

蚜虫诱导的植物免疫反应

袁 亮^{1, 2**} 郭慧娟² 孙玉诚² 肖铁光^{1***} 戈 峰²

(1. 湖南农业大学植物保护学院, 长沙 410128; 2. 中国科学院动物研究所农业虫害鼠害综合治理国家重点实验室, 北京 100101)

摘 要 在植物与昆虫长期的互作过程中, 植物建立起一系列精密而又复杂的防御机制以应对昆虫取食为害, 并且能够识别不同取食类型昆虫的效应因子作出不同的防御应答。最近研究揭示了许多植物与蚜虫之间相互抗争的分子机制, 这不仅包括植物激素介导的诱导防御途径、植物先天免疫系统和基于 gene-for-gene 的 R 抗性识别和作用机制, 而且还包括蚜虫在取食过程中分泌的唾液成分, 它有助于蚜虫取食韧皮部组织, 抑制植物病原相关分子模式激活的免疫反应 (Pathogen-associated molecular patterns triggered immunity, PTI) 防御, 以及被植物核苷酸结合位点区-亮氨酸重复序列区 (NBS-LRR) 膜受体识别激活效应因子免疫反应 (ETI) 防御等方面。本文综述了蚜虫诱导的植物防御途径、蚜虫诱导的植物免疫反应、蚜虫效应因子的鉴定与功能分析三方面的最近研究进展, 提出了未来发展的研究方向。这些基于病原微生物提出的 “zig-zag” 模型为进一步理解植物先天免疫、诱导防御系统和蚜虫唾液腺组分的互作提供新理论支撑, 为揭示了植物与蚜虫抗性互作的分子机制及有效安全地防治害虫提供了新思路。

关键词 蚜虫, 水杨酸, zigzag 模型, R 基因, NB-LRR, 效应因子, 唾液腺, 免疫反应

Plant immunity responses to aphid

YUAN Liang^{1,2**} GUO Hui-Juan² SUN Yu-Cheng² XIAO Tie-Guang^{1***} GE Feng²

(1. College of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, China; 2. State Key Laboratory of Integrated of Pest Insect and Rodents, Institute of Zoology, Chinese Academy of Science, Beijing 100101, China)

Abstract Plants have developed sets of complex and accurate defense mechanisms during their long-term co-evolution with herbivorous insects, and these defenses can distinguish specific pests among the various feeding guilds of insects. Recent studies illustrate several of the molecular mechanisms involved in plant-aphid interactions, including phytohormone-mediated induced defense, plant innate immune system and gene-for-gene resistance. Aphid salivary components not only make it easier for aphids to penetrate the phloem and suppress the PAMP-triggered immunity of plants, but trigger plant immunity through PRRs (pattern recognition receptors) of NBS-LRR. This paper reviews recent literature on phytohormone-mediated induced defense, plant immunity defense and the function of aphid effectors. The zig-zag model from phytopathology provides theoretical support for understanding the defensive responses of plants triggered by aphid salivary components, revealing additional mechanisms of plant-aphid interactions, and provides novel strategies for pest control.

Key words aphid, salicylic acid, zig-zag model, resistance gene, NB-LRR, effector, saliva gland, immunity response

植物与蚜虫互作的研究一直是昆虫学研究的重点。但以往的研究主要集中于植物研究领域, 重点关注植物的物理防御、组成型化学防御

以及直接或间接的诱导防御, 以揭示植物对蚜虫为害的防御应答反应 (Wu and Baldwin, 2010)。然而, 近年来研究表明, 蚜虫唾液腺中一些小分

* 资助项目 Supported projects: 国家重点基础研究发展计划 973 项目 (2012CB114103); 国家自然科学基金 (31170393)

**第一作者 First author, E-mail: liangyuan890224@hotmail.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: tieguang@21cn.com

收稿日期 Received: 2014-11-24, 接受日期 Accepted: 2014-11-30

子物质,也就是效应因子(Effector)能够帮助其操控寄主细胞,并促进自身的侵染能力,成为顺利完成定殖的关键因子。目前,有关植物蚜虫效应因子的鉴定,及其如何作用于寄主植物的靶基因从而促进蚜虫侵染已经成为生物间互作研究的热点(Bos *et al.*, 2010; Gimenez-Ibanez *et al.*, 2014)。蚜虫作为农业上重要的刺吸式口器昆虫,其独特的取食方式、特化的口针决定了其与寄主植物互作的复杂性,揭示这一分子互作过程可以帮助我们通过对改造植物的防御系统筛选新型的抗蚜植株。本文在详细论述蚜虫诱导的植物防御途径的基础上,重点介绍了蚜虫诱导的植物免疫反应、蚜虫效应因子的鉴定与功能分析的最新研究进展,并提出了未来发展的方向。

