抗虫基因引入到农作物细胞中使其在寄主细胞中能够稳定遗传表达,从而形成抗虫品种。1986 年转基因抗虫植物开始进入田间试验。抗虫玉米、抗虫棉花等相继商品化。我国是继美国之后第二个拥有转基因抗虫棉花的国家。目前我国已批准进入大田的转基因抗虫作物有 5 种:抗虫水稻、抗虫棉花、抗虫玉米、抗虫烟草和抗虫杨树。

随着转基因植物研究的不断发展,生物安全性问题已成为阻碍转基因植物大面积推广的主要因素。目前抗虫作物主要问题包括:害虫对抗虫作物产生抗性、保护生物多样性和生态平衡的问题。国际上已讨论用 4 种策略来延迟昆虫对转基因作物的抗性,重要策略之一为双基因转移。我国已成功地把作用机理和作用位点不同的两种抗虫基因 Bt 毒素蛋白和豇豆胰蛋白酶抑制剂转入到烟草内,得到了转双基因抗虫烟草。

### 3 RAPD、PCR 等技术在昆虫学中的应用

分子生物学技术和生化技术的不断发展和完善,为昆虫分类系统学提供了许多新方法。如 DNA 探针、聚合酶链式反应(PCR)、随机引物扩增多态 DNA(RAPD)、限制性酶切片段、mRNA 差异显示技术和基因测序、DNA 杂交、DNA 限制性内切酶图谱等技术已广泛应用于昆虫近缘种和地理种群的鉴别,因而这些技术已广泛用于昆虫分类学、生态学和农业昆虫学等昆虫分支学科。

在昆虫分类和系统演化研究中,大量使用了分子生物学技术和生化技术,应用较多的生物技术如同工酶电泳、核型分析和 DNA 杂交。由于昆虫和其它动物的差异,使有些技术不能被广泛使用,其优点难以施展,在昆虫分类和系统演化研究中发挥的作用不是很大。

RAPD 技术是在 PCR 基础上采用单个人工合成的随机引物(一般为 10 bp)对基因组 DNA 进行扩增,所用引物 G+C 的含量在 50%~70%之间,由于快速、简便,整个实验能在 24 h 内完成,而且只需具备分子生物学实验的基本条件就可进行,无需昂贵的试剂等优点,很适于昆虫分类和系统演化研究的特点,在昆虫分类中已得到广泛应用。

在昆虫中,最早有 Black IV 等将此方法应用于 4 种蚜虫的鉴定比较,根据电泳图谱能明确区别 4 个种,同时还检测 3 种不同生物型,同一生物型内不同个体,以及同一种群内不同生物型之间扩增产物的多态性,此外还用 RAPD 技术检测和鉴定了蚜虫体内两种寄生蜂(Black 1990)。Kmbhampti 等采用 RAPD 技术对蚜虫的种和种群进行鉴定和区分,并对 RAPD 实验技术统计分析及应用等进行了探讨,其后 RAPD 在按蚊(Ballinger-Craltree, 1992; Wilkerson, 1993)、寄生蜂(Edwards, 1993)、舞毒蛾(Garnei, 1996)、粉虱(Gawel, 1993)和果蝇(陈燕茹, 1997)等昆虫中均有应用,在这些研究中 RAPD 大多用于近缘种、复合种和种内生物型的识别和鉴定,以及对地理种群的遗传进行研究。

### 4 昆虫分子生物学在农业中的应用

#### 4.1 杀虫剂抗性的分子基础

昆虫对杀虫剂的中毒,在药物动力学上包括 3 种不同水平上的作用:穿透表皮组织,在体内组织中的分布、贮存和代谢,以及最终靶部位的作用。因此,现已公认的抗性机理包括:对杀虫剂暴露的减少、对杀虫剂解毒代谢的增强,及靶部位敏感性的降低。对杀虫剂的暴露包括行为的改变以避免与杀虫剂的接触,以及表皮穿透的减少。

在许多情况下,抗性的产生是由于昆虫对杀虫剂的代谢能力提高。代谢杀虫剂的解毒酶一般使有毒的外来化合物经氧化、还原或水解后,其产物的水溶性增强,使它们更容易从昆虫体内排出。解毒酶包括 P450 细胞色素氧化酶系、水解酶系(酯酶)及谷胱甘肽 S-转移酶。

杀虫剂致死效应的靶部位是某个关键性的蛋白分子。有机磷和氨基甲酸酯抑制乙酰胆碱酯酶 AchE、拟除虫菊酯和 DDT 抑制 Na<sup>+</sup>通道、环二烯杀虫剂抑制 GABA 受体。这些靶分子发生改变而对杀虫剂不敏感,因而引起抗性。对敏感性和抗性昆虫中靶基因分子克隆和鉴定,可以揭示靶蛋白改变而引起的确切的分子基础,并提供杀虫剂与靶部位在分子水平相互作用的详细资料。

