



美洲棉铃虫幼虫腹侧可外翻腺分泌物 对番茄抗虫反应的影响

潘秦剑^{1,2} 陈 林³ Michelle Peiffer² Gary W. Felton² 刘同先^{1*}

(1. 西北农林科技大学植物保护学院, 陕西 杨凌 712100; 2. 美国宾夕法尼亚州立大学帕克分校昆虫系, 宾夕法尼亚州 16802; 3. 浙江大学昆虫科学研究所, 杭州 310058)

摘要:为明确美洲棉铃虫 *Helicoverpa zea* 幼虫腹侧可外翻腺(ventral eversible gland, VEG)分泌物对植物抗虫反应的影响,在宾夕法尼亚州立大学帕克分校校园日光温室大棚内分别测定取食未损伤、机械损伤后涂抹磷酸缓冲盐溶液(phosphate buffer saline, PBS)和机械损伤后涂抹 VEG 分泌物 3 种处理的番茄叶片后美洲棉铃虫幼虫体重增加量,不同处理番茄叶片中防御关键酶多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)活性、胰蛋白酶抑制剂(trypsin proteinase inhibitors, TPI)抑制率以及防御相关的蛋白酶抑制剂 II(proteinase inhibitor II, *PIN2*)基因相对表达量。结果显示,3 种处理中,取食机械损伤后涂抹 VEG 分泌物的番茄叶片的美洲棉铃虫幼虫体重较处理前增加量最少,为 4.27 mg,显著低于其它 2 种处理;机械损伤后涂抹 VEG 分泌物的番茄叶片中 PPO 活性和 TPI 抑制率最高,分别为 109.16 U/mg 和 27.48%,分别显著高于其它 2 种处理;同时机械损伤后涂抹 VEG 分泌物的番茄叶片中 *PIN2* 基因相对表达量显著上调,分别是未损伤和机械损伤后涂抹 PBS 缓冲液处理的 11.83 倍和 1.17 倍。表明美洲棉铃虫幼虫 VEG 分泌物能够促使防御关键酶的大量积累,使得防御相关基因的相对表达量上调,显著诱导番茄的抗虫反应,阻止后续昆虫的取食。

关键词: 番茄; 美洲棉铃虫; 腹侧可外翻腺; 抗虫反应

Effects of ventral eversible gland secretions of American cotton bollworm *Helicoverpa zea* caterpillars on anti-herbivore responses in tomato

Pan Qinjian^{1,2} Chen Lin³ Michelle Peiffer² Gary W. Felton² Liu Tongxian^{1*}

(1. College of Plant Protection, Northwest A&F University, Yangling 712100, Shaanxi Province, China; 2. Department of Entomology, Pennsylvania State University, University Park, Pennsylvania 16802, USA; 3. Institute of Insect Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, Zhejiang Province, China)

Abstract: To explore the effect of secretions from the ventral eversible gland (VEG) of American cotton bollworm *Helicoverpa zea* caterpillars on plant anti-herbivore responses, tomato plants were used as the experimental materials and three plant damage treatments were set to compare the differences of caterpillar weight gain, defensive key enzymes of polyphenol oxidase (PPO), inhibition rate of trypsin proteinase inhibitors (TPI) and relative gene (proteinase inhibitor II, *PIN2*) expressions in tomato leaflets including undamaged, mechanical wounding with application of phosphate buffer saline (PBS) and mechanical wounding with application of VEG secretions in the greenhouse of Pennsylvania State University, University Park. The results showed that the application of VEG secretions significantly decreased caterpillar weight gain with 4.27 mg, which was significantly lower than caterpillars that fed on leaflets

基金项目: 国家自然科学基金(31772533), U.S. National Science Foundation(IOS-1645548)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: txliu@nwafu.edu.cn

收稿日期: 2019-04-08

which were undamaged and mechanical wounding with application of PBS, respectively; the application of VEG secretions significantly increased the accumulation of PPO with 109.16 U/mg and inhibition rate of TPI with 27.48% and up-regulated the expression of *PIN2* in tomato leaflets; which were 11.83 or 1.17 times higher than that in tomato leaflets undamaged or mechanically wounded with application of PBS. Taken together, VEG secretions of *H. zea* caterpillars were capable to accumulate plant defense related key enzymes, up-regulate plant defense related genes, significantly trigger plant anti-herbivore defenses and retard the subsequent caterpillars.