1 植物对蚜虫诱导的防御途径

当蚜虫到达植物表面,植物会分泌一层疏水性的蜡质层,包括非挥发性次生代谢物、挥发性和半挥发性成分(如单萜和萜类挥发物),对蚜虫起到吸引或排斥作用(Muller and Riederer, 2005)。叶片植毛体(Trichome)可以通过分泌次生代谢物及蛋白阻止蚜虫的取食(Wagner *et al.*, 2004)。此外,植物和蚜虫互作过程中还涉及大量的化学反应与分子互作。一般来说,当受到外界病虫害胁迫时,植物首先会产生一系列活性氧簇(Reactive oxygen species, ROS)信号物质(如 H_2O_2)。ROS信号会诱导下游植物激素介导的防御反应下游基因大量上调。其中以水杨酸(Salicylic acid, SA)、茉莉酸(Jasmonic acid, JA)和乙烯(Ethylene, ET)介导的诱导抗性途径研究的最为广泛。大量研究表明,这些植物激素既参与不同类型抗性的调控,也表现出相互协同或抑制作用(Rojo *et al.*, 1999; Winz and Baldwin, 2001);且对于不同取食方式的昆虫类群,植物采取的防御策略和诱导抗性也不同。对于取食植物韧皮部为生的刺吸式口器昆虫(如蚜虫)而言,由于其在取食过程中对植物造成伤害极为有限,主要激活对抗病原细菌和真菌为主的水杨酸信号途径(Fidantsef *et al.*, 1999),而抑制茉莉酸信号途径(Moran and Thompson,

2001)。如:当番茄受马铃薯蚜虫 *Macrosiphum euphorbiae* 危害后,会立刻启动SA信号途径下游基因(Li *et al.*, 2006);类似地,当拟南芥受到桃蚜 *Myzus persicae* 危害后,也会启动SA的合成(Pegadaraju *et al.*, 2005)。进一步遗传学研究发现,尽管蚜虫侵害后植物启动了SA信号途径,然而SA信号途径对植物抗蚜性作用不明显。当植物体内SA信号关键基因(如ICS1、EDS5和NPR1)被敲除后,突变体上蚜虫种群数目并没有增加(Moran and Thompson, 2001; Pegadaraju *et al.*, 2005)。更有甚者,发现拟南芥的水杨酸途径突变体 *npr1* 上的桃蚜种群数量少于野生型植株,表明SA信号途径可能会促进桃蚜生长发育(Mewis *et al.*, 2005)。因此,目前有关水杨酸(Salicylic acid, SA)介导的蚜虫抗性关系尚有争论。

与此同时,寄主植物还会诱导非植物激素介导的抗性途径来抵抗蚜虫侵染。例如PHYTOALEXIN DEFICIENT 4(PAD4)编码一个类脂蛋白,但在植物抗蚜过程中有显著作用(Pegadaraju *et al.*, 2007)。而且,PAD4的抗性反应是作用于植物韧皮部,且不依赖于EDS1和SA信号途径的(Pegadaraju *et al.*, 2005; Pegadaraju *et al.*, 2007)。同时,类脂蛋白PHYTOALEXIN DEFICIENT 3(PAD3)通过编码P450蛋白参与合成植物抗毒素camalexin从而有效抵抗蚜虫。有趣的是,当miRNA信号途径被抑制后,PAD3表达量升高,产生更多的Camalexin抵御蚜虫侵染。说明,蚜虫诱导的一些非植物激素(如类脂蛋白)在抗蚜过程中也表现出非常重要的作用。

2 蚜虫诱导的植物免疫反应

尽管植物会启动一系列的诱导防御系统应对蚜虫侵染,但蚜虫仍然能“突破”防御系统并成功在寄主植物上发育和繁殖。过去植物与蚜虫抗性互作研究主要集中在植物方面,包括植物激素、次级代谢物以及R基因,而对蚜虫的操控作用研究较少。事实上,蚜虫可以操控寄主植物的反应,主要表现在其可以改变寄主植物的形

态 (Harrington *et al.*, 2007), 影响寄主植物营养的重新分配 (Girousse *et al.*, 2005) 以及抑制植物的抗性反应 (Will *et al.*, 2007)。显示寄主植物与蚜虫在分子水平存在相互作用。

近年来, 随着越来越多的蚜虫效应因子被发现和鉴定, 表明蚜虫与其他病原微生物作用类似, 也可以通过分泌效应因子进入植物体内, 从而操控寄主细胞发育过程 (Rodriguez-Enfedaque *et al.*, 2012; Elzinga and Jander, 2013)。在这个过程中, 植物与蚜虫的互作表现出分子层面的抗争, 也就是进化上的“军备竞赛 (Arm race)”。Jones 和 Dangl (2006) 曾提出了一个“zig-zag”模型来解释植物与病原菌之间的互作。依据这一模型, 蚜虫分泌的保守小分子与病原菌中的病程相关蛋白 (Pathogen-associated molecular patterns, PAMP) 相似, 可以诱导 PAMP-激活的免疫 (PAMP-triggered immunity, PTI) (Hogenhout and Bos, 2011; Rodriguez-Enfedaque *et al.*, 2012)。随后, 蚜虫将效应因子运送到寄主植物抑制 PTI 以及其他抗性反应, 从而促进蚜虫效应因子激活的寄主植物感性反应 (Effector-triggered susceptibility, ETS)。有些寄主植物可能

携带受体或 R 蛋白, 能够识别这些效应因子, 从而启动效应因子诱导的免疫反应 (Effector-triggered immunity, ETI)。然而, 实际上植物的抗性系统比“zig-zag”模型更加复杂, 而且 PTI 与 ETI 可能存在分子交互 (Thomma *et al.*, 2011) (图 1)。尽管这个模型是否适用于蚜虫或其他刺吸式口器昆虫目前还不得而知, 但仍可为我们理解植物-蚜虫分子互作提供新思路。