#### 4.2 基因工程技术与害虫防治

第二十届国际昆虫学大会的论文报告表明,昆虫分子生物学与基因工程将是昆虫

学发展的一个主要方向。早在 1973 年,联合国粮农组织(FAO)就建议在农业害虫防治中推广应用对昆虫专性的杆状病毒杀虫剂。杆状病毒杀虫剂的基因工程,就是通过病毒基因重组以达到改良病毒杀虫效能的目的。目前,被认为较有希望的途径是在病毒基因中插入对昆虫专性的酶、激素或毒素的编码基因。同时,通过异源病毒重组或修饰病毒本身的基因,也可能改变病毒的杀虫谱或加速杀虫效果。

今后植物抗性基因工程、诱导滞育基因的表达、细胞生物学、生理学、生物化学、神经学和免疫学等领域会有更多的新发现。农业害虫防治的最新发现是用基因工程技术对 Bt 和一些病毒的改造。有些时候选基因可望通过重组构建杆状病毒应用于害虫防治,如毒液毒性基因(蝎子、螨、蜘蛛和具麻痹毒液的黄蜂)和 BT 毒性基因。另一个方向是用遗传工程技术培育能驱避和杀虫的植物,即转基因植物,它将对马铃薯、玉米、棉花等作物的害虫防治策略产生一定的影响。这方面的工作下一步发展是改造天敌的品系,把抗药基因转到天敌体内,提高天敌的抗药性。一些新产品如细菌杀虫剂、病毒、原生动物及病原线虫。昆虫病原真菌杀虫剂、天然杀虫剂(抗菌素、发酵物)、植物杀虫剂、昆虫生长调节剂和保幼激素类似物、化学信息物质、遗传工程品(如基因工程改造的杆状病毒、细菌和天敌、产生毒素的转基因植物)有希望代替传统的化学杀虫剂。

## 5 结 语

展望未来,为了适应农业持续发展和害虫持续控制的要求,分子生物学为昆虫学基础与应用研究(农业生产)奠定坚实的基础。随着昆虫分子生物学基础理论研究的不断深入、抗虫基因资源的不断发掘利用、植物与昆虫作用机理研究的继续深入以及生物技术本身的不断发展,生态学、系统科学、信息技术和基因工程技术在昆虫学中的应用,将是未来农业害虫防治及资源昆虫利用技术的生长点。本世纪抗虫植物和转基因昆虫将会陆续走向产业化,通过分子策略阻止害虫产生抗药性;通过害虫本身基因的研究找到消灭害虫的新方法;昆虫基因工程技术的开发,将开辟新的害虫防治途径。

参考文献:

- [1] 龚 鹏,等. 分子遗传标记技术及其在昆虫科学中的应用[J]. 昆虫知识, 2002, 38 (2): 86-91.
- [2] 庞 虹. 瓢虫科分类研究的现状[J]. 昆虫知识, 2002, 39 (1): 17-22.
- [3] 王宪辉,等. 昆虫分子生物学的一些研究进展[J]. 山东农业大学学报, 自然科学版, 2001, 32 (1): 95-98.
- [4] 成新跃,等. 分子生物学技术在昆虫系统学研究中的应用[J]. 动物分类学报, 2000, 25 (2): 121-129.
- [5] 龚 和. 我国分子生物学研究的回顾和展望[J]. 昆虫知识, 2000, 37 (1): 32-36.
- [6] 王桂荣. RAPD 技术及其在昆虫学研究中的应用[J]. 昆虫知识, 1999, 36 (3): 184-188.
- [7] 张润杰,古德祥. 对农业害虫防治策略与技术的展望[J]. 昆虫天敌, 1999, 21 (4): 179-184.
- [8] 王 瑛,等. 基因探针及其在昆虫学上的应用[J]. 生物工程进展, 1996, 16 (3): 28-32.
- [9] 翟启慧. 昆虫分子生物学的一些进展:生物钟的基因[J]. 昆虫学报, 1996, 39 (3): 321-327.
- [10] 翟启慧. 昆虫分子生物学的一些进展:神经递质和离子通道[J]. 昆虫学报, 1995, 38 (3): 370-377.
- [11] 翟启慧. 昆虫分子生物学的一些进展:杀虫剂抗性的分子基础[J]. 昆虫学报, 1995, 38 (4): 493-499.
- [12] 翟启慧. 昆虫分子生物学的一些进展:胚胎发育,丝蛋白与可诱导的抗菌蛋白[J]. 昆虫学报, 1993, 36 (2): 231-241.
- [13] 鲁 亮,等. RAPD 技术的特点及其在昆虫分类中的应用[J]. 昆虫学报, 1995, 38 (1): 117-121.