

LECTIN THỰC VẬT VÀ TIỀM NĂNG ỨNG DỤNG TRONG KIỂM SOÁT CÔN TRÙNG GÂY HẠI

Lê Thị Ngọc Quỳnh¹, Chu Đức Hà¹, Nguyễn Văn Kết², Lê Tiến Dũng^{1*}

¹Phòng Thí nghiệm Quốc tế Chọn giống Phân tử Sắn, Phòng Thí nghiệm Trồng cấy Công nghệ và Tế bào thực vật, Viện Di truyền Nông nghiệp, *research@letindung.info

²Trường Đại học Đà Lạt

TÓM TẮT: Côn trùng gây hại được biết đến như là yếu tố sinh học bất lợi gây ảnh hưởng trực tiếp đến sinh trưởng và phát triển của cây trồng nông nghiệp. Thực vật tự bảo vệ bằng cách tổng hợp ra protein hay peptide đối kháng, trong đó lectin được xem như một nhóm protein gây độc hiệu quả đối với côn trùng. Hầu hết các lectin chỉ ảnh hưởng ở mức độ vừa phải đến sự sinh trưởng và phát triển nhưng một số lại có khả năng gây tử vong cao cho côn trùng. Trong một thập kỷ gần đây, rất nhiều nghiên cứu đã được công bố liên quan đến khả năng kháng côn trùng hiệu quả của một số loại lectin trên cây trồng, đặc biệt là chúng có thể được cảm ứng sinh tổng hợp trong các điều kiện môi trường bất lợi. Bài viết này tóm tắt và thảo luận các thành tựu nghiên cứu về tiềm năng ứng dụng của lectin trong quản lý dịch hại trên đồng ruộng. Đây được coi là hướng nghiên cứu tiềm năng cho ngành trồng trọt, nhất là trong bối cảnh các điều kiện bất lợi gây ra bởi biến đổi khí hậu ngày càng ảnh hưởng nghiêm trọng đến tình hình sản xuất cây nông nghiệp như hiện nay.

Từ khóa: Lectin, ngưng kết tế bào, protein kháng côn trùng, quản lý côn trùng gây hại.

MỞ ĐẦU

Để thích nghi với những mối đe dọa từ côn trùng gây hại, thực vật trải qua quá trình tiến hóa đã có rất nhiều phương thức để đáp ứng. Cơ chế kháng côn trùng ở thực vật được phát triển phong phú về mặt vật lý thông qua những thay đổi tích cực về hình thái, cấu trúc, hoặc theo hướng hóa học bằng cách tổng hợp ra một vài hợp chất hóa học phức tạp [21, 47]. Nhóm hợp chất này rất đa dạng, từ các sản phẩm thứ cấp có khối lượng phân tử nhỏ đến những hợp chất cao phân tử như chuỗi peptide và protein mang hoạt tính kháng côn trùng [8]. Trong số đó, lectin, bản chất là protein tương tác thuận nghịch đặc hiệu với các phân tử đường, có khả năng kháng lại côn trùng gây hại [77]. Lectin được phân bố rộng rãi trong sinh giới từ virus, nấm, vi khuẩn, động vật và thực vật. Lectin ở động vật không xương sống chủ yếu được tìm thấy trong dịch hay dịch chiết như tinh dịch, huyết tương, trong khi ở động vật có xương sống chủ yếu ở dạng tự do hay ở một số mô và cơ quan trưởng thành [61]. Lectin ở vi sinh vật tìm thấy trên bề mặt tế bào và giúp gắn kết các tế bào lại với nhau. Trong khi, lectin thực vật được tìm thấy nhiều trong hạt và các mô dự trữ khác nhau như củ, rễ bò, vỏ cây [77]. Nhiều cây trồng nông nghiệp

quan trọng như lúa gạo (*Oryza sativa* L.), lúa mì (*Triticum* spp.), khoai tây (*Solanum tuberosum*), cà chua (*Solanum lycopersicum*) và các cây họ đậu đều chứa lectin [75]. Chúng chiếm khoảng 1-10% hàm lượng protein hòa tan tổng số trong hạt của các cây họ đậu, thậm chí đã ghi nhận trong vỏ của một vài loài cây họ đậu có hàm lượng lectin đạt 20-50% protein hòa tan tổng số [75, 54].

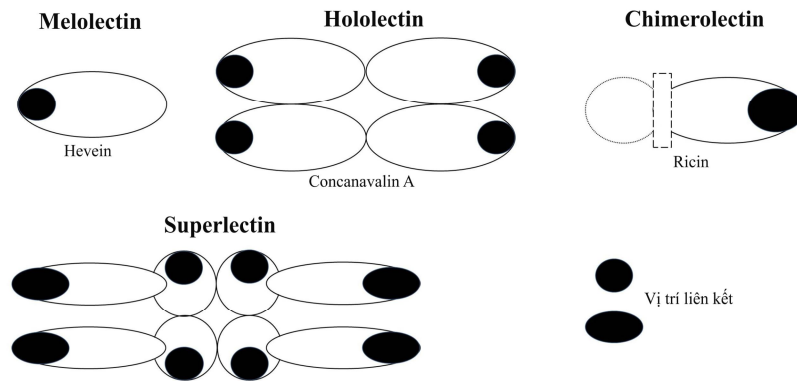
Là một chất có hoạt tính sinh học được phát hiện cách đây hơn một thế kỷ, lectin được xem là một trong những protein thực vật được nghiên cứu sớm nhất [75]. Lectin được mô tả đầu tiên năm 1888 khi Stillmark tiến hành phân lập dịch chiết trên cây thầu dầu (*Ricinus communis* L.) và phát hiện ra khả năng ngưng kết tế bào hồng cầu người của lectin, khi đó gọi là “ricin” [4, 72]. Năm 1898, Elfstrand đã giới thiệu thuật ngữ “hemagglutinin” nghĩa là sự ngưng kết để chỉ tất cả protein thực vật có khả năng gây ngưng kết tế bào. Vào những năm 1940, Boyd và Renkonen đã tìm ra dịch chiết thô từ đậu Lima (*Phaseolus limensis*) và đậu tằm (*Vicia cracca*) có hoạt tính ngưng kết đặc hiệu với nhóm máu. Đến năm 1954, Boyd và Shapleigh đã đặt cho nhóm protein đó là “Lectin”, xuất phát từ chữ Latin “Legere” nghĩa

là chọn lọc [6]. Sự ngưng kết có chọn lọc của lectin dựa vào khả năng liên kết với các cấu trúc carbohydrate khác nhau có mặt trên màng tế bào hồng cầu [50]. Hiện nay, lectin được định nghĩa là protein mà phần lớn là glycoprotein không có nguồn gốc miễn dịch, chứa ít nhất một trung tâm hoạt động, có khả năng tương tác đặc hiệu với mono- hay oligo-saccharide nằm trên bề mặt tế bào mà không làm thay đổi cấu trúc của carbohydrate được liên kết [61].

Phân loại lectin thực vật

Dựa vào cấu trúc phân tử và biểu hiện hoạt tính sinh học, lectin được chia làm bốn nhóm khác nhau: merolectin, hololectin, chimerolectin và superlectin (hình 1) [75]. Merolectin là những phân tử protein có khối lượng phân tử nhỏ, chỉ có một trung tâm domain liên kết với carbohydrate. Do tính đơn trị nên nhóm lectin này không có hoạt tính ngưng kết tế bào và không gây kết tủa các hợp chất liên kết đường (glyconjugates) [75]. Ở đây, thí dụ điển hình cho nhóm merolectin là các protein liên kết với chitin được chiết xuất từ mủ của cây cao su (*Hevea brasiliensis*) [75, 79], hoặc các lectin

liên kết với mannose trên cây họ Lan (*Orchidaceae*) [10, 73]. Nhóm hololectin là những lectin có chứa ít nhất hai trung tâm domain liên kết với đường, chúng có thể giống hoặc tương đồng với nhau. Do cấu trúc có nhiều vị trí liên kết và nhiều hóa trị nên chúng có khả năng gây ngưng kết tế bào và kết tủa các nhóm carbohydrate tương đồng. Hầu hết lectin thực vật được tách chiết và phân lập đều thuộc nhóm này, đây cũng là nhóm lectin được nghiên cứu nhiều nhất hiện nay [75]. Chimerolectin thuộc nhóm protein dung hợp, chứa ít nhất một trung tâm liên kết với carbohydrate và một vùng chức năng có hoạt tính sinh học, có thể tham gia xúc tác độc lập với vùng liên kết đường. Kết quả phân tích trình tự genome ở nhiều loài khác nhau đã chỉ ra rằng chimerolectin được tìm thấy rất nhiều trong thực vật [32, 71]. Tương tự với hololectin, superlectin chứa ít nhất hai trung tâm liên hợp với carbohydrate. Tuy nhiên, các vùng này lại khác nhau nên có khả năng liên kết với các nhóm carbohydrate khác nhau về mặt cấu trúc. Vì thế cũng có thể coi superlectin là một nhóm đặc biệt của chimerolectin với hai vùng liên kết đường riêng biệt [75, 70].