2.1 蚜虫诱导的植物 PTI 免疫反应

正如前面提到的, 在植物与蚜虫的互作过程中蚜虫会面临一系列的植物防御反应, 包括 PAMP-激活的免疫 (PTI)。PTI 可以导致: (1) 化学防御, 比如活性氧簇 ROS 产生; (2) 结构性防御, 比如细胞壁的交联以及胼胝质的沉积; (3) 激活信号途径, 比如丝裂原活化蛋白激酶 (Mitogen-activated protein kinase, MAPK) 信号途径, 细胞重编程基因表达, 激素信号途径诱导相邻细胞的抗性反应 (Dodds and Rathjen, 2010)。在病原菌中鉴定出的 PAMP 诱发子 (Elicitor) 包括: 肽聚糖、脂多糖、卵菌葡聚糖、细菌性鞭毛蛋白以及真菌细胞壁组成成分——几丁质

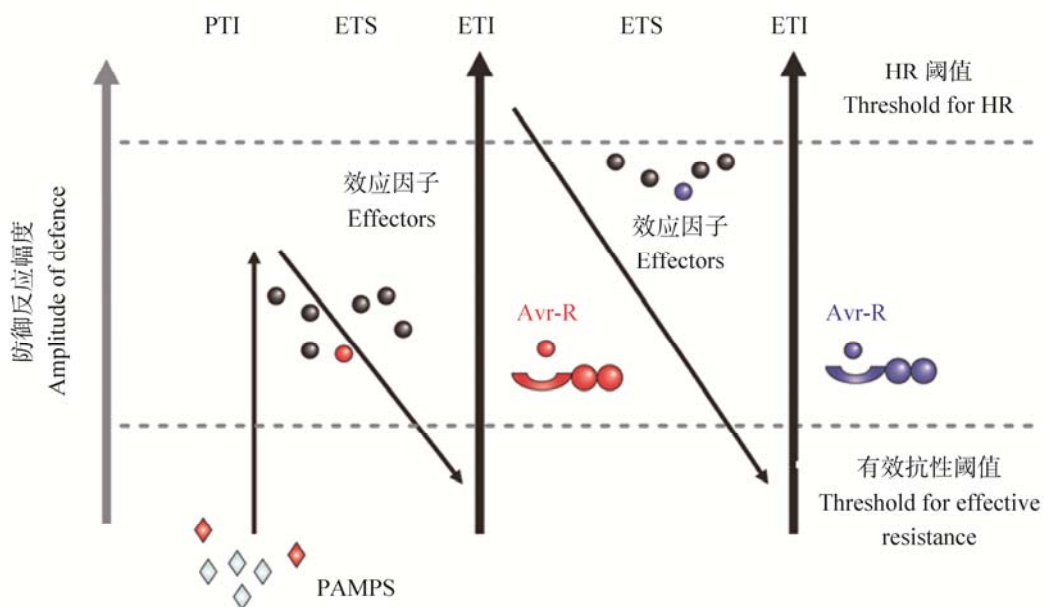


图 1 植物与蚜虫间互作的 zig-zag 模型 (引自 Jones, 2006)

Fig. 1 A zig-zag model of the interaction between plants and aphids (cited from Jones, 2006)

(Dow *et al.*, 2000; Felix *et al.*, 1993; Vleeshouwers *et al.*, 2006)。在昆虫中也鉴定出了几种可以激发植物免疫的诱发子(Elicitors),其中有些可以间接的作用于植物导致植物受伤且产生损伤相关分子蛋白(Damage associated molecular patterns, DAMPs)(Hogenhout and Bos, 2011)。

尽管目前在蚜虫中尚未鉴定出植食性昆虫相关分子蛋白(Herbivore associated molecular pattern, HAMP),但是在蚜虫的唾液腺中检测出了可以激发植物免疫反应的诱发子活性(Elicitor activity)。如在桃蚜 *M. persicae* 唾液腺中一个 3~10 ku 的未知诱发子可以诱导拟南芥有效的防御反应(De Vos and Jander, 2009)。同时,最新研究发现,桃蚜整头虫子的提取物也可以激活拟南芥中的 PTI 的免疫反应(Prince *et al.*, 2014)。桃蚜整虫提取物中 3~10ku 和大于 10ku 的片段都可以诱导蚜虫的抗性反应,只有 3~10ku 的片段可以诱导植物的 ROS 反应,这个研究也表明蚜虫中可能存在多个诱发子激活植物的 PTI 反应。此外,植物中 PTI 免疫反应依赖于 *bak1* (Brassinosteroid insensitive associated receptor kinase 1, BAK1) 基因,拟南芥 *bak1* 突变体对蚜虫的敏感性明显提高。这种可以诱导植物产生 PTI 免疫反应的诱发子可能来自蚜虫自身,也可能来自与蚜虫有密切关系的其他生物体,比如蚜虫的共生细菌(Endosymbiont)。如 Chaudhary 等人(2014)通过对马铃薯蚜虫 *Macrosiphum euphorbiae* 的唾液腺蛋白进行质谱分析,发现蚜虫初生共生菌 *Buchnera* 中的 GroEL 蛋白大量表达。蚜虫的 *Buchnera* 主要存在于蚜虫血淋巴的一个特殊结构含胞体(Bacteriocyte)中。尽管 *Buchnera* 只存在于蚜虫体内,但其可以将自身蛋白分泌到蚜虫唾液腺并运送到植物体内激活植物抗性。进一步研究发现,纯化的 GroEL 蛋白导致拟南芥 PTI 反应,导致寄主植物胼胝质积累和 ROS 活化,且此反应依赖于 BAK1。此外,番茄和拟南芥中过量表达 GroEL 可以降低蚜虫的繁殖率。这些研究显示,植物 PTI 的重要组成部分——*bak1* 可以被蚜虫以及蚜虫共生菌识别并调控。