Key words: tomato; *Helicoverpa zea*; ventral eversible gland; anti-herbivore defense

在与植食性昆虫长达上亿年的协同进化过程中,植物进化出了一套精准复杂的防御体系(禹海鑫等, 2015; Erb & Reymond, 2019; Pan et al., 2019a)。植食性昆虫连续不断地取食会对植物造成一系列的机械损伤,同时会将口腔分泌物分泌到被取食的植物部位(Schaller, 2008; Hilker & Meiners, 2010; Bricchi et al., 2013)。当植物感受到植食性昆虫取食过程中分泌的化学信号物质时,会启动相应的防御反应(Walling, 2009; Hogenhout & Bos, 2011)。因为植物启动防御反应会消耗自身的能量资源,所以正确区分昆虫取食和机械损伤不仅能避免植物自身能量的浪费,也有利于植物采取正确有效的防御措施(秦秋菊和高希武, 2005; Erb & Reymond, 2019)。

昆虫口腔分泌物作为影响植物正确区分昆虫取食为害和机械损伤的重要信号物质,成为近几年的研究热点(Felton & Tumlinson, 2008; Acevedo et al., 2015)。Reymond et al. (2004)和Wu et al. (2007)研究表明植物能正确分辨昆虫取食为害和机械损伤对其造成的伤害,并启动相应的防御反应,如被西花蓟马 *Frankliniella occidentalis* 取食为害后的番茄叶片中的次生代谢物质含量显著高于机械损伤处理的番茄叶片(蒲恒浒等, 2018); Halitschke et al. (2003)和Maffei et al. (2004)研究表明植物通过识别昆虫口腔分泌物中的效应因子来区别昆虫取食和机械损伤。当感受到昆虫口腔分泌物,植物会产生信号分子来诱导植物防御相关基因的表达量上调,使其产生特定的防御性蛋白或酶(张羽宇等, 2017),致使昆虫取食该叶片组织后消化能力降低,影响其生长发育(Wang et al., 2017)。多酚氧化酶(polyphenol oxidase, PPO)和胰蛋白酶抑制剂(trypsin proteinase inhibitors, TPI)广泛存在于植物体内,是茉莉酸(jasmonic acid, JA)信号转导途径的重要产物,在植物抵御植食性昆虫和病原体入侵方面扮演着重要角色(Cao et al., 2014; 赵显阳等, 2018; Pan et al., 2019a),其大量累积会影响昆虫消化酶的活性,破坏昆虫肠

道的消化吸收功能,影响昆虫对植物叶片营养物质的摄取,保护植物免受害虫的侵害(Felton, 2005; Cao et al., 2014)。蛋白酶抑制 II (proteinase inhibitor II, *PIN2*) 基因是 JA 信号途径的晚期表达基因(Howe, 2004),咀嚼式口器昆虫为害能够诱导 *PIN2* 基因的过量表达,该基因是监测植物诱导抗虫防御反应的标志基因之一。如科罗拉多马铃薯甲虫 *Leptinotarsa decemlineata* 取食诱导番茄叶片后,番茄叶片中 *PIN2* 基因的表达量上调, PPO 活性和 TPI 抑制率上升,科罗拉多马铃薯甲虫幼虫的生长速率下降(Chung & Felton, 2011); 在小麦叶片上喷施茉莉酸甲酯后,小麦叶片中 PPO 活性和 TPI 抑制率均显著上升,蚜虫对寄主的偏好性降低(Cao et al., 2014)。

鳞翅目昆虫的口腔分泌物包括来自中肠和前肠的口腔回流物、下颚和唇腺分泌的唾液以及腹侧可外翻腺(ventral eversible gland, VEG)分泌物(Musser et al., 2006; Schaller, 2008; Zebelo & Maffei, 2012)。由于 VEG 的表皮导管能伸长至下颚部位,当昆虫取食植物叶片时,VEG 可外翻的表皮导管会伸出并抵达被取食的叶片组织部位,将 VEG 分泌物、唾液和口腔回流物一起分泌到被取食部位(Bhonwong et al., 2009; Zebelo & Maffei, 2012),植物细胞感受到这些分泌物中的激发因子后便启动相应的防御反应程序(Acevedo et al., 2015)。根据 VEG 的结构和作用方式,Zebelo & Maffei (2012)指出昆虫的 VEG 分泌物可能含有能够激发植物防御反应的诱导子,并印证了该假设的正确性。虽然 VEG 分泌物与植物的诱导抗虫反应有关(Zebelo & Maffei, 2012; Zebelo et al., 2014),但是 VEG 分泌物诱导植物防御反应方面的研究较少。体重是衡量昆虫生长发育状况的重要指标,能够反映寄主植物的营养、生长环境的重要因素(Pan et al., 2014; 成小芳等, 2017)。为明确 VEG 分泌物对植物抗虫性的影响,本研究拟采用在植物防御反应方面已经体系化

的番茄-美洲棉铃虫 *Helicoverpa zea* 系统进行研究,番茄叶片分别进行未损伤、机械损伤后涂抹PBS缓冲液和机械损伤后涂抹VEG分泌物3种处理,测定取食3种处理番茄叶片后美洲棉铃虫幼虫的体重增加量,对比3种不同处理番茄叶片中2种防御关键酶PPO和TPI的累积量,比较3种不同处理番茄叶片中防御相关基因 *PIN2* 相对表达量的变化,以期为深入研究VEG分泌物在植物与昆虫互作中的作用提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试昆虫和植物:美洲棉铃虫卵购于美国特拉华州纽瓦克市前言农业科学公司,幼虫期用人工饲料进行饲喂,卵和幼虫均置于温度25℃、相对湿度(65±1)%、光周期16 L:8 D的人工气候箱中饲养,待幼虫长至5龄幼虫后用于试验。番茄品种为Better Boy,种子于美国亚马逊购物网站购买。