Hình 1. Sơ đồ minh họa cấu trúc của các dạng lectin thực vật [74]

Những phân tích trên hệ gen và ARN ở thực vật đã chỉ ra sự có mặt của các protein chứa một hay nhiều vùng lectin được gắn với cấu trúc đa vùng phức tạp. Do tính phức tạp và không đồng nhất giữa tất cả protein liên kết với carbohydrate, phân loại lectin còn được dựa vào đặc tính của vùng liên kết đường có mặt trong protein [77]. Vì thế, lectin thực vật cũng có thể được chia thành 12 vùng khác nhau bao gồm (1)

tương đồng với ngưng kết tổ *Agaricus bisporus* (2) các amaranthin, (3) tương đồng với chitinase lớp V, (4) họ cyanovirin, (5) họ ngưng kết tổ *Euonymus europaeus*, (6) họ ngưng kết tổ *Galanthus nivalis*, (7) các protein với vùng hevein, (8) lectin mít, (9) các protein có vùng lectin họ đậu, (10) các vùng LysM, (11) họ ngưng kết tổ *Nicotiana tabacum* và (12) họ ricin-B (bảng 1) [74].

Bảng 1. Các họ lectin chính ở thực vật [74]

STT	Họ lectin	Tính đặc hiệu carbohydrate	Ví dụ	Tính kháng côn trùng*
1	Tương đồng với ngưng kết tố <i>Agaricus bisporus</i>	Kháng nguyên T	ABA, MarpoABA	?
2	Các amaranthin	Kháng nguyên T	Amaranthin, HFR2	+
3	Tương đồng với chitinase lớp V	Nhóm máu B, dạng <i>N</i> -glycan giàu Man	RobpsCRP	?
4	Họ cyanovirin	Dạng <i>N</i> -glycan giàu Man	CV-N	?
5	Họ ngưng kết tố <i>Euonymus europaeus</i>	Nhóm máu B, dạng <i>N</i> -glycan giàu Man	EAA	?
6	Họ ngưng kết tố <i>Galanthus nivalis</i>	Man, oligomannoside, dạng <i>N</i> -glycan giàu Man, <i>N</i> -glycan	GNA, ASA II, ASAL, ACA, LOA	+++
7	Các protein với vùng hevein	Chitin, giàu Man, Man, <i>N</i> -glycan	Hevein, UDA, WGA, HFR3	++
8	Lectin mít	Gal, Kháng nguyên T, Man, <i>N</i> -glycan	Jacalin, Heltuba, HFR1	+
9	Các protein có vùng lectin họ đậu	Man/Glc, Gal/GalNAc, (GlcNAc) _n , Fuc, Sia α 2, 3Gal/GalNAc, phức hợp các <i>N</i> -glycan	PHA, ConA, Gleheda, PSA, GSII	++
10	Các vùng LysM	Chitin-oligosaccharide	LysM, CEBiP	?
11	Họ ngưng kết tố <i>Nicotiana tabacum</i>	Các GlcNAc-oligomer, dạng <i>N</i> -glycan giàu Man	NICTABA, PP2	+
12	Họ ricin-B	Gal/GalNAc, Sia α 2-6Gal/GalNAc	Ricin, SNA-I	+

Tính kháng côn trùng của lectin trong các họ: (+++) kháng mạnh; (++) kháng trung bình; (+) kháng yếu; (?) không kháng. Kháng nguyên T: Gal β (1,3)GalNAc; Man: mannose; Gal: galactose; Glc: glucose; GalNAc: N-acetylgalactosamine; GlcNAc: N-acetylglucosamine; Fuc: fucose; Sia: sialic acid; ABA: ngưng kết tố từ *Agaricus bisporus*; MarpoABA: ngưng kết tố từ *Marchantia polymorpha* tương tự như ABA; HFR: nhân tố đáp ứng với loài ruồi Hessian; RobpsCRA: tương tự với ngưng kết tố liên quan đến Chitinase từ *Robinia pseudoacacia*; CV-N: cyanovirin-N; EEA: ngưng kết tố từ *Euonymus europaeus*; GNA: ngưng kết tố từ *Galanthus nivalis*; ASAL: ngưng kết tố từ lá *Allium sativum*; ASALII: ngưng kết tố II từ củ *Allium sativum*; ACA: ngưng kết tố từ *Allium cepa*; LOA: ngưng kết tố từ *Listera ovata*; WGA: ngưng kết tố từ mầm lúa mì; UDA: ngưng kết tố từ *Urtica dioica*; Heltuba: ngưng kết tố từ *Helianthus tuberosus*; PHA: ngưng kết tố từ *Phaseolus vulgaris*; ConA: ngưng kết tố từ *Canavalia ensiformis*; Gleheda: ngưng kết tố *Glechoma hederacea*; PSA: ngưng kết tố từ *Pisum sativum*; GS-II: ngưng kết tố II từ *Griffonia simplicifolia*; LysM: vùng liên kết Lysin; CEBiP: protein liên kết với chất kích thích hình thành chitin; NICTABA: ngưng kết tố từ *Nicotiana tabacum*; PP2: protein phloem 2; SNA-I: ngưng kết tố I từ *Sambucus nigra*.

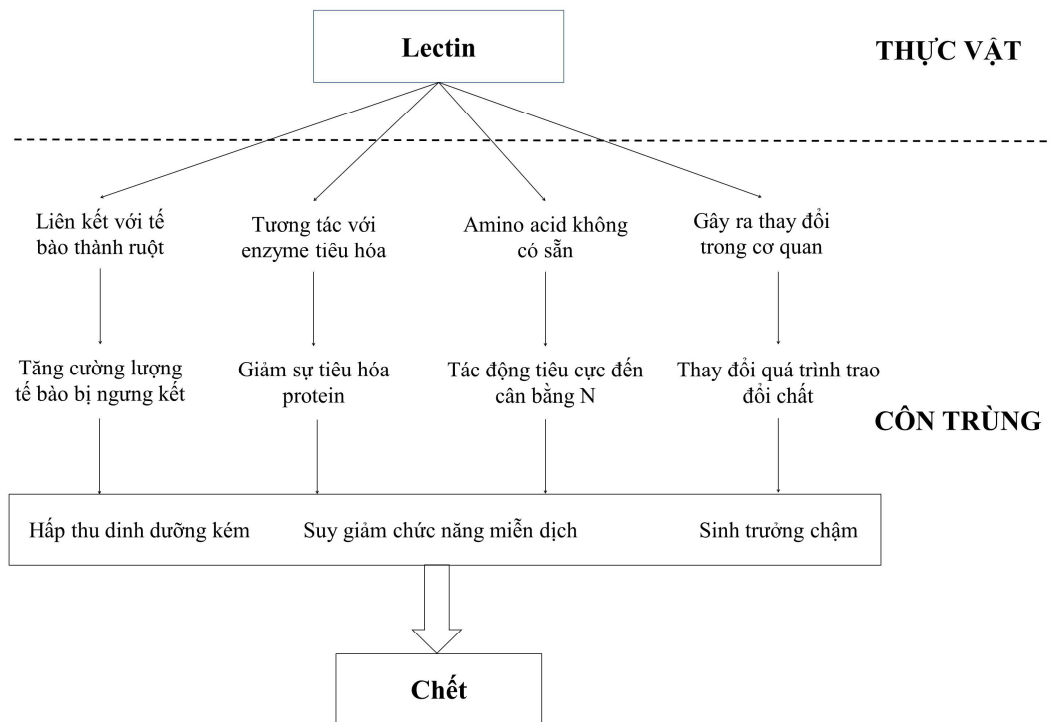
Đặc tính kháng côn trùng của lectin thực vật

Hầu hết lectin đều thể hiện tính đặc hiệu, trực tiếp chống lại phức hợp *N*- và *O*-glycan. Phức hợp này không xuất hiện trong tế bào thực

vật nhưng được ghi nhận trên bề mặt tế bào vi khuẩn, trong tế bào niêm mạc ruột dọc ống tiêu hóa của các loài côn trùng hại thực vật, cũng như ở động vật ăn cỏ [46]. Khi côn trùng ăn thực vật, lectin có khả năng vượt qua các rào

căn ở biểu mô ruột để đi vào sâu bên trong ống tiêu hóa. Sau đó, trung tâm hoạt động của phân tử lectin sẽ liên kết với các gốc đường của thụ thể tiếp nhận, hình thành nên liên kết glycoside, từ đó gây kết dính và tạo nên hiện tượng ngưng kết với tế bào [46]. Tuy không gây ra sự phân giải tế bào biểu mô thành ruột nhưng việc ngưng kết dẫn đến sự thay đổi trong quá trình

trao đổi chất cũng như chức năng tế bào, làm thay đổi hành vi ăn uống của côn trùng [62, 66]. Nồng độ các protein và hoạt tính của enzyme tiêu hóa giảm diễn ra trong một thời gian dài sẽ gây ảnh hưởng đến sức sinh sản cũng như sự sinh trưởng và phát triển của côn trùng (hình 2) [31, 46].