除了唾液腺,蚜虫分泌的蜜露(Honeydew)也可以改变植物的抗性反应(Schwartzberg and Tumlinson, 2014)。蚜虫蜜露中含有一些细菌性蛋白,包括 EF-Tu, 鞭毛蛋白以及分子伴侣蛋白,这些细菌性蛋白来自于蚜虫自身的微生物菌群(Sabri *et al.*, 2013)。蚜虫自身微生物菌群不仅包括初生和次生共生菌,还包括一些植物致病菌,比如 *Pseudomonas syringae*, *Staphylococcus*, *Serratia marcescens* 以及 *Erwinia* (Stavrindes *et al.*, 2009; Sabri *et al.*, 2013)。蚜虫微生物群落是否可以诱导植物抗性以及如何影响植物与蚜虫相互作用关系还需要进一步的研究。

2.2 蚜虫诱导的植物 ETI (Effector-triggered immunity, ETI) 免疫反应

尽管植物能够识别蚜虫唾液腺的某些诱发子,激活植物的 PTI 免疫反应,然而大部分蚜虫都能够克服这些抗性并在植物上发育繁殖。这是由于蚜虫自身可以分泌一些效应因子(Effector)来抑制植物的免疫反应。在长期进化过程中,植物中存在某些识别蚜虫特定效应因子并且能够抵抗蚜虫侵染的特殊结构——核苷酸结合位点区-亮氨酸重复序列区(NBS-LRR),也被称之为 R 抗性(Resistance gene),也就是 ETI。目前,这种 gene-for-gene 的作用模式已经在几种植物-蚜虫系统中发现。例如:番茄编码的 *Mi-1.2* 基因控制马铃薯蚜虫 *Macrosiphum euphorbiae* 的抗性(Rossi *et al.*, 1998),甜瓜中的 *Vat* 基因控制瓜蚜 *Aphis gossypii* 的抗性(Pauquet *et al.*, 2004),莴苣中的 *Nr* 基因控制莴苣蚜 *Nasonovia ribisnigri* 的抗性(Helden and Tjallingii, 1993),大豆的 *RAG1* 和 *RAG2* 基因控制大豆蚜 *Aphis glycines* 的抗性(Hill *et al.*, 2006; Kim *et al.*, 2010),苹果中的 *Sd1* 基因控制苹果红二圆尾蚜 *Dysaphis devecta* 的抗性(Smith and Clement, 2012)。

当前已经有几种寄主植物的 R 基因应用于作物如大豆、苜蓿、西瓜、番茄、小麦、燕麦、玉米以及果树病虫害的防治中(Dogimont *et al.*, 2010)。然而,近几年研究发现蚜虫可以产生新

的生物型 (Biotype) 以克服这种 R 抗性。通过鉴定可以激活植物 R 基因对应的蚜虫基因, 探究下游的抗性信号途径, 从而可找到一些更有效的抵御蚜虫侵染的新方法。同时, 这种基于 R 基因的抗性方式也存在局限性, 多数情况下只对一种蚜虫或只对一种蚜虫的某个生态型有抗性, 即使同时抗两种蚜虫, 也常常是由不同的基因控制 (Belkadir *et al.*, 2004)。

3 蚜虫效应因子蛋白的鉴定与功能分析

蚜虫效应因子主要在唾液腺中表达, 分泌到唾液, 在蚜虫取食过程中再运送到寄主植物体内 (Hogenhout and Bos, 2011; Elzinga and Jander,

2013)。随着蚜虫唾液腺的蛋白组学和转录组学的深入研究, 已鉴定出许多候选的蚜虫效应因子 (Elzinga and Jander, 2013; Rodriguez and Bos, 2013)。有些已经进行了活性验证, 发现主要包括细胞壁降解酶类和解毒酶两类物质 (Harmel *et al.*, 2008; Carolan *et al.*, 2009; Rao *et al.*, 2013)。然而, 大部分候选效应因子并没有进行功能预测, 目前只有少数的效应因子蛋白被鉴定出来, 并且研究其是否可以促进或抑制蚜虫的侵染 (表 1)。

通过转基因或 RNAi 技术研究, 表明一系列的蚜虫效应因子可以促进蚜虫侵染植物。如效应因子 COO2 首次在豌豆蚜 *Acyrtosiphon pisum* 中被鉴定出来, 其广泛分布与蚜虫唾液腺中, 并且