试剂、肥料及仪器:牛胰蛋白酶、 α -对甲苯磺酰基-L-精氨酸甲酯盐酸盐、氯化钙、咖啡酸,美国Sigma-Aldrich公司;聚乙烯吡咯烷酮,美国Alfa Aesar公司;高产cDNA反转录试剂盒,美国Applied Biosystems公司;FastStart Universal SYBR Green Master Mix,德国Roche Applied Science公司;GoTaq® Green Master Mix,美国Promega公司;其它试剂均为美国产分析纯。奥绿肥,美国Scotts公司。SpectraMax 190多功能酶标仪,美国Molecular Devices公司;GenoGrinder 2000研磨机,美国SPEX SamplePrep公司;7500 Fast Real-Time PCR System,美国Applied Biosystems公司;SZ51立体显微镜,日本Olympus公司;移液器吸头,美国VWR Corp公司;I-36VL光照生物培养箱,美国Percival公司。

1.2 方法

1.2.1 美洲棉铃虫幼虫VEG分泌物的制备

随机选取10头大小一致的美洲棉铃虫5龄幼虫,冰上放置20 min,使其失去活动能力,用发夹逐一将其身体和头部固定在泡沫板上,待VEG表皮导管伸出后,在显微镜下用100 μ L移液器吸头通过毛细管作用在其尖端收集VEG分泌物,10头幼虫约收集5 μ L VEG分泌物,存储于装有0.1 mol/L pH 7.0 PBS缓冲液20 μ L的1.5 mL离心管中,为1个样品,总共收集25个样品。

1.2.2 美洲棉铃虫幼虫体重变化的测定

试验于2017年9月在位于宾夕法尼亚州立大学

帕克分校校园的日光温室大棚中进行,日光温室大棚长12 m,跨度8 m,脊高3.4 m,日光温室大棚内温度为25℃,相对湿度为(65±1)%,光周期为16 L:8 D。在直径13 cm的花盆中播种3粒番茄种子,10 d后移除多余的番茄苗,每个花盆中留1株番茄苗,所有番茄苗大小一致,将花盆置于日光温室大棚内培养;播种20 d后每株番茄苗施2 g奥绿肥,选取长势一致、具有4片完全展开叶片的番茄苗,取其第4片叶片分别进行未损伤、机械损伤后涂抹PBS缓冲液和机械损伤后涂抹VEG分泌物3种处理,每种处理重复10次。未损伤处理:叶片不做任何处理;机械损伤后涂抹PBS缓冲液处理:用1个尖端剪去1 cm的30 μ L移液器吸头在每片番茄叶片主叶脉距叶柄尖端1 cm处打1个直径约为0.6 mm小孔,并立即涂抹0.1 mol/L pH 7.0 PBS缓冲液20 μ L;机械损伤后涂抹VEG分泌物处理:用1个尖端剪去1 cm的30 μ L移液器吸头在每片番茄叶片主叶脉距叶柄尖端1 cm处打1个直径约为0.6 mm小孔,并立即涂抹1个25 μ L VEG分泌物样品。处理48 h后,剪下每种处理所有处理过的番茄叶片,将其分别放入含有1 mL 1%琼脂的30 mL果冻杯中,每个果冻杯中接入1头4日龄美洲棉铃虫2龄幼虫,称量其体重,取食4 d后,称量每头幼虫的体重,计算每头幼虫体重增加量。体重增加量=处理后体重-处理前体重。

1.2.3 不同处理番茄叶片中防御关键酶活性的测定

番茄苗种植及番茄叶片的处理方法同1.2.2。处理48 h后,分别自每种处理所有处理过的番茄叶片上剪取50 mg叶片组织,放入2 mL离心管中,迅速将离心管放入液氮中速冻,取出后置于-80℃冰箱中保存,用于防御关键酶活性的测定。

PPO活性的测定:每种处理分别取50 mg冷冻的叶片组织,用研磨机研磨后置于离心管中,向离心管中加入含62.5 mg聚乙烯吡咯烷酮的0.1 mol/L pH 7.0磷酸钾缓冲液1.25 mL,充分混匀,于冰上静置5 min,于4℃、11 000 g下离心10 min。每个样品用微量移液器取5 μ L上清液置于96孔板中,以不加样品为对照,每个孔中提前加入含3 mmol/L pH 7.0咖啡酸的0.1 mol/L磷酸钾缓冲液200 μ L,充分混匀后,将96孔板放入多功能酶标仪中,在450 nm波长下测定吸光值,每种处理重复5次。PPO活性以番茄叶片组织鲜重计算,单位为U/mg。