Hình 2. Hoạt tính sinh học của lectin thực vật đối với côn trùng [77, 71]

Ngưng kết tổ từ *Galanthus nivalis* (GNA) là một những lectin được nghiên cứu nhiều nhất hiện nay, đây là dạng lectin đầu tiên được chỉ ra có tính kháng với bộ cánh nửa *Hemiptera* và cũng là protein dễ dàng được tinh sạch. Nhờ khả năng liên kết đặc hiệu với gốc mannose của dạng *N*-glycan giàu mannose, GNA được tìm thấy rất nhiều ở glycoprotein của côn trùng [63]. Powell et al. (1998) [59] đã công bố về hoạt tính kháng côn trùng của GNA khi quan sát sự thay đổi trên hình thái ruột của rầy nâu (*Nilaparvata lugens*) với chế độ ăn nhân tạo có bổ sung 0,05% (w/v) GNA. Sự có mặt của GNA trong buồng trứng cũng giải thích cho sự giảm sức sinh sản. GNA cũng có thể xâm nhập huyết

trương, do đó làm ảnh hưởng đến toàn bộ cơ thể cũng như tuổi thọ của côn trùng [59]. GNA được ứng dụng rộng rãi trên nhiều đối tượng cây trồng nông nghiệp như lúa [89], lúa gạo [16, 49], lúa mì [45], ngô [82], khoai tây [3] hay thuốc lá [87] nhằm tăng cường tính kháng với nhiều loài côn trùng khác nhau. Các dòng ngô chuyển gen biểu hiện GNA có tính kháng đặc hiệu với phloem cho thấy khả năng chống lại rệp ăn lá ngô (*Rhopalosiphum maidis*) sau khi được thử nghiệm trên đồng ruộng. Các dòng ngô biểu hiện GNA đạt trên 0,22% protein hòa tan tổng số thì việc sản sinh ra những non bị giảm 46,9% [82]. Lúa chuyển gen biểu hiện ngoại bào lectin có nguồn gốc từ lá tỏi-ASAL

(ngưng kết tổ từ *Allium sativum*) với tỷ lệ 0,74%-1,45% ASAL có mặt trong protein hòa tan tổng số [86]. Điều này là nguyên nhân dẫn đến giảm sức sinh sản, kìm hãm sự phát triển của cá thể trưởng thành và tăng tỷ lệ tử vong của con non thuộc bộ Cánh nửa như loài rầy nâu (*Nilaparvata lugens*) [7], rầy xanh (*Nephotettix virescens*) và rầy lưng trắng (*Sogatella furcifera*) [86].

Lectin đậu được tìm thấy chủ yếu ở trong hạt. Melander et al. (2003) đã kiểm tra ảnh hưởng của lectin từ đậu Hà lan, gọi là PSA đến sự sống sót và phát triển của một loài ong mật (*Meligethes aeneus*). PSA thu thập từ bao phấn và hạt phấn của cải dầu (*Brassica napus*) chuyển gen được sử dụng cho thí nghiệm. Kết quả cho thấy PSA dẫn đến giảm trọng lượng cơ thể ấu trùng [43] nhưng lại không có tác dụng đối với ong trưởng thành [34]. Một thí nghiệm khác sử dụng loại lectin được gọi là Gleheda, tách chiết từ cây thường xuân đất (*Glechoma hederacea*). Kết quả cho thấy Gleheda có hoạt tính mạnh với ấu trùng bộ khoai tây (*Leptinotarsa decemlineata*), đặc biệt là có thể gây ra tỷ lệ tử vong 100% với quần thể ấu trùng bộ khoai tây [81]. Powell đã tiến hành thử nghiệm hai loại lectin khác nhau ở cùng một liều lượng 0,1% (w/v) gồm lectin liên kết với mannose được phân lập từ cây đậu nhiệt đới Mỹ (*Canavalia ensiformis*), gọi là Concanavalin A (ConA) và PSA từ đậu Hà lan với bộ chết (*Tarophagous proserpina*). ConA là nguyên nhân dẫn đến những ảnh hưởng tiêu cực cho quá trình trao đổi chất đối với con non ở giai đoạn lột xác thứ ba, trong khi đó PSA hoàn toàn không có tác dụng với bộ chết [56]. Điều này được giải thích là các dạng lectin khác nhau có khả năng liên kết với thụ thể tiếp nhận trên bề mặt tế bào không giống nhau [77], điều này dẫn đến đặc tính ngưng kết tế bào mang tính có chọn lọc.

Lectin có vùng hevein hầu hết đều nhận biết đặc hiệu với chitin-polymer được tổng hợp ở động vật chân đốt, tuyến trùng và nấm. Vì động vật có vú không hề có thụ thể tiếp nhận lectin hevein nên đây là gen đích an toàn và hiệu quả để ứng dụng tạo giống cây trồng biến đổi gen kháng côn trùng [44]. Nhóm lectin này xuất hiện ở thực vật một lá mầm như ngưng kết tổ có nguồn gốc từ mầm lúa mì, được gọi là WGA, và

thực vật hai lá mầm như ở khoai tây [71]. WGA khi được bổ sung vào chế độ ăn nhân tạo sẽ gây nên ảnh hưởng tiêu cực đến sự phát triển của ấu trùng loài mọt đậu (*Callosobruchus maculatus*) [24], sâu đục rễ ngô (*Diabrotica undecimpunctata*) [12] và sâu non các loài khác thuộc bộ Cánh vảy [12, 22]. Ngược lại, nhóm lectin hevein lại ít tác động đến côn trùng thuộc bộ Cánh nửa [11]. Đó là do trên bề mặt ruột của bộ Cánh nửa thiếu chất nền bao quanh ống tiêu hóa nên không có mặt các sợi chitin và glycoprotein có cấu trúc glycan là thụ thể tiếp nhận của lectin hevein [77].

Phân loại lectin dựa trên đặc tính biểu hiện dưới điều kiện bất lợi

Nhiều loại lectin thực vật được biểu hiện bên trong tế bào, độc lập với các tác nhân bên ngoài môi trường được gọi là “lectin biểu hiện cơ định” hay “lectin cổ điển”. Hầu hết các lectin đều được tổng hợp trên màng lưới nội chất và tích lũy lại tại không bào hay được tiết ra ngoài bào. Một số có mức độ biểu hiện rất thấp trong điều kiện bình thường nhưng lại được tăng cường trong các điều kiện bất lợi như mặn, khô hạn, bị thương tổn, bị tấn công bởi côn trùng hay các tác nhân gây bệnh, được gọi là “lectin biểu hiện cảm ứng” [26, 77, 31]. Nhóm lectin này được tổng hợp trên các ribosome tự do trong tế bào chất và phân bố trên màng nhân tế bào [71].