表 1 目前已经鉴定的蚜虫效应因子
Table 1 Identified aphid effectors

效应因子 Effectors	蚜虫种类 Aphid species	作用 Functions	分子活性 Molecular activity	参考文献 References
Mp55	豌豆蚜 <i>Acyrtosiphon pisum</i> 桃蚜 <i>Myzus persicae</i>	抑制植物抗性 Suppress resistance	抑制胼胝质的积累 Suppress callose depositon	Elzinga and Jander, 2013
COO2	桃蚜 <i>Myzus persicae</i>	有利于蚜虫取食 Benefit of feeding	未知 Unknown	Mutti <i>et al.</i> , 2006, 2008; Pitino <i>et al.</i> , 2011; Bos <i>et al.</i> , 2010
Mp1	桃蚜 <i>Myzus persicae</i>	增加蚜虫繁殖率 Benefit of reproduction	未知 Unknown	Bos <i>et al.</i> , 2010; Pitino <i>et al.</i> , 2013
PIntO2	桃蚜 <i>Myzus persicae</i>	增加蚜虫繁殖率 Benefit of reproduction	未知 Unknown	Pitino <i>et al.</i> , 2013
Mp10	桃蚜 <i>Myzus persicae</i>	降低蚜虫繁殖率 Decreasement of reproduction	改变植物JA, SA抗性 Change plant defence	Bos <i>et al.</i> , 2010; Rodriguez <i>et al.</i> , 2014
Mp42	桃蚜 <i>Myzus persicae</i>	降低蚜虫繁殖率 Decreasement of reproduction	破坏核被膜和细胞膜 Destroy cell membrane	Bos <i>et al.</i> , 2010; Rodriguez <i>et al.</i> , 2014
Me23	马铃薯蚜虫 <i>Macrosiphon euphorbiae</i>	增加蚜虫繁殖率 Benefit of reproduction	未知 Unknown	Atamian <i>et al.</i> , 2013
Me10	马铃薯蚜虫 <i>Macrosiphon euphorbiae</i>	增加蚜虫繁殖率 Benefit of reproduction	未知 Unkown	Atamian <i>et al.</i> , 2013

能够促进蚜虫取食和发育 (Mutti *et al.*, 2008)。当 C002 基因被 RNAi 干扰之后, 蚜虫口针无法进入植物韧皮部中并且死亡率增加 (Mutti *et al.*, 2006, 2008)。在桃蚜中, 也进一步鉴定出效应因子 C002, 并将此基因转到烟草中过量表达, 有利于蚜虫的取食侵染 (Pitino and Hogenhout, 2013)。桃蚜中其他的效应因子比如 Mp1/PIntO1 和 PintO2 也可以促进蚜虫的侵染; 而且, 当拟南芥中过量表达 Mp1/PIntO1 和 PintO2, 则使蚜虫的适合度提高 (Pitino and Hogenhout, 2013)。最近, Elzinga 等人 (2014) 对桃蚜中一个效应因子 Mp55 进行了功能性验证, 发现过量表达 Mp55 的转基因拟南芥能够促进桃蚜的侵染, 当这些转基因植物受桃蚜危害后, 其 ROS 活性及胼胝质积累降低。除此之外, 马铃薯蚜虫中的几个蚜虫效应因子也被证明可以增加蚜虫的侵染能力 (Atamian *et al.*, 2013)。然而也有一些被鉴定出的效应因子不利于蚜虫的侵染, 如通过在烟草中过量表达蚜虫效应因子 Mp10 与 Mp42, 均被发现可以抑制蚜虫的侵染 (Bos *et al.*, 2010)。这可能是由于这些蛋白可以激活寄主植物的抗性反应或是由于这些基因在寄主植物中过表达超出了自然系统中表达的范围。

目前对蚜虫效应因子进行鉴定及功能研究的方法主要有三种: (1) RNAi 技术主要是将人工合成的双链 RNA (Double-stranded RNA) 导入蚜虫体内从而沉默目的基因。大部分研究都是通过微注射 (Microinjection) 将 dsRNA 直接导入蚜虫体内 (Mutti *et al.*, 2006)。尽管这种方法沉默效果明显, 但是容易对蚜虫造成伤害甚至死亡, 尤其是体型较小的蚜虫类群。也有对蚜虫进行人工喂饲 dsRNA, 这种方法也成功沉默豌豆蚜中的几个基因。最近, Pitino 等 (2011) 将 dsRNA 在植物细胞中表达, 从而在更加自然地环境中将蚜虫的基因沉默, 这也为研究蚜虫唾液腺基因功能提供了更有效的方法; (2) 在寄主植物中过量表达蚜虫的效应因子蛋白。例如利用叶盘法检测过量表达蚜虫效应因子是否可以影响蚜虫的侵染 (Guo *et al.*, 2014a); (3) 观测

蚜虫的候选效应因子是否可以抑制寄主植物的 PTI。尽管 PTI 在蚜虫与寄主植物互作过程中的作用还需深入研究, 但这种方法可以为蚜虫和植物互作的分子机制提供新视野。如研究发现, 桃蚜中效应因子 Mp10 可以抑制 flg22 激活的 PTI (Bos *et al.*, 2010)。

4 展望

蚜虫作为全世界广泛分布的刺吸式口器昆虫, 对农作物造成严重危害。蚜虫自身所特有的一些生物学特征, 决定了一旦其种群爆发将会给农业生产造成巨大的经济损失。比如: 孤雌生殖的特性使蚜虫具有较高的种群内禀增长率; 发育历期短、繁殖力强使得蚜虫一旦定殖, 就能够在短时间内建立巨大的种群数量, 取食为害寄主植物, 严重影响植物的生长 (Auclair, 1963)。尽管前期对植物与蚜虫的分子互作已有相关阐述, 但是许多方面仍不清楚。只有在多个层次、不同方面深入系统的研究蚜虫与寄主植物之间的互作关系, 才能为蚜虫的生态调控提供理论依据。未来的研究可以从以下三个方面进行考虑分析。