TPI抑制率的测定:每种处理取50 mg冷冻的叶片组织,用研磨机研磨后置于离心管中,向离心管中加入含62.5 mg聚乙烯吡咯烷酮和1.6 mg CaCl_2 的

0.046 mol/L pH 7.0 Tris-盐酸缓冲液 1.25 mL, 充分混匀, 于冰上静置 10 min, 于 4℃、11 000 g 下离心 10 min。每个样品用微量移液器取 10 μL 上清液置于 96 孔板中, 以不加样品为对照, 每个孔中分别加入 0.046 mol/L Tris-盐酸缓冲液 80 μL 和工作浓度的胰蛋白酶溶液 10 μL, 室温下静置 10 min 后, 向每个孔的混合液中分别加入含 2 mmol/L pH 7.0 $N\alpha$ -对甲苯磺酰基-L-精氨酸甲酯盐酸盐的 0.046 mol/L Tris-盐酸缓冲液 100 μL, 充分混合后, 将 96 孔板放入多功能酶标仪中, 在 247 nm 波长下测定吸光值, 每种处理重复 6 次。工作浓度的胰蛋白酶溶液是将 1 mg 牛胰蛋白酶溶解到 1 mL 的 1 mmol/L Tris-盐酸缓冲液中。TPI 抑制率 = (1 - 样品吸光度 / 对照吸光度) × 100%。

1.2.4 不同处理番茄叶片中 *PIN2* 基因相对表达量

番茄苗种植及番茄叶片的处理方法同 1.2.2。处理 24 h 后, 分别自每种处理所有处理过的番茄叶片上剪取 100 mg 叶片组织, 放入 2 mL 离心管中, 迅速将离心管放入液氮中速冻, 取出后置于 -80℃ 冰箱中保存, 备用。每种处理取 100 mg 冷冻的叶片组织, 参照 Chung et al. (2013) 方法提取叶片组织 RNA, 按照高产量 cDNA 反转录试剂盒说明书进行反转录, cDNA 于 -20℃ 冰箱中保存。番茄防御相关基因 *PIN2* 的特异性引物序列 (F/R: 5'-GGATTAGCG-GACTTCCTTCTG-3'/5'-ATGCCA-AGGCTTGAC-TAGAGAATG-3') 和内部参照基因番茄泛素的引物序列 (F/R: 5'-GCCAAGATCCAGGACAAGGA-3'/5'-GCTGCTTTCCGCGCAAA-3') 参照 Pan et al. (2019b),

按照 GoTaq® Green Master Mix 操作说明使用 7500 Fast Real-Time PCR System 进行实时荧光定量 PCR 扩增。25 μL 扩增体系: GoTaq® Green Master Mix 12.5 μL、正反向引物各 1 μL、cDNA 模板 2 μL, 加水至 25 μL。扩增程序: 94℃ 预变性 3 min; 94℃ 变性 1 min, 55℃ 退火 1 min, 72℃ 延伸 3 min, 循环 30 次; 72℃ 延伸 10 min; 4℃ 保存并退出程序。每种处理重复 4 次计算循环阈值 (cycle threshold, C_T) 的平均数和标准差, 根据 $2^{-\Delta\Delta C_T}$ 法 (Livak & Schmittgen, 2001) 分析 3 种不同处理番茄叶片中 *PIN2* 基因的相对表达量, *PIN2* 基因相对表达量的结果进行 $\log_{10}$ 转换。

1.3 数据分析

试验数据采用 SPSS19.0 软件进行数据统计, 应用 Duncan 氏新复极差法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 VEG 分泌物对美洲棉铃虫体重的影响

取食 3 种处理番茄叶片前美洲棉铃虫幼虫体重之间无显著差异 ($F_{2,27}=1.09, P=0.35$); 取食未损伤、机械损伤后涂抹 PBS 缓冲液和机械损伤后涂抹 VEG 分泌物番茄叶片 4 d 后, 美洲棉铃虫幼虫的体重分别为 14.55、11.43 和 8.13 mg, 三者之间差异显著 ($F_{2,27}=50.57, P<0.001$); 美洲棉铃虫幼虫体重增加量分别为 10.99、7.77 和 4.27 mg, 三者之间差异显著 ($F_{2,27}=59.93, P<0.001$, 表 1), 其中取食未损伤番茄叶片的美洲棉铃虫幼虫体重增加量最多, 取食机械损伤后涂抹 VEG 分泌物番茄叶片的美洲棉铃虫幼虫体重增加量最少。

表 1 取食不同处理番茄叶片的美洲棉铃虫幼虫的体重增加量

Table 1 Weight gain of *Helicoverpa zea* caterpillars fed on tomato leaflets with different treatments