Ngưng kết tổ được tìm thấy ở lúa, gọi là Oryzata, là một lectin biểu hiện cảm ứng trong điều kiện chịu mặn [88]. Nằm trong họ lectin mít và biểu hiện trong nhân tế bào và tế bào chất, Oryzata tái tổ hợp tồn tại ở 2 dạng phân tử: một lectin có khối lượng phân tử là 23 kDa, chuỗi polypeptide bị glycosyl hóa, dạng còn lại có khối lượng phân tử là 18,5 kDa, chuỗi polypeptide không bị glycosyl hóa [2]. Phân tích glycan cho thấy Oryzata có tương tác với mannose cũng như với các dạng glycan có cấu trúc phức tạp hơn [2]. Sau này, Oryzata được chứng minh kháng lại 3 loài côn trùng gây hại chính cho cây trồng nông nghiệp bao gồm sâu ăn lá củ cải đường (*Spodoptera exigua* Hubner) thuộc bộ Cánh vảy, loài rệp *Myzus persicae* Sulzer và rệp đậu *Acyrtosiphon pisum*, thuộc bộ Cánh nửa [1]. Các thí nghiệm với *S. exigua*

và *M. persicae* sử dụng dịch chiết tách từ lá của cây thuốc lá chuyển gen biểu hiện quá mức Oryсата. Mức độ biểu hiện của dòng chuyển gen dao động trong khoảng 38 và 71 $\mu\text{g/g}$ trọng lượng tươi, tương ứng với 0,6-1,1% tổng lượng protein hòa tan. Kết quả cho thấy, Oryсата gây ra tỷ lệ tử vong cao với ấu trùng *S. exigua* do bị nhiễm độc, đồng thời làm chậm quá trình phát triển của sâu trưởng thành. Tương tự như vậy, khi rệp đậu ăn thức ăn nhân tạo có chứa hàm lượng khác nhau của Oryсата tái tổ hợp, nồng độ khoảng 79 $\mu\text{g/ml}$ dẫn đến tỷ lệ tử vong là 50% [1]. Oryсата có tiềm năng giúp lúa kháng lại côn trùng. Trong điều kiện chịu mặn NaCl 0,1 M, biểu hiện của Oryсата trong lúa chỉ đạt 1 $\mu\text{g/g}$ trọng lượng tươi nhưng ở điều kiện bình thường, nồng độ Oryсата còn giảm tới 1.000 lần so với trường hợp chịu mặn [88]. Do đó, chuyển gen mã hóa Oryсата là chiến lược tiềm năng quản lý côn trùng gây hại đối với cây trồng nông nghiệp.

Ngưng kết tổ từ *Nicotiana tabacum* gọi là NICTABA, được tìm thấy trong lá của những cây thuốc lá gặp điều kiện bất lợi sinh học. Trong điều kiện bình thường, NICTABA không được tìm thấy nhưng lại biểu hiện sau khi xử lý với jasmonate hay dẫn xuất của nó là methyl jasmonate cũng như sau khi bị côn trùng tấn công [13, 33, 9, 76]. NICTABA là lectin nằm trong nhân tế bào và có khối lượng phân tử 39 kDa [9]. Đây là protein nhận biết các glycoprotein giàu mannose và các dạng N-glycan phức tạp, cũng như các glycoprotein nằm trong nhân tế bào và màng sinh chất [30]. Tuy nhiên côn trùng kiểu miệng chích hút và liếm hút như rệp sáp *Myzus nicotianae* và ruồi trắng *Trialeurodes vaporariorum* thì không cảm ứng biểu hiện NICTABA, trong khi đó những côn trùng tấn công kiểu miệng nhai nghiền (*Spodoptera littoralis* và *Manduca sexta*) và mạt hình nhện đỏ có miệng hút (*Tetranychus urticae*) mới dẫn đến biểu hiện của NICTABA [78]. Đó là do mỗi cách tấn công của côn trùng lại kích hoạt các tín hiệu hormone khác nhau và NICTABA chỉ được biểu hiện theo con đường tín hiệu hormone và sinh tổng hợp liên quan đến jasmonate [91]. Jasmonate đóng vai trò quan trọng trong phản ứng phòng vệ chống lại nhóm động vật chân khớp gây hại thực vật [76, 91,

64]. Delporte et al. (2011) [13] đã chỉ ra rằng NICTABA biểu hiện thấp ở rễ và những mô già trong khi biểu hiện mạnh ở những mô non và dưới điều kiện cây thuốc lá chịu lạnh. Đây là một điểm quan trọng để tăng cường tính kháng côn trùng cho cây trồng do côn trùng thường thích tấn công vào những mô non của thực vật.

Ở Việt Nam, đã có công bố nghiên cứu đầu tiên về tính phổ biến của lectin (Nguyễn Thị Thịnh và nnk., 1983) [67]. Kết quả nghiên cứu đã chứng minh lectin có mặt trong nhiều loài thực vật ở Việt Nam, đến 60% các giống đậu đang được trồng phổ biến ở nước ta có chứa lectin. Từ đó cho đến nay, nhiều công trình nghiên cứu về lectin theo hướng điều tra khảo sát, nghiên cứu chức năng và ứng dụng đã được công bố. Lectin được tách chiết và tinh chế từ hạt chay (*Artocarpus tonkinensis* A. Chev) [39], nụ cây hoa hòe (*Sophora japonica* L.) [38] đều có hoạt độ cao. Lectin của 6 giống đậu cô ve trắng đều cho thấy có hoạt tính lectin mạnh, gây ngưng kết với cả tế bào hồng cầu của trâu, bò, lợn. Lectin đậu cô ve trắng dạng bụi phản ứng với hồng cầu các nhóm máu ở người tuy là nhóm B, AB, O mạnh hơn nhóm A nhưng đã cho thấy lectin đậu cô ve trắng không có biểu hiện đặc hiệu nhóm máu [52].

Lectin được chiết xuất ở Việt Nam còn được ứng dụng nghiên cứu miễn dịch học và chẩn đoán y học. Đỗ Ngọc Liên (1992) [37] đã sử dụng lectin từ hạt mít tổ nữ (*Artocarpus chempeden* L.) để tinh chế IgA1 trong huyết thanh người bằng phương pháp sắc ký ái lực. Đồng thời, lectin từ hạt chay cũng được sử dụng để chẩn đoán miễn dịch kí sinh trùng *Schistosoma mansoni* [36]. Bên cạnh đó, Bùi Phương Thuận (2004) [68] đã sử dụng các lectin có nguồn gốc từ thực vật để phân loại 25 chủng vi khuẩn có hại cho con người bao gồm các loài *Staphylococcus*, *Escherichia coli*, *Salmonella* và *Shigella*. Lectin ConM từ hạt đậu dao biển (*Canavalia maritima* A.) đã được sử dụng để định lượng IgG từ huyết thanh người. Kết quả cho thấy hàm lượng IgG trung bình ở những bệnh nhân đa u tủy là $50,08 \pm 10,03$ mg/ml, tăng gấp khoảng 4,02 lần so với hàm lượng IgG ở người bình thường [40]. Lectin ConG từ hạt đậu grom (*Canavalia gladiata* J.) cũng được sử dụng để nhận dạng các kháng

nguyên AFP của các bệnh nhân ung thư gan, viêm gan siêu vi trùng và thai phụ [40].

Mặc dù nghiên cứu lectin ở Việt Nam đã thu được một số thành tựu nhất định nhưng những nghiên cứu lectin ứng dụng cho nông nghiệp, làm tăng khả năng kháng côn trùng gây hại vẫn còn chưa được tập trung nghiên cứu.

Sắn (*Manihot esculenta* Crantz) là cây lương thực, nhiên liệu và hàng hóa quan trọng của các nước Đông Nam Á bao gồm Việt Nam, Thái Lan, Lào, Campuchia, Indonesia. Tuy nhiên, trong những năm gần đây sản xuất sắn gặp nhiều khó khăn, năng suất thấp do bị nhiều loại côn trùng gây hại như nhện đỏ, bọ phấn, rệp bột sáp hồng [23]. Liên quan đến bài viết này, nhóm nghiên cứu đã tiến hành khảo sát hoạt tính lectin trên 14 giống sắn được trồng phổ biến ở Việt Nam. Lectin thô từ khoai tây thuộc nhóm liên kết với chitin, có khả năng gây ngưng kết mạnh với tế bào máu người cũng như nhiều loài động vật khác [29] được sử dụng như đối chứng dương cho thí nghiệm khảo sát hoạt tính lectin ở sắn. Mẫu lá từ cây sắn 6 tháng tuổi và mẫu đối chứng được chiết rút bằng đệm PBS ở pH 7,4 và tủa bằng $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ ở các nồng độ khác nhau 70%, 80%, 90% và 100% bão hòa để xác định nồng độ thích hợp cho quá trình tủa lectin thô từ sắn, sau đó ly tâm lạnh ở 12.000 rpm trong 15 phút. Phần tủa thu được sau quá trình ly tâm được hòa với đệm PBS pH 5,6 và thử nghiệm khả năng ngưng kết với hồng cầu thuộc nhóm máu A, B, AB và O (được cung cấp bởi Viện Huyết học và Truyền máu Trung ương). Kết quả cho thấy, protein thô tách chiết được từ lá sắn của cả 14 giống thử nghiệm đều không thấy xuất hiện sự gây ngưng kết với tế bào máu người. Tuy nhiên, khi thử phần dịch nổi thu được sau khi tủa bằng các nồng độ $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ khác nhau lại cho thấy sự ngưng kết mạnh với tất cả các nhóm máu. Để xác định chắc chắn sự ngưng kết đó xảy ra là do tác động của các hợp chất phi protein có mặt trong mô tế bào thực vật, dịch nổi được xử lý với nhiệt ở 94°C trong vòng 20 phút và được thử lại hoạt tính với tế bào máu. Kết quả vẫn cho thấy sự ngưng kết với hồng cầu máu người. Điều này giải thích hoạt tính ngưng kết tế bào máu ở sắn xảy ra bởi tác động của lipid [69] hay các chất

polyphenol như tannin [14] có mặt phổ biến trong các mô thực vật.