4.1 蚜虫诱导的植物免疫反应机制探讨

蚜虫的效应因子是触发植物免疫防御的重要因素, 通过对蚜虫唾液腺的转录组分析, 并利用信号肽的基因序列分析可以大量筛选到候选的效应因子, 这为未来发现新型的蚜虫效应因子及其功能研究提供前提。在植物方面更多的是研究受害叶片的蛋白和蛋白互作及植物免疫相关的信号传导过程, 对蚜虫为害后, 其他组织 (如根部) 的免疫响应研究较少: 如 Nalam 等 (2012) 研究表明, 蚜虫为害寄主植物后激活根部 Oxylipins 的 LOX5 信号途径, 诱导下游 9-HOD 和 9-HPOD 的表达, 有利于蚜虫自身的生长发育; 这种非局域位点的免疫识别和传导机制将为地上、地下不同空间互作机制提供新的证据。

4.2 环境因素对植物与蚜虫互作的影响分析

前期有关植物与昆虫的互作研究大多是在实验室进行的, 然而田间蚜虫种群的爆发总伴随

着气候环境因子的改变。目前在全球气候变化背景下,许多环境因子都随之改变:如温度和温室气体 CO₂ 和 O₃ 浓度升高、氮沉降、不规则降雨等。这些外界环境因素的变化势必影响植物-蚜虫的抗性互作。比如,基于 R 抗性品系的 Mi 番茄在土壤温度高于 28℃时就丧失了抗性,这在夏季炎热地区和保护地栽培中是非常不利的 (Zhu *et al.*, 2010)。大气 CO₂ 浓度升高对植物的物理防御和诱导抗性途径也会产生重要影响 (Sun *et al.*, 2013; Guo *et al.*, 2014b)。因此揭示不同环境因子变化对植物与蚜虫的分子互作的影响,可以为未来气候变化背景下害虫防治提供新思路和新对策。

4.3 RNA 干扰技术阻断蚜虫-植物的互作

蚜虫基因组测序的完成使我们能够深入挖掘蚜虫中的特异基因,从而为蚜虫的化学防治提供新的靶标。同时,利用 RNA 干扰技术,通过向蚜虫淋巴细胞内注射 dsRNA 可以抑制蚜虫的取食及生长发育,但是这种方法还不能够在田间推广。因此考虑通过寄主植物将 dsRNA 运送到蚜虫体内,从而达到控制蚜虫种群的目的。如 Pitino 等 (2011) 研究发现,寄主植物中过量表达对蚜虫基因特异结合的 dsRNA,可以对蚜虫的生长发育产生不利影响。因此在田间防治蚜虫中可以通过转基因技术将特异的 dsRNA 导入植物中用于选育一些抗蚜品系,同时也可以降低对非靶标昆虫如天敌、蜜蜂的不利影响。

参考文献 (References)

Atamian HS, Chaudhary R, Ul Cin V, Bao E, Girke T, Kaloshian I, 2013. In Planta expression or delivery of potato aphid *Macrosiphum euphorbiae* effectors Me10 and Me23 enhances aphid fecundity. *Mol. Plant. Microbe. In.*, 26(1): 67–74.

Auclair JL, 1963. Aphid feeding and nutrition. *Annual Review of Entomology*, 8: 439–490.

Belkhadir Y, Nimchuk Z, Hubert DA, Mackey D, Dangl JL, 2004. *Arabidopsis RIN4* negatively regulates disease resistance mediated by RPS2 and RPM1 downstream or independent of the NDR1 signal modulator and is not required for the virulence functions of bacterial type III effectors *AvrRpt2* or *AvrRpm1*.

Plant Cell, 16(10):2822–2835.

Bos JIB, Prince D, Pitino M, Maffei ME, Win J, Hogenhout SA, 2010. A functional genomics approach identifies candidate effectors from the aphid species *Myzus persicae* (green peach aphid). *PLoS Genet.*, 6(11): e1001216.

Carolan JC, Fitzroy CIJ, Ashton PD, Douglas AE, Wilkinson TL, 2009. The secreted salivary proteome of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* characterised by mass spectrometry. *Proteomics*, 9(9): 24572467.

Chaudhary R, Atamian HS, Shen ZX, Brigg SP, Kaloshian I, 2014. GroEL from the endosymbiont *Buchnera aphidicola* betrays the aphid by triggering plant defense. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, 111(24): 8919–8924.

De Vos M, Jander G, 2009. *Myzus persicae* (green peach aphid) salivary components induce defence responses in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell Environ.*, 32(11): 15481560.

Dodds PN, Rathjen JP, 2010. Plant immunity: towards an integrated view of plant-pathogen interactions. *Nat. Rev. Genet.*, 11(8): 539548.

Dogimont C, Benhmane A, Chovelon V, Boissot N, 2010. Host plant resistance to aphids in cultivated crops: Genetic and molecular bases, and interactions with aphid populations. *Comptes. Rendus. Biologies*, 333(6/7): 566–573.

Dow M, Newman MA, von Roepenak E, 2000. The induction and modulation of plant defense responses by bacterial lipopolysaccharides. *Annual Review of Phytopathology*, 38: 241261.

Elzinga U, Jander G, 2013. The role of protein effectors in plant-aphid interactions. *Current Opinion in Plant Biology*, 16(4): 451–456.

Elzinga DA, De Vos M, Jander G, 2014. Suppression of plant defenses by a *Myzus persicae* (green peach aphid) salivary effector protein. *Mol.Plant Microbe. In.*, 27(7): 747–756.

Felix G, Regenass M, Boller T, 1993. Specific perception of subnanomolar concentrations of chitin fragments by tomato cells -induction of extracellular alkalinization, changes in protein-phosphorylation, and establishment of a refractory state. *Plant J.*, 4(2): 307–316.