处理 Treatment	处理前体重 (mg) Weight before treatment	处理后体重 (mg) Weight after treatment	体重增加量 (mg) Weight gain
未损伤 Undamaged	3.56±0.12 a	14.55±0.60 c	10.99±0.56 c
机械损伤后涂抹 PBS 缓冲液 Mechanical wounding with PBS buffer	3.66±0.20 a	11.43±0.45 b	7.77±0.44 b
机械损伤后涂抹 VEG 分泌物 Mechanical wounding with VEG secretion	3.86±0.08 a	8.13±0.22 a	4.27±0.23 a

表中数据为平均数±标准误。同列不同字母表示经 Duncan 氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SE. Different letters in the same column indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

2.2 VEG 分泌物对番茄防御关键酶活性的影响

未损伤、机械损伤后涂抹 PBS 缓冲液和机械损伤后涂抹 VEG 分泌物 3 种处理番茄叶片中防御关键酶 PPO 活性 ($F_{2,12}=155.39, P<0.001$, 图 1-A) 和 TPI

抑制率 ($F_{2,15}=26.04, P<0.001$, 图 1-B) 之间显著差异。机械损伤后涂抹 VEG 分泌物的番茄叶片中 PPO 活性最高, 机械损伤后涂抹 PBS 缓冲液的番茄叶片中 PPO 活性次之, 未损伤的番茄叶片中 PPO 活性最

低,分别为109.16、38.30和15.43 U/mg。3种处理番茄叶片中TPI抑制率与PPO活性趋势相同,机械损伤后涂抹VEG分泌物的番茄叶片中TPI抑制率

最高,机械损伤后涂抹PBS缓冲液的番茄叶片中TPI抑制率次之,未损伤的番茄叶片中TPI抑制率最低,分别为27.48%、13.42%和4.79%。

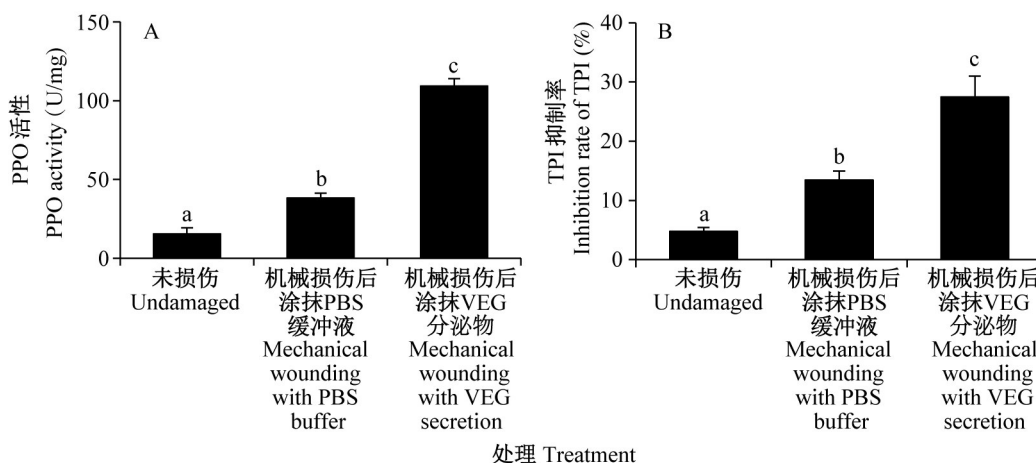


图1 不同处理番茄叶片中防御关键酶PPO活性(A)和TPI抑制率(B)

Fig. 1 Activity of defensive key enzymes PPO (A) and inhibition rate of TPI (B) in tomato leaflets with different treatments

图中数据为平均数±标准误。不同字母表示经Duncan氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SE. Different letters on the bars indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

2.3 VEG分泌物对番茄PIN2基因相对表达量的影响

未损伤、机械损伤后涂抹PBS缓冲液和机械损伤后涂抹VEG分泌物3种处理番茄叶片中防御相关基因PIN2相对表达量之间存在显著差异($F_{2,9}=305.76$, $P<0.001$, 图2), 其中机械损伤后涂抹VEG分泌物的番茄叶片中PIN2基因的相对表达量最高, 分别是未损伤和机械损伤后涂抹PBS缓冲液的番茄叶片的11.83倍和1.17倍。

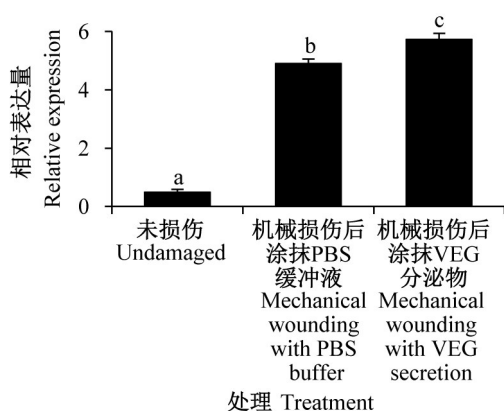


图2 不同处理番茄叶片中PIN2基因的相对表达量

Fig. 2 Relative expressions of PIN2 gene in tomato leaflets with different treatments

图中数据为平均数±标准误。不同字母表示经Duncan氏新复极差法检验在 $P<0.05$ 水平差异显著。Data are mean±SE. Different letters on the bars indicate significant difference at $P<0.05$ level by Duncan's new multiple range test.