Công nghệ gen và việc ứng dụng lectin trong phòng trừ sâu hại

Bảo vệ thực vật đóng vai trò quan trọng và thiết yếu trong sản xuất nông nghiệp. Mặc dù quản lý sâu hại bằng thuốc trừ sâu nói chung là một lựa chọn hiệu quả, nhưng những hệ lụy của chúng đến hệ sinh thái không nhỏ. Với những tiến bộ đạt được trong lĩnh vực chuyển gen và tái sinh ở thực vật, đã ghi nhận rất nhiều công bố liên quan đến các sự kiện chuyển gen lectin kháng côn trùng vào một số loại cây trồng quan trọng [41, 86]. Đây được xem là một hướng đi đúng đắn nhằm thích nghi với sự phát triển khôn lường của côn trùng và dịch hại.

Rất nhiều nhóm lectin ngưng kết với mannose hoặc mannose/glucose, như GNA, Con A, đã được ghi nhận là có hoạt tính kháng côn trùng trên nhiều loại cây trồng trong điều kiện *in vitro* [20, 57, 60] cũng như *in planta* [18, 57, 58]. Yarasi et al. (2008) [86] đã chuyển thành công gen mã hóa ASAL vào một số dòng lúa indica triển vọng, kết quả cho thấy hàm lượng ASAL đạt 0,74-1,45% protein tổng số hòa tan, sự biểu hiện của ASAL trong cây chuyển gen có khả năng kháng lại rầy nâu, rầy xanh và rầy lưng trắng thông qua việc thay đổi tập tính ăn uống và giảm sức sống của chúng. Một vài nghiên cứu tương tự cũng đã được báo cáo liên quan đến chuyển gen vào lúa nhờ *Agrobacterium* [25, 27, 48]. Các cây lúa chuyển gen có biểu hiện khả năng kháng các nhóm côn trùng chích hút quan trọng như rầy râu, rầy xanh, và rầy trắng. Để tăng cường khả năng kháng côn trùng, các nhóm nghiên cứu đã bắt đầu định hướng nhằm quy tụ một vài gen kháng vào đối tượng. Gen *CryIA(c)* và GNA đã được ghi nhận là chuyển thành công vào cây bông (*Gossypium herbaceum*) [41] và cây Thảo đại thanh (*Isatis indigotica* Fort.) [84].

Bên cạnh dạng lectin cơ bản, thực vật còn có một vài dạng lectin chỉ biểu hiện sau khi bị côn trùng tấn công cây hoặc có hóa chất tác động. Đây được gọi là sự phòng thủ cảm ứng, nghĩa là quá trình tổng hợp ra protein phòng thủ cảm ứng (ở đây là lectin) được điều hòa bởi sự tổng hợp của một vài tín hiệu tế bào như acid

jasmonic, acid salicylic, acid abscisic và ethylene do sự tiếp xúc của côn trùng và hóa chất với cây. Thí dụ đầu tiên là lectin cây thuốc lá, gọi là Nictaba, có đặc tính liên kết với đường cho GlcNAc [30]. Không có hoạt tính ngưng kết hồng cầu nào được phát hiện trên lá của *Nicotiana tabacum*, nhưng sau khi xử lý với methyl jasmonate, Nictaba bắt được được tích tụ [9]. Mặt khác, khi lá cây thuốc lá bị tổn thương do sâu khoang (*Spodoptera littoralis*) gây ra, thì Nictaba cũng được tích tụ [33]. Zhu-Salzman et al. (1998) [90] cũng báo cáo một dạng lectin, GS-II, được cảm ứng trong lá cây *Griffonia simplicifolia* khi xử lý với methyl jasmonate. Trên lúa mì, gen *Hfr-1* mã hóa cho lectin liên kết với mannose liên quan đến jacalin cũng được cảm ứng bởi sự tấn công của loài ruồi *Mayetiola destructor* [83]. Như vậy, việc xử lý hóa chất hoặc chủ động gây tổn thương hạn chế bằng côn trùng có thể được ứng dụng để kích thích sự biểu hiện của lectin từ đó dẫn đến cảm ứng kháng lại sâu hại.

Công nghệ chỉnh sửa hệ gen (genome editing) là kỹ thuật tiềm năng giúp cải thiện năng suất cây trồng cũng như tăng cường một số đặc tính có lợi cho thực vật như khả năng kháng lại côn trùng hay một số tác nhân gây bệnh. Chỉnh sửa hệ gen sử dụng endonuclease hay nuclease được tổng hợp nhân tạo để làm đứt gãy sợi DNA mạch đôi ở vị trí mong muốn. Hệ thống sẽ kích hoạt quá trình sửa chữa theo 2 cơ chế: sửa chữa dựa vào tính tương đồng (HDR) hoặc sửa chữa ngẫu nhiên không dựa vào tính tương đồng (NHEJ). Các kỹ thuật chỉnh sửa hệ gen đã được sử dụng như meganuclease, nuclease ngón tay kềm (ZFNs), nuclease giống nhân tố kích hoạt phiên mã (TALEN) và các đoạn lặp ngắn xuôi ngược nhau cách nhau đều đặn (CRISPR) [17]. CRISPR/Cas9 được xem như hệ thống đáp ứng miễn dịch tự nhiên của vi khuẩn. Năm 2013, năm nghiên cứu đầu tiên về kỹ thuật chỉnh sửa hệ gen dựa vào CRISPR/Cas9 đã được công bố trên nhiều đối tượng thực vật khác nhau [15, 35, 51, 65, 85]. Wang et al. (2014) [80] đã sử dụng đồng thời cả TALEN và CRISPR/Cas9 để bất hoạt 3 locus MLO mã hóa cho những protein làm giảm khả năng chống lại nấm mốc của thực vật. Kết quả là tạo ra được cây lúa mì tái sinh có khả năng

kháng bệnh nấm mốc. Bên cạnh đó, việc sử dụng các chuỗi oligonucleotide được bổ sung vào làm mạch khuôn cho quá trình sửa chữa có thể làm thay đổi trình tự điều hòa của gen. Chèn đoạn lớn thông qua HDR hay NHEJ làm tăng cường mức độ phiên mã mà không hề gây ra sự ức chế đến hoạt động của các gen nội sinh [5]. Các nhân tố điều hòa biểu hiện gen thông qua promoter cảm ứng hay ức chế bằng cách thêm vào một promoter mới và xử lý đặc biệt (phương pháp vật lý hay hóa học) để hoạt hóa hay ức chế promoter. Nuclease Cas9 bị bất hoạt (dCas9) có thể được sử dụng để điều hòa biểu hiện gen do chúng không có khả năng cắt DNA nhưng vẫn bám vào được trình tự DNA đích bằng các RNA dẫn đường (gRNA). Khi đó, dCas9 đóng vai trò như là một nhân tố phiên mã chứa vùng hoạt hóa hay ức chế phiên mã [42, 19]. Piatek et al. (2014) [55] đã kiểm soát được sự phiên mã của gen *PDS* nội sinh trong *N. benthamiana* sử dụng dCas9 dung hợp với vùng EDLL và vùng hoạt hóa TAL để hoạt hóa quá trình phiên mã, vùng SRDX từ nhân tố phiên mã ERF để ức chế quá trình phiên mã. Nhóm tác giả đã chỉ ra rằng vị trí gRNA bám vào DNA đích tương ứng với vị trí bắt đầu phiên mã, đồng thời là RNA bám vào mạch dương hay mạch âm trong chuỗi trình tự đích đều làm ảnh hưởng đến quá trình phiên mã [55]. Nhiều gRNA cùng bám vào một promoter gây nên hiệu ứng hiệp đồng cùng điều hòa quá trình phiên mã [55]. Hai nhóm nghiên cứu khác cũng đã thành công khi ứng dụng kỹ thuật CRISPR để hoạt hóa quá trình phiên mã [53] và ức chế quá trình phiên mã [28]. Việc sử dụng dCas9 chứa các vùng điều hòa có thể kích hoạt quá trình phiên mã của các gen lectin biểu hiện cảm ứng hay tăng cường biểu hiện của các lectin cổ điển. Việc ứng dụng kỹ thuật CRISPR với các cây nông nghiệp làm tăng cường khả năng biểu hiện của lectin, giúp cây chống lại côn trùng gây hại là hướng nghiên cứu hoàn toàn khả thi trong thời gian tới.