Fiuntsef AL, Stout MJ, Thaler JS, Duffey SS, Bostock RM, 1999. Signal interactions in pathogen and insect attack: expression of lipoxygenase, proteinase inhibitor II, and pathogenesis-related protein P4 in the tomato, *Lycopersicon esculentum*. *Physiol. Mol. Plant. P.*, 54(3/4): 97–114.

Gimenez-Ibanez S, Boter M, Fernandez-Barbero G, Chini A,

- Rathjen JP, Solano R, 2014. The bacterial effector HopX1 targets JAZ transcriptional repressors to activate jasmonate signaling and promote infection in *Arabidopsis*. *PLoS Biol.*, 12(2): e1001792.
- Girousse C, Moulia B, Silk W, Bonnemain JL, 2005. Aphid infestation causes different changes in carbon and nitrogen allocation in alfalfa stems as well as different inhibitions of longitudinal and radial expansion. *Plant Physiol.*, 137(4): 14741484.
- Guo HJ, Sun YC, Li YF, Liu XH, Zhang WH, Ge F, 2014a. Elevated CO₂ decreases the response of the ethylene signaling pathway in *Medicago truncatula* and increases the abundance of the pea aphid. *New Phytol.*, 201(1): 279–291.
- Guo HY, Song XG, Wang GL, Yang K, Wang Y, Niu LB, Chen XY, Fang RX, 2014b. Plant-generated artificial small RNAs mediated aphid resistance. *PLoS ONE*, 9(5): e97410.
- Harmel N, Letocart E, Cherqui A, Giorunengo P, Mazzucchelli G, Guillonnet F, De Pauw E, Haubruge E, Francis F, 2008. Identification of aphid salivary proteins: a proteomic investigation of *Myzus persicae*. *Insect Mol. Biol.*, 17(2): 165–174.
- Harrington R, Clark SJ, Welham SJ, Verrier PJ, Denholm CH, Hulle M, Maurice D, Rounsevell MD, Cocu N, Consortium EUE, 2007. Environmental change and the phenology of European aphids. *Global Change Biol.*, 13(8): 1550–1564.
- Helden M, Tjallingii W, 1993. Tissue localisation of lettuce resistance to the aphid *Nasonovia ribisnigri* using electrical penetration graphs. *Entomol. Exp. Appl.*, 68(3): 269–278.
- Hill CB, Li Y, Hartman GL, 2006. A single dominant gene for resistance to the soybean aphid in the soybean cultivar Dowling. *Crop Sci.*, 46(4): 1601–1605.
- Hogenhout SA, Bos JIB, 2011. Effector proteins that modulate plant-insect interactions. *Current Opinion in Plant Biology*, 14(4): 422–428.
- Jones J, Dangl J, 2006. The plant immune system. *Nature*, 444: 323–329.
- Kim KS, Hill CB, Hartman GL, Hyten DL, Hudson ME, Diers BW, 2010. Fine mapping of the soybean aphid-resistance gene Rag2 in soybean PI 200538. *Theor. Appl. Genet.*, 121(3): 599–610.
- Li Q, Xie QG, Smith-Becker J, Navarre U, Kaloshian I, 2006. Mi-1-mediated aphid resistance involves salicylic acid and mitogen-activated protein kinase signaling cascades. *Mol. Plant Microbe. In.*, 19(6): 655–664.
- Mewis I, Appel HM, Hom A, Raina R, Schultz JC, 2005. Major signaling pathways modulate *Arabidopsis* glucosinolate accumulation and response to both phloem-feeding and chewing insects. *Plant Physiol.*, 138(2): 1149–1162.
- Moran PJ, Thompson GA, 2001. Molecular responses to aphid feeding in *Arabidopsis* in relation to plant defense pathways. *Plant Physiol.*, 125(2): 1074–1085.
- Muller C, Riederer M, 2005. Plant surface properties in chemical ecology. *J. Chem. Ecol.*, 31(11): 2621–2651.
- Mutti NS, Louis J, Pappan LK, Pappan K, Begum K, Chen MS, Park Y, Dittmer N, Marshall J, Reese JC, Reeck GR, 2008. A protein from the salivary glands of the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*, is essential in feeding on a host plant. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, 105(29): 9965–9969.
- Mutti NS, Park Y, Reese JC, Reeck GR, 2006. RNAi knockdown of a salivary transcript leading to lethality in the pea aphid, *Acyrtosiphon pisum*. *J. Insect. Sci.*, 6(38): 1–7.
- Nalam VJ, Keeretaweep J, Sarowar S, Shah J, 2012. Root-derived oxylipins promote green peach aphid performance on *Arabidopsis* foliage. *Plant Cell*, 24(4): 1643–1653.
- Pauquet J, Burget E, Hagen L, Chovelon V, Menn AI, Valot N, Desloire S, Caboche M, Rousselle P, Pitrat M, 2004. Map-based cloning of the Vat gene from melon conferring resistance to both aphid colonization and aphid transmission of several viruses. Progress in cucurbit genetics and breeding research. Proceedings of Cucurbitaceae 2004, the 8th EUCARPIA Meeting on Cucurbit Genetics and Breeding, Olomouc, Czech Republic, 12–17 July, 2004.
- Pegadaraju V, Knepper C, Reese J, Shah J, 2005. Premature leaf senescence modulated by the *Arabidopsis* PHYTOALEXIN DEFICIENT4 gene is associated with defense against the phloem-feeding green peach aphid. *Plant Physiol.*, 139(4): 1927–1934.
- Pegadaraju V, Louis J, Singh V, Reese JC, Bautor J, Feys BJ, Cook G, Parker JE, Shah J, 2007. Phloem-based resistance to green peach aphid is controlled by *Arabidopsis* PHYTOALEXIN DEFICIENT4 without its signaling partner ENHANCED DISEASE SUSCEPTIBILITY1. *Plant J.*, 52(2): 332–341.
- Pitino M, Hogenhout SA, 2013. Aphid protein effectors promote aphid colonization in a plant species-specific manner. *Mol. Plant Microbe. In.*, 26(1): 130–139.
- Prince DC, Drurey C, Zipfel C, Hogenhout SA, 2014. The Leucine-Rich Repeat Receptor-Like Kinase BRASSINOSTEROID INSENSITIVE1-ASSOCIATED KINASE1 and the Cytochrome P450 PHYTOALEXIN DEFICIENT3 Contribute to Innate