3 讨论

本研究结果显示,与其它2种处理相比,取食机械损伤后涂抹VEG分泌物番茄叶片的美洲棉铃虫幼虫体重显著增加,机械损伤后涂抹VEG分泌物的番茄叶片中防御关键酶PPO活性和TPI抑制率以及防御相关基因PIN2相对表达量显著升高,表明美洲棉铃虫幼虫VEG分泌物中含有能够诱导番茄抗虫防御反应的激发因子。PPO和TPI是JA信号途径的标志性蛋白,在植物抵御植食性昆虫和病原体入侵方面扮演着重要角色(Pan et al., 2019a, b)。机械损伤后涂抹VEG分泌物的番茄叶片中PPO活性和TPI抑制率显著升高,表明番茄的JA信号途径被美洲棉铃虫幼虫的VEG分泌物激活(徐伟和严善春, 2005)。当寄主植物识别到害虫为害后,会启动相应的防御机制,包括植物体内一系列防御性蛋白的变化和有毒物质积累,其中PPO活性通过结合植物组织中的蛋白质亲和基团来阻止昆虫摄取有营养价值的蛋白质(Felton et al., 1989),TPI能结合昆虫的消化酶来阻止昆虫对植物组织中蛋白质的吸收,叶片中防御性蛋白的大量积累会导致昆虫的消化能力降低,生长发育受阻(Wang et al., 2017; Pan et al., 2019a)。因此取食机械损伤后涂抹VEG分泌物的番茄叶片的美洲棉铃虫幼虫体重增加量最少。同样,科罗拉多马铃薯甲虫取食为害番茄叶片后,诱导

番茄叶片中防御关键酶PPO活性和TPI抑制率增加,导致科罗拉多马铃薯甲虫幼虫的生长速率下降(Chung & Felton, 2011);喷施茉莉酸甲酯后小麦叶片中PPO活性和TPI抑制率显著增加,致使蚜虫对小麦的偏好性降低(Cao et al., 2014);草地贪夜蛾*Spodoptera frugiperda*的唾液能诱导百慕大草积累大量的TPI,取食涂抹草地贪夜蛾唾液的百慕大草后,草地贪夜蛾幼虫体重增加量下降(Acevedo et al., 2018)。

植物防御相关的信号途径处于警备状态,一旦被相关的激发因子激活,防御相关基因表达迅速上调,使得防御性蛋白大量积累,植物的防御反应被诱导激活(焦龙等, 2018)。本研究结果显示机械损伤后涂抹VEG分泌物处理可使番茄叶片中PIN2基因的相对表达量上调, PIN2基因是植物防御反应JA信号途径的标志基因,表明美洲棉铃虫VEG分泌物可诱导番茄的抗虫防御反应。如Korth & Dixon (1997)发现烟草天蛾*Manduca sexta*的口腔回流物能激发马铃薯PIN2基因的表达; Tian et al. (2012)研究表明美洲棉铃虫的唾液能激活番茄JA信号途径,诱导基因PIN2的相对表达量上调,但其口腔回流物不会诱导PIN2基因上调; Zebelo & Maffei (2012)报道灰翅夜蛾*S. littoralis*取食拟南芥时,拟南芥叶片积累大量钙离子和过氧化氢,开启早期感受信号的传导并启动JA信号转导途径; Zebelo et al. (2014)研究结果表明甜菜夜蛾*S. exigua*的VEG分泌物能诱导番茄防御相关酶活性增强,同时使植物防御反应相关的一系列基因相对表达量上调,并产生能吸引天敌的挥发性气味化合物。此外, Maffei et al. (2004)研究结果表明昆虫口腔分泌物是诱导植物防御反应的重要影响因素。

目前, VEG分泌物在介导植物防御反应方面的研究处于起步阶段, VEG分泌物中起主要作用的活性物质成分、不同种昆虫以及取食不同寄主植物的昆虫VEG分泌物的组分差异以及其普遍适应性等问题尚不清楚,有待进一步研究。

参 考 文 献 (References)