Do đó, lectin có tiềm năng trong phòng chống côn trùng hại cây trồng thông qua ba chiến lược: (1) ứng dụng tạo cây biến đổi gen có sinh tổng hợp lectin kháng côn trùng, (2) sử dụng các côn trùng hoặc hóa chất khác như methyl jasmonate để kích hoạt sinh tổng hợp

lectin kháng côn trùng, (3) sử dụng công cụ chỉnh sửa hệ gen để kích hoạt promoter, nhằm cho các gen mã hóa lectin biểu hiện mạnh hơn khi cần kháng lại sâu bệnh. Đặc biệt đây là phương pháp trừ sâu sinh học thay thế cho các thuốc trừ sâu hóa học cũng như thuốc trừ sâu sinh học chứa độc tố cho δ -endotoxin từ vi khuẩn đất *Bacillus thuringiensis* mà đã được báo cáo là độc tố từ *Bacillus* không có tác dụng với nhóm rệp lá, bọ trĩ, bọ chết, rệp vừng, do đó không thể diệt được đa số sâu hại. Tuy nhiên, vẫn cần nhiều các nghiên cứu về tác động trực tiếp cũng như gián tiếp của các lectin tới côn trùng có ích, động vật ăn thực vật và thậm chí là đối với con người.

Lời cảm ơn: Nhóm tác giả xin cảm ơn sự hỗ trợ một phần kinh phí từ chương trình EC/IFAD thông qua Trung tâm Nông nghiệp Nhiệt đới Quốc tế cho nghiên cứu thăm dò “Khảo sát hoạt tính lectin trong các giống sắn Việt Nam”. Nghiên cứu này cũng được hỗ trợ kinh phí từ đề tài của Quỹ Phát triển Khoa học và Công nghệ Việt Nam (NAFOSTED) mã số 106-NN.02-2013.46.

TÀI LIỆU THAM KHẢO

- Al Atalah B., Smaghe G., Van Damme E. J. M., 2014. Oryzata, a jacalin-related lectin from rice, could protect plants against biting-chewing and piercing-sucking insects. *Plant Science*, 221-222(0): 21-28.
- Al Atalah B., Fouquaert E., Vanderschaeghe D., Proost P., Balzarini J., Smith D., Rouge P., Lasanajak Y., Callewaert N., Van Damme E. J. M., 2011. Expression analysis of the nucleocytoplasmic lectin 'Oryzata' from rice in *Pichia pastoris*. *Febs j.*, 278(12): 2064-79.
- Bell H. A., Fitches E. C., Marris G. C., Bell J., Edwards J. P., 2001. Transgenic GNA expressing potato plants augment the beneficial biocontrol of *Lacanobia oleracea* (Lepidoptera; Noctuidae) by the parasitoid *Eulophus pennicornis* (Hymenoptera; Eulophida). *Transgen Res.*, 10: 35-42.
- Bies C., Lehr C. M., Woodley J. F., 2004. Lectin-mediated drug targeting: history and applications. *Adv Drug Deliv Rev.*, 56(4): 425-35.
- Bortesi L., Fischer R., 2015. The CRISPR/Cas9 system for plant genome editing and beyond. *Biotechnol Adv.*, 33(1): 41-52.
- Boyd W. C., Shapleigh E., 1954. Specific Precipitating Activity of Plant Agglutinins (Lectins). *Science*, 119(3091): 419.
- Chandrasekhar K., Vijayalakshmi M., Vani K., Kaul T., Reddy M., 2014. Phloem-specific expression of the lectin gene from *Allium sativum* confers resistance to the sap-sucker *Nilaparvata lugens*. *Biotechnology Letters*, 36(5): 1059-1067.
- Chen M. S., 2008. Inducible direct plant defense against insect herbivores: A review. *Insect Science*, 15(2): 101-114.
- Chen Y., Peumans W. J., Hause B., Bras J., Kumar M., Proost P., Barre A., Rouge P., Van Damme E. J. M., 2002. Jasmonic acid methyl ester induces the synthesis of a cytoplasmic/nuclear chito-oligosaccharide binding lectin in tobacco leaves. *Faseb j.*, 16(8): 905-907.
- Chen Z., Sun X., Tang K., 2005. Cloning and expression of a novel cDNA encoding a mannose-binding lectin from *Dendrobium officinale*. *Toxicon.*, 45(4): 535-40.
- Chougule N. P., Bonning B. C., 2012. Toxins for Transgenic Resistance to Hemipteran Pests. *Toxins.*, 4(6): 405.
- Czapla T. H., Lang B. A., 1990. Effect of Plant Lectins on the Larval Development of European Corn Borer (Lepidoptera: Pyralidae) and Southern Corn Rootworm (Coleoptera: Chrysomelidae). *Entomological Society of America*, 83: 2480-2485.
- Delporte A., Lannoo N., Vandenborre G., Ongenaert M., Van Damme E. J., 2011. Jasmonate response of the *Nicotiana tabacum* agglutinin promoter in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiology and Biochemistry*, 49(8): 843-851.
- Etzler M. E., 1985. Plant lectins: molecular

- and biological aspects. Annual review of plant physiology, 36(1): 209-234.
15. Feng, Z., Zhang B., Ding W., Liu X., Wei P. Cao F., Zhu S., Zhang F., Mao Y., 2013. Efficient genome editing in plants using a CRISPR/Cas system. Cell research, 23(10): 1-9.
 16. Foissac X., Loc N. T., Christou P., Gatehouse A., 2000. Resistance to green leafhopper (*Nephotettix virescens*) and brown planthopper (*Nilaparvata lugens*) in transgenic rice expressing snowdrop lectin (*Galanthus nivalis* agglutinin; GNA). Journal of Insect Physiology, 46(4): 573-583.
 17. Gaj T., Gersbach C. A., Barbas C.F., 2013. ZFN, TALEN, and CRISPR/Cas-based methods for genome engineering. Trends in Biotechnology, 31(7): 397-405.
 18. Gatehouse A. M., Down R. E., Powell K. S., Sauvion N., Rahbe Y., Newell C. A., Merryweather A., Hamilton W. D., Gatehouse J. A., 1996. Transgenic potato plants with enhanced resistance to the peach-potato aphid *Myzus persicae*. Entomologia Experimentalis et Applicata., 79(3): 295-307.
 19. Gilbert L. A., Larson M. H., Morsut L., Liu Z., Brar G. A., Torres S. E., Tern-Ginossar N., Brandman O., Whitehead E. H., Doudna J. A., Lim W. A., Weissman J. S., Qi L. S., 2013. CRISPR-mediated modular RNA-guided regulation of transcription in eukaryotes. Cell, 154(2): 442-451.
 20. Habibi J., Backus E. A., Czaplá T. H., 1993. Plant Lectins Affect Survival of the Potato Leafhopper (Homoptera: Cicadellidae). Journal of Economic Entomology, 86(3): 945-951.
 21. Hanley M. E., Lamont B. B., Fairbanks M. M., Rafferty M. M., 2007. Plant structural traits and their role in anti-herbivore defence. Perspectives in Plant Ecology, Evolution and Systematics, 8(4): 157-178.
 22. Hopkins T. L., Harper M. S., 2001. Lepidopteran peritrophic membranes and effects of dietary wheat germ agglutinin on their formation and structure. Arch Insect Biochem Physiol., 47(2): 100-109.
 23. Howeler R. H., 2014. Sustainable soil and crop management of cassava in Asia. Vol. 389. CIAT Publication. 280p.
 24. Huesing J. E., Murdock L. L., Shade R. E., 1991. Effect of wheat germ isolectins on development of cowpea weevil. Phytochemistry., 30(3): 785-788.
 25. Jiang J. F., Xu Y.Y., Chong K., 2007. Overexpression of OsJAC1, a Lectin Gene, Suppresses the Coleoptile and Stem Elongation in Rice. Journal of Integrative Plant Biology, 49(2): 230-237.
 26. Jiang S. Y., Ma Z., Ramachandran S., 2010. Evolutionary history and stress regulation of the lectin superfamily in higher plants. BMC Evolutionary Biology., 10(1): 79.
 27. Karban R., Chen Y., 2007. Induced resistance in rice against insects. Bull Entomol Res., 97(4): 327-35.
 28. Kiani S., Beal J., Ebrahimkhani M. R., Huh J., Hall R. N., Xie Z., Li Y., Weiss R., 2014. CRISPR transcriptional repression devices and layered circuits in mammalian cells. Nat Meth., 11(7): 723-726.
 29. Kilpatrick D., 1980. Isolation of a lectin from the pericarp of potato (*Solanum tuberosum*) fruits. Biochemical Journal, 191(1): 273.
 30. Lannoo N., Peumans W. J., Pamel E. V., Alvarez R. Xiong T. C., Hause G., Máz C., Van Damme E. J. M., 2006. Localization and in vitro binding studies suggest that the cytoplasmic/nuclear tobacco lectin can interact in situ with high-mannose and complex N-glycans. FEBS Letters, 580(27): 6329-6337.
 31. Lannoo N., Van Damme E. J. M., 2010. Nucleocytoplasmic plant lectins. Biochim Biophys Acta., 1800(2): 190-201.
 32. Lannoo N., Van Damme E. J. M., 2014. Lectin domains at the frontiers of plant defense. Frontiers in Plant Science, 5: 397.
 33. Lannoo N., Vandenborre G., Miersch O., Smaghe G., Wastemack C., Peumans W.