- Immunity to Aphids in *Arabidopsis*. *Plant Physiol.*, 164(4): 2207–2219.
- Rao SAK, Carolan JC, Wilkinson TL, 2013. Proteomic profiling of cereal aphid saliva reveals both ubiquitous and adaptive secreted proteins. *PLoS ONE*, 8(2): e57413.
- Rodriguez-Enfedaque A, Delmas E, Guillaume A, Gaumer S, Mignotte B, Vayssiere JL, Renaud F, 2012. zVAD-fmk upregulates caspase-9 cleavage and activity in etoposide-induced cell death of mouse embryonic fibroblasts. *BBA-Mol. Cell Res.*, 1823(8): 1343–1352.
- Rodriguez PA, Bos JIB, 2013. Toward understanding the role of aphid effectors in plant infestation. *Mol. Plant Microbe. In.*, 26(1): 25–30.
- Rojas E, Leon J, Sanchez-Serrano JJ, 1999. Cross-talk between wound signalling pathways determines local versus systemic gene expression in *Arabidopsis thaliana*. *Plant J.*, 20(2): 135–142.
- Rossi M, Goggin FL, Milligan SB, Kaloshian I, Ullman DE, Williamson VM, 1998. The nematode resistance gene Mi of tomato confers resistance against the potato aphid. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, 95(17): 9750–9754.
- Rodriguez MC, Conti G, Zavallo D, Manacorda CA, Asurmendi S, 2014. TMV-Cg coat protein stabilizes DELLA proteins and in turn negatively modulates salicylic acid-mediated defense pathway during *Arabidopsis thaliana* viral infection. *Bmc Plant Biol.*, 14(210): 1471–2229.
- Sabri A, Vandermoten S, Leroy PD, Haubruge E, Hance T, Thonart P, De Pauw E, Francis F, 2013. Proteomic investigation of aphid honeydew reveals an unexpected diversity of proteins. *PLoS ONE*, 8(9): e74656.
- Schwartzberg EG, Tumlinson JH, 2014. Aphid honeydew alters plant defence responses. *Funct. Ecol.*, 28(2): 386–394.
- Smith CM, Clement SL, 2012. Molecular Bases of plant resistance to arthropods. *Annu. Rev. Entomol.*, 57: 309–328.
- Stavrinides J, McCloskey JK, Ochman H, 2009. Pea aphid as both host and vector for the phytopathogenic bacterium *Pseudomonas syringae*. *Appl. Environ. Microb.*, 75(7): 2230–2235.
- Sun YC, Guo HJ, Zhu-Salzman K, Ge F, 2013. Elevated CO₂ increases the abundance of the peach aphid on *Arabidopsis* by reducing jasmonic acid defenses. *Plant Sci.*, 210: 128–140.
- Thomma BPHJ, Nurnberger T, Joosten MH, 2011. Of PAMPs and effectors: The blurred PTI-ETI dichotomy. *Plant Cell*, 23(1): 4–15.
- Vleeshouwers VGAA, Driesprong JD, Kamphuis LG, Torto-Alalibo T, Van't Slot KAE, Govers F, Visser RGF, Jacobsen E, Kamoun S, 2006. Agroinfection-based high-throughput screening reveals specific recognition of INF elicitors in *Solanum*. *Mol. Plant Pathol.*, 7(6): 499–510.
- Wagner GJ, Wang E, Shepherd RW, 2004. New approaches for studying and exploiting an old protuberance, the plant trichome. *Ann. Bot-London.*, 93(1): 3–11.
- Will T, Tjallingii WF, Thonnessen A, van Bel AJE, 2007. Molecular sabotage of plant defense by aphid saliva. *P. Natl. Acad. Sci. USA*, 104(25): 10536–10541.
- Winn RA, Baldwin IT, 2001. Molecular interactions between the specialist herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera, Sphingidae) and its natural host *Nicotiana attenuata*. IV. Insect-induced ethylene reduces jasmonate-induced nicotine accumulation by regulating putrescine N-methyltransferase transcripts. *Plant Physiol.*, 125(4): 2189–2202.
- Wu J, Baldwin IT, 2010. New insights into plant responses to the attack from insect herbivores. *Annu. Rev. Genet.*, 44: 1–24.
- Zhu Y, Qian WQ, Hua J, 2010. Temperature modulates plant defense responses through NB-LRR proteins. *PLoS Pathog.*, 6(4): e1000844.