- Acevedo FE, Peiffer M, Ray S, Meagher R, Luthe DS, Felton GW. 2018. Intraspecific differences in plant defense induction by fall armyworm strains. *New Phytologist*, 218(1): 310–321
- Acevedo FE, Rivera-Vega LJ, Chung SH, Ray S, Felton GW. 2015. Cues from chewing insects—the intersection of DAMPs, HAMPs, MAMPs and effectors. *Current Opinion in Plant Biology*, 26: 80–86
- Bhonwong A, Stout MJ, Attajarusit J, Tantasawat P. 2009. Defensive role of tomato polyphenol oxidases against cotton bollworm (*Helicoverpa armigera*) and beet armyworm (*Spodoptera exigua*). *Journal of Chemical Ecology*, 35(1): 28–38
- Bricchi I, Occhipinti A, Berteaux CM, Zebelo SA, Brillada C, Verrillo F, De Castro C, Molinaro A, Faulkner C, Maule AJ. 2013. Separation of early and late responses to herbivory in *Arabidopsis* by changing plasmodesmal function. *The Plant Journal*, 73(1): 14–25
- Cao HH, Wang SH, Liu TX. 2014. Jasmonate- and salicylate-induced defenses in wheat affect host preference and probing behavior but not performance of the grain aphid, *Sitobion avenae*. *Insect Science*, 21(1): 47–55
- Cheng XF, Zhang YW, Zhang XH. 2017. Effects of insect-resistant mung bean on development and activities of several enzymes of Chinese bean weevil *Callosobruchus chinensis* L. (Coleoptera: Bruchidae). *Journal of Plant Protection*, 44(3): 420–426 (in Chinese) [成小芳, 张耀文, 张仙红. 2017. 抗虫绿豆对绿豆象生长发育及体内几种酶活性的影响. *植物保护学报*, 44(3): 420–426]
- Chung SH, Felton GW. 2011. Specificity of induced resistance in tomato against specialist lepidopteran and coleopteran species. *Journal of Chemical Ecology*, 37: 378
- Chung SH, Rosa C, Scully ED, Peiffer M, Tooker JF, Hoover K, Luthe DS, Felton GW. 2013. Herbivore exploits orally secreted bacteria to suppress plant defenses. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 110(39): 15728–15733
- Erb M, Reymond P. 2019. Molecular interactions between plants and insect herbivores. *Annual Review of Plant Biology*, 70: 4.1–4.31
- Felton GW. 2005. Indigestion is a plant's best defense. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 102(52): 18771–18772
- Felton GW, Donato K, Del Vecchio RJ, Duffey SS. 1989. Activation of plant foliar oxidases by insect feeding reduces nutritive quality of foliage for noctuid herbivores. *Journal of Chemical Ecology*, 15(12): 2667–2694
- Felton GW, Tumlinson JH. 2008. Plant-insect dialogs: complex interactions at the plant-insect interface. *Current Opinion in Plant Biology*, 11(4): 457–463
- Halitschke R, Gase K, Hui DQ, Schmidt DD, Baldwin IT. 2003. Molecular interactions between the specialist herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera, Sphingidae) and its natural host *Nicotiana attenuata*. VI. Microarray analysis reveals that most herbivore-specific transcriptional changes are mediated by fatty acid-amino acid conjugates. *Plant Physiology*, 131(4): 1894–1902
- Hilker M, Meiners T. 2010. How do plants “notice” attack by herbivorous arthropods? *Biological Reviews*, 85(2): 267–280
- Hogenhout SA, Bos JIB. 2011. Effector proteins that modulate plant-insect interactions. *Current Opinion in Plant Biology*, 14(4): 422–428
- Howe GA. 2004. Jasmonates as signals in the wound response. *Journal*