- J., Van Damme E. J. M., 2007. The Jasmonate-Induced Expression of the *Nicotiana tabacum* Leaf Lectin. *Plant and Cell Physiology*, 48(8): 1207-1218.
34. Lehrman A., 2007. Does pea lectin expressed transgenically in oilseed rape (*Brassica napus*) influence honey bee (*Apis mellifera*) larvae? *Environ Biosafety Res.*, 6(4): 271-8.
35. Li J. F., Norville J. E., Aach J., McCormack M., Zhang D., Bush J., Church G. M., Sheen J., 2013. Multiplex and homologous recombination-mediated genome editing in *Arabidopsis* and *Nicotiana benthamiana* using guide RNA and Cas9. *Nature Biotechnology*, 31(8): 688-691.
36. Đỗ Ngọc Liên, Cesari I., Hoebeke J., 1992. Sử dụng lectin chay (*Artocarpus tonkinensis* A. Chev) để chẩn đoán miễn dịch kí sinh trùng *Schistosoma mansoni*. *Tạp chí vệ sinh phòng dịch*, 2(3): 189-194.
37. Đỗ Ngọc Liên, Nguyễn Lê Phi., 1992. Sử dụng lectin mít tố nữ (*Artocarpus chempeden* L.) để tinh chế IgA1 bằng sắc ký ái lực trên cột Sepharose-4B. *Tạp chí Di truyền học và Ứng dụng*, 2: 24-26.
38. Đỗ Ngọc Liên, Nguyễn Mai Phương, 1992. Tách, tinh chế và nghiên cứu một số tính chất của lectin từ nụ cây hoa hòe (*Sophora japonica* L.). *Tạp chí Sinh học*, 2: 32-38.
39. Đỗ Ngọc Liên, Trần Tuấn Quỳnh, 1991. Tách chiết, tinh chế và nghiên cứu một số tính chất của lectin từ hạt chay (*Artocarpus tonkinensis* A. Chev). *Tạp chí Sinh học*, 2: 20-27.
40. Trần Thị Phương Liên, 2008. Nghiên cứu sử dụng lectin để xác định kháng thể và kháng nguyên của một số bệnh ung thư thường gặp. *Luận án tiến sĩ Sinh học*, trường Đại học Khoa học tự nhiên, Đại học Quốc gia Hà Nội. p. 70-89.
41. Liu Z., Zhu Z., Zhang T., 2013. Development of transgenic CryIA(c) + GNA cotton plants via pollen tube pathway method confers resistance to *Helicoverpa armigera* and *Aphis gossypii* Glover. *Methods Mol Biol.*, 958: 199-210.
42. Maeder M. L., Linder S. J., Cascio V. M., Fu Y., Ho Q. H., Joung J. K., 2013. CRISPR RNA-guided activation of endogenous human genes. *Nat Meth.*, 10(10): 977-979.
43. Melander M., Ahman I., Kamnert I., Stromdahl A. C., 2003. Pea lectin expressed transgenically in oilseed rape reduces growth rate of pollen beetle larvae. *Transgenic Res.*, 12(5): 555-67.
44. Merzendorfer H., 2006. Insect chitin synthases: a review. *J Comp Physiol B.*, 176(1): 1-15.
45. Miao J., Wu Y., Xu W., Hu L., Yu Z., Xu Q., 2011. The impact of transgenic wheat expressing GNA (snowdrop lectin) on the aphids *Sitobion avenae*, *Schizaphis graminum*, and *Rhopalosiphum padi*. *Environmental Entomology*, 40(3): 743-748.
46. Michiels K., Van Damme E. J. M., Smagghe G., 2010. Plant-insect interactions: what can we learn from plant lectins? *Arch Insect Biochem Physiol.*, 73(4): 193-212.
47. Mithöfer A., Boland W., 2012. Plant Defense Against Herbivores: Chemical Aspects. *Annual Review of Plant Biology*, 63(1): 431-450.
48. Nagadhara D., Ramesh S., Pasalu I. C., Rao Y. K., Krishnaiah N. V., Sarma N. P., Bown D. P., Gatehouse J. A., Reddy V. D., Rao K. V., 2003. Transgenic indica rice resistant to sap-sucking insects. *Plant Biotechnol J.*, 1(3): 231-40.
49. Nagadhara D., Ramesh S., Pasalu I. C., Rao Y. K., Sarma N. P., Reddy V. D. Rao K. V., 2004. Transgenic rice plants expressing the snowdrop lectin gene (gna) exhibit high-level resistance to the whitebacked planthopper (*Sogatella furcifera*). *Theoretical and Applied Genetics*, 109(7): 1399-1405.
50. Naik S., Rao M., 2012. Lectin in detection and identification of human blood groups. *Sciences Journal*. p. 41.
51. Nekrasov V., Staskawicz B., Weigel D.,

- Jones J. D. G., Kamoun S., 2013. Targeted mutagenesis in the model plant *Nicotiana benthamiana* using Cas9 RNA-guided endonuclease. *Nature Biotechnology*, 31(8): 691-693.
52. Cao Đăng Nguyên, Nguyễn Thị Cẩm Hạnh, 2012. Điều tra, tinh sạch và tìm hiểu tính chất đặc trưng của lectin một số giống đậu cô ve (*Phaseolus vulgaris* L.). *Tạp chí khoa học, Đại học Huế*, 75A(6): 111-121.
53. Nissim L., Perli S. D., Fridkin A., Perez-Pinera P. Lu T. K., 2014. Multiplexed and programmable regulation of gene networks with an integrated RNA and CRISPR/Cas toolkit in human cells. *Mol Cell*, 54(4): 698-710.
54. Nsimba-Lubaki M., Peumans W. J., Allen A. K., 1986. Isolation and characterization of glycoprotein lectins from the bark of three species of elder, *Sambucus ebulus*, *S. nigra* and *S. racemosa*. *Planta*, 168(1): 113-8.
55. Piatek A., Ali Z., Baazim H., Li L., Abuffarai A., Al-Shareef S., Aouida M., Mahfouz M. M., 2015. RNA-guided transcriptional regulation in planta via synthetic dCas9-based transcription factors. *Plant Biotechnol J.*, 13(4): 578-89.
56. Powell K. S., 2001. Antimetabolic effects of plant lectins towards nymphal stages of the planthoppers *Tarophagous proserpina* and *Nilaparvata lugens*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 99(1): 71-78.
57. Powell K. S., Gatehouse A. M. R., Hilder V. A., Gatehouse J. A., 1993. Antimetabolic effects of plant lectins and plant and fungal enzymes on the nymphal stages of two important rice pests, *Nilaparvata lugens* and *Nephotettix cinciteps*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 66(2): 119-126.
58. Powell K. S., Gatehouse A. M. R., Hilder V. A., Van Damme E. J. M., Peumans W. J., Boonjawat J., Horsham K., Gatehouse J. A., 1995. Different antimetabolic effects of related lectins towards nymphal stages of *Nilaparvata lugens*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 75(1): 61-65.
59. Powell K. S., Spence J., Bharathi M., Gatehouse J. A., Gatehouse A. M. R., 1998. Immunohistochemical and developmental studies to elucidate the mechanism of action of the snowdrop lectin on the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stal). *Journal of Insect Physiology*, 44(7): 529-539.
60. Rahbé Y., Sauvion N. Febvay G., Peumans W. J., Gatehouse A. M. R., 1995. Toxicity of lectins and processing of ingested proteins in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 76(2): 143-155.
61. Rüdiger H., Gabius H. J., 2001. Plant lectins: Occurrence, biochemistry, functions and applications. *Glycoconjugate Journal*, 18(8): 589-613.
62. Sauvion N., Charles H., Febvay G., Rahbé Y., 2004. Effects of jackbean lectin (ConA) on the feeding behaviour and kinetics of intoxication of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 110(1): 31-44.
63. Schachter H., 2009. Paucimannose N-glycans in *Caenorhabditis elegans* and *Drosophila melanogaster*. *Carbohydr Res.*, 344(12): 1391-6.
64. Schaller A., Stintzi A., 2008. Jasmonate Biosynthesis and Signaling for Induced Plant Defense against Herbivory, in *Induced Plant Resistance to Herbivory*, A. Schaller, Editor. Springer Netherlands: 349-366.
65. Shan Q., Wang Y., Li J., Zhang Y., Cheng K., Liang Z., Zhang K., Liu J., Xi J. J., Qiu J. L., 2013. Targeted genome modification of crop plants using a CRISPR-Cas system. *Nature Biotechnology*, 31(8): 686-688.
66. 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.
67. Nguyễn Thị Thịnh, Lê Doãn Diên, Nguyễn Quốc Khang, Phan Huy Bảo, 1983. Kết quả điều tra Lectin ở một số giống đậu ở Việt Nam. *Tạp chí Sinh học*, 5(4): 11-18.