- of Plant Growth Regulation, 23(3): 223–237
- Jiao L, Cai XM, Bian L, Luo ZX, Li ZQ, Xin ZJ, Chen ZM. 2018. Jasmonates: from induced plant anti-herbivore defensive reaction to growth-defense tradeoffs. Chinese Journal of Applied Ecology, 29(11): 3876–3890 (in Chinese) [焦龙, 蔡晓明, 边磊, 罗宗秀, 李兆群, 辛肇军, 陈宗懋. 2018. 茉莉酸类化合物: 从植物的诱导抗虫防御反应到生长-防御权衡. 应用生态学报, 29(11): 3876–3890]
- Korth KL, Dixon RA. 1997. Evidence for chewing insect-specific molecular events distinct from a general wound response in leaves. Plant Physiology, 115(4): 1299–1305
- Livak KJ, Schmittgen TD. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method. Methods, 25(4): 402–408
- Maffei M, Bossi S, Spiteller D, Mithofer A, Boland W. 2004. Effects of feeding *Spodoptera littoralis* on lima bean leaves. I. membrane potentials, intracellular calcium variations, oral secretions, and regurgitate components. Plant Physiology, 134(4): 1752–1762
- Musser RO, Farmer E, Peiffer M, Williams SA, Felton GW. 2006. Ablation of caterpillar labial salivary glands: technique for determining the role of saliva in insect-plant interactions. Journal of Chemical Ecology, 32(5): 981–992
- Pan QJ, Chen L, Lin XL, Ridsdill-Smith TJ, Liu TX. 2014. Geographical variations in life histories of *Plutella xylostella* in China. Journal of Pest Science, 87(4): 659–670
- Pan QJ, Shikano I, Hoover K, Liu TX, Felton GW. 2019a. Pathogen-mediated tritrophic interactions: baculovirus-challenged caterpillars induce higher plant defenses than healthy caterpillars. Journal of Chemical Ecology, 45(5/6): 515–524
- Pan QJ, Shikano I, Hoover K, Liu TX, Felton GW. 2019b. *Enterobacter ludwigii*, isolated from the gut microbiota of *Helicoverpa zea*, promotes tomato plant growth and yield without compromising anti-herbivore defenses. Arthropod-Plant Interactions, 13: 271–278
- Pu HH, Zhi JR, Yue WB, Zeng G. 2018. Effects of thrips feeding, mechanical wounding and induction by exogenous substances on the secondary metabolites of tomato plants and the activities of detoxifying enzymes in *Frankliniella occidentalis*. Journal of Plant Protection, 45(5): 1035–1043 (in Chinese) [蒲恒浒, 郑军锐, 岳文波, 曾广. 2018. 西花蓟马取食、机械损伤和外源物质诱导对番茄植株次生物质及西花蓟马解毒酶的影响. 植物保护学报, 45(5): 1035–1043]
- Qin QJ, Gao XW. 2005. Plant defense responses induced by insect herbivory. Acta Entomologica Sinica, 48(1): 125–134 (in Chinese) [秦秋菊, 高希武. 2005. 昆虫取食诱导的植物防御反应. 昆虫学报, 48(1): 125–134]
- Reymond P, Bodenhausen N, van Poecke RM, Krishnamurthy V, Dicke M, Farmer EE. 2004. A conserved transcript pattern in response to a specialist and a generalist herbivore. The Plant Cell, 16(11): 3132–3147
- Schaller A. 2008. Induced plant resistance to herbivory. Dordrecht: Springer, pp. 369–387
- Tian D, Peiffer M, Shoemaker E, Tooker J, Haubruge E, Francis F, Luthe DS, Felton GW. 2012. Salivary glucose oxidase from caterpillars mediates the induction of rapid and delayed-induced defenses in the tomato plant. PLoS ONE, 7(4): e36168
- Walling LL. 2009. Adaptive defense responses to pathogens and insects. Advances in Botanical Research, 51: 551–612
- Wang J, Peiffer M, Hoover K, Rosa C, Zeng R, Felton GW. 2017. *Helicoverpa zea* gut-associated bacteria indirectly induce defenses in tomato by triggering a salivary elicitor(s). New Phytologist, 214(3): 1294–1306
- Wu J, Hettenhausen C, Meldau S, Baldwin IT. 2007. Herbivory rapidly activates MAPK signaling in attacked and unattacked leaf regions but not between leaves of *Nicotiana attenuata*. The Plant Cell, 19(3): 1096–1122
- Xu W, Yan SC. 2005. The function of jasmonic acid in induced plant defence. Acta Ecologica Sinica, 25(8): 2074–2082 (in Chinese) [徐伟, 严善春. 2005. 茉莉酸在植物诱导防御中的作用. 生态学报, 25(8): 2074–2082]
- Yu HX, Ye WF, Sun MQ, Xu N, Lou SZ, Ran JX, Lou YG. 2015. Three levels of defense and anti-defense responses between host plants and herbivorous insects. Chinese Journal of Ecology, 34(1): 256–262 (in Chinese) [禹海鑫, 叶文丰, 孙民琴, 徐宁, 娄少之, 冉俊祥, 娄永根. 2015. 植物与植食性昆虫防御与反防御的三个层次. 生态学杂志, 34(1): 256–262]
- Zebelo S, Piorkowski J, Disi J, Fadamiro H. 2014. Secretions from the ventral eversible gland of *Spodoptera exigua* caterpillars activate defense related genes and induce emission of volatile organic compounds in tomato, *Solanum lycopersicum*. BMC Plant Biology, 14: 140
- Zebelo SA, Maffei ME. 2012. The ventral eversible gland (VEG) of *Spodoptera littoralis* triggers early responses to herbivory in *Arabidopsis thaliana*. Arthropod-Plant Interactions, 6(4): 543–551
- Zhang YY, Zhi JR, Liu Y, Ye M. 2017. Effects of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) infestation on the expression of defensive genes in leaves at different parts of kidney bean plant. Acta Entomologica Sinica, 60(1): 1–8 (in Chinese) [张羽宇, 郑军锐, 刘勇, 叶茂. 2017. 西花蓟马取食对菜豆不同取食部位叶片防御基因表达的影响. 昆虫学报, 60(1): 1–8]
- Zhao XY, Pan LY, Chen M, Fu YQ, Xiang ML, Zeng XC. 2018. Inductive effect of methyl jasmonate to bacterial wilt and the effects on the activities of antioxidant enzymes in pepper seedlings. Journal of Plant Protection, 45(5): 1103–1111 (in Chinese) [赵显阳, 盘柳依, 陈明, 付永琦, 向妙莲, 曾晓春. 2018. 茉莉酸甲酯对辣椒抗青枯病的诱导效应及抗氧化酶活性的影响. 植物保护学报, 45(5): 1103–1111]

(责任编辑:张俊芳)