68. Bùi Phương Thuận, 2004. Phát hiện các lectin có khả năng nhận biết một số chủng vi khuẩn gây ngộ độc thực phẩm. Báo cáo Hội nghị toàn quốc "Những vấn đề cơ bản trong Khoa học Sự sống-Định hướng Y dược học", Học viện Quân Y, 165-168.
69. Tsivion Y., Sharon N., 1981. Lipid-mediated hemagglutination and its relevance to lectin-mediated agglutination. *Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-Biomembranes*, 642(2): 336-344.
70. Van Damme E. J. M., 1998. Handbook of plant lectins : properties and biomedical applications. Chichester; New York: Wiley.
71. Van Damme E. J. M., 2008. Plant Lectins as Part of the Plant Defense System Against Insects, in *Induced Plant Resistance to Herbivory*, A. Schaller, Editor. Springer Netherlands: 285-307.
72. Van Damme E. J. M., 2014. History of Plant Lectin Research, in *Lectins*, J. Hirabayashi, Editor. Springer New York. p. 3-13.
73. Van Damme E. J. M., Allen A. K., Peumans W. J., 1987. Leaves of the Orchid Twayblade (*Listera ovata*) Contain a Mannose-Specific Lectin. *Plant Physiology*, 85(2): 566-569.
74. Van Damme E. J. M., Lannoo N., Peumans W. J., 2008. Plant Lectins, in *Advances in Botanical Research*, K. Jean-Claude and D. Michel, Editors. Academic Press. p. 107-209.
75. Van Damme E. J. M., Peumans W. J., Barre A., Rouge P., 1998. Plant Lectins: A Composite of Several Distinct Families of Structurally and Evolutionary Related Proteins with Diverse Biological Roles. *Critical Reviews in Plant Sciences*, 17(6): 575-692.
76. Vandenberghe G., Miersch O., Hause B., Smagghe G., Wastermack C., Van Damme E. J. M., 2009. Spodoptera littoralis-induced lectin expression in tobacco. *Plant Cell Physiol.*, 50(6): 1142-55.
77. Vandenberghe G., Smagghe G., Van Damme E. J. M., 2011. Plant lectins as defense proteins against phytophagous insects. *Phytochemistry*, 72(13): 1538-1550.
78. Vandenberghe G., Van Damme E. J. M., Smagghe G., 2009. Nicotiana tabacum agglutinin expression in response to different biotic challengers. *Arthropod-Plant Interactions*, 3(4): 193-202.
79. Van Parijs J., Joosen H. M., Peumans W. J., Geuns J. M., Van Laere A., 1992. Effect of the *Urtica dioica* agglutinin on germination and cell wall formation of *Phycomyces blakesleeanus* Burgeff. *Archives of Microbiology*, 158(1): 19-25.
80. Wang Y., Cheng X., Shan Q., Zhang Y., Liu J., Gao C., Qiu J. L., 2014. Simultaneous editing of three homoeoalleles in hexaploid bread wheat confers heritable resistance to powdery mildew. *Nat Biotech.*, 32(9): 947-951.
81. Wang W., Hause B., Peumans W. J., Smagghe G., Mackie A., Fraser R., Van Damme E. J. M., 2003. The Tn antigen-specific lectin from ground ivy is an insecticidal protein with an unusual physiology. *Plant Physiol.*, 132(3): 1322-34.
82. Wang Z., Zhang K., Sun X., Tang K., Zhang J., 2005. Enhancement of resistance to aphids by introducing the snowdrop lectin gene into maize plants. *Journal of Biosciences*, 30(5): 627-638.
83. Williams C. E., Collier C. C., Nemacheck J. A., Liang C., Cambron S. E., 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.
84. Xiao Y., Wang K., Ding R., Zhang H., Di P., Chen J., Zhang L., Chen W., 2012. Transgenic tetraploid *Isatis indigotica* expressing Bt Cry1Ac and *Pinellia ternata* agglutinin showed enhanced resistance to moths and aphids. *Mol Biol Rep.*, 39(1): 485-91.
85. Xie K., Yang Y., 2013. RNA-guided genome editing in plants using a CRISPR-Cas system. *Molecular plant*, 6(6): 1975-1983.

86. Yarasi B., Sadumpati V., Immani C., Vudem D., Khareedu V., 2008. Transgenic rice expressing *Allium sativum* leaf agglutinin (ASAL) exhibits high-level resistance against major sap-sucking pests. *BMC Plant Biology*, 8(1): 102.
87. Zhang H. Y., Liu X. Z., Wei L., Zhou L. Y., Yang Y. M., 2007. Transgenic tobacco plants containing Bt and GNA genes. *Biologia Plantarum*, 51(4): 746-748.
88. Zhang W., Peumans W. J., Barre A., Astoul C. H., Rovira P. Rouge P., Proost P. Truffa-Bachi P., Jalali A. A., Van Damme E. J. M., 2000. Isolation and characterization of a jacalin-related mannose-binding lectin from salt-stressed rice (*Oryza sativa*) plants. *Planta*, 210(6): 970-978.
89. Zhangsun D., Luo S., Chen R., Tang K., 2007. Improved *Agrobacterium*-mediated genetic transformation of GNA transgenic sugarcane. *Biologia.*, 62(4): 386-393.
90. Zhu-Salzman K., Luo S., Chen R., Tang K., Carbohydrate binding and resistance to proteolysis control insecticidal activity of *Griffonia simplicifolia* lectin II. *Proc Natl Acad Sci USA.*, 95(25): 15123-15128.
91. Zhu K., Lannoo N., Van Damme E. J. M. , Expression Analysis of Jasmonate-Responsive Lectins in Plants, in *Jasmonate Signaling*, A. Goossens and L. Pauwels, Editors. 2013, Humana Press. p. 251-263.

PLANT LECTINS AND THEIR POTENTIAL IN CONTROLLING PHYTOPHAGOUS INSECTS

Le Thi Ngoc Quynh¹, Chu Duc Ha¹, Nguyen Van Ket², Le Tien Dung¹

¹International Laboratory for Cassava Molecular Breeding (ILCMB), National Key Laboratory of Plant and Cell Technology, Agricultural Genetics Institute

²DaLat University

SUMMARY

Phytophagous insects is one of the major biological constraints in crop production. To cope with continuous threat from insects, plants produce insecticidal peptides or proteins. Plant lectins are carbohydrate binding proteins, one of the most important secondary metabolites which also serve as a defense tool against plant-eating organisms. Although most lectins have moderate effects to development, fecundity or growth of insect, several lectins are highly toxic to insects. In the last decade, many studies reported a role of lectins in pest management. In particular, several plant lectins respond to different kinds of stress such as drought, fire, wounding, high-salinity, hormone treatment and pathogen attack. This group of lectin is called as “inducible plants lectin”. This review summarized recent progresses in research on the application of lectin as a potential approach for integrated pest management.

Keywords: Agglutinin, insecticidal proteins, insect pest management, lectin.

Ngày nhận bài: 3-3-2015