

烟草植株对斜纹夜蛾的警备防御*

黄丽娜^{1**} 孙玉梅² 孙 晓^{2***}

(1. 开封市蔬菜科学研究所, 开封 475004; 2. 河南大学生命科学学院, 开封 475004)

摘 要 【目的】植物的诱导防御反应在植物应对植食性昆虫取食时发挥重要作用。在自然界中, 植物会频繁遭受植食性昆虫的取食, 然而, 植物遭受昆虫多次取食时是否会产生警备防御, 进而诱导更强烈的防御反应尚未阐明。本研究旨在深入探究植物对昆虫的警备防御。【方法】以烟草-斜纹夜蛾为体系, 通过生测实验研究烟草植物警备防御对昆虫生长发育的影响; 通过检测单次取食和多次取食的烟草植株茉莉酸、水杨酸和脱落酸, 在激素水平分析烟草警备防御的调控途径; 通过检测单次取食和多次取食的烟草叶片次生代谢物质, 在代谢水平分析烟草警备防御的作用方式。【结果】斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 诱导导致烟草植株对斜纹夜蛾的防御能力增强。与取食对照烟草植株相比, 遭受斜纹夜蛾多次取食和单次取食的烟草植株使斜纹夜蛾的体重分别下降了 30.3% 和 14.6%, 二次诱导后的烟草植株比一次诱导后的烟草植株对斜纹夜蛾的防御作用更强。与对照相比, 二次诱导导致烟草植株体内茉莉酸含量的显著升高, 二次诱导后烟草植株茉莉酸的含量比一次诱导的烟草植株增加 78.9%。斜纹夜蛾取食对烟草植株水杨酸和脱落酸的含量无显著影响。斜纹夜蛾取食诱导导致烟草植株中尼古丁、绿原酸和胰蛋白酶抑制剂的含量均显著升高, 且二次诱导的增加量显著高于一次诱导的增加量。【结论】烟草对植食性昆虫斜纹夜蛾存在警备防御, 植物的警备防御使植物对植食性昆虫的诱导防御反应更强。

关键词 烟草; 斜纹夜蛾; 警备防御; 激素; 次生代谢

Primed defence of tobacco (*Nicotiana tabacum*) plants against *Spodoptera litura* (Lepidoptera: Noctuidae)

HUANG Li-Na^{1**} SUN Yu-Mei² SUN Xiao^{2***}

(1. Vegetable Science Research Institute of Kaifeng, Kaifeng 475004, China;

2. School of Life Sciences, Henan University, Kaifeng 475004, China)

Abstract 【Objectives】Herbivore induced plant defenses play a key role in protecting plants against herbivore damage. Plants suffer herbivore damage frequently in nature, however, it is unclear if damaged plant have primed defensive mechanisms that allow them to mount a stronger defense against repeated herbivore attacks. 【Methods】Experiments were conducted on tobacco plants *Nicotiana tabacum* to see if there was a difference in the plant defenses induced by single, or repeated, episodes of attack by *Spodoptera litura* larvae. Concentrations of jasmonic acid (JA), salicylic acid (SA) and abscisic acid (ABA) were measured to monitor hormone levels. Secondary metabolites were also measured to reveal the key metabolites involved in defense against herbivores. 【Results】Caterpillar damage induced a defensive response from tobacco plants and repeated damage induced a stronger defensive response than a single episode of damage. Compared to healthy plants, plants subject to repeated herbivore damage had significantly higher concentrations of JA (78.9%), but similar levels of SA and ABA. Herbivore damage significantly increased the concentration of nicotine, chlorogenic acid and trypsin inhibitors; plants subject to repeated herbivore attacks had higher concentrations of all three metabolites than those subject to an isolated attack. 【Conclusion】Tobacco plants have evolved primed defense against herbivores which allows them to mount a stronger defensive response to repeated herbivore attacks.

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金 (32071658); 河南省高校科技创新人才 (22HASTIT033); 河南省青年人才托举工程 (2021HYTP034)

**第一作者 First author, E-mail: huanglina20060126@126.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: sunxiao@henu.edu.cn

收稿日期 Received: 2022-09-29; 接受日期 Accepted: 2023-02-22

Key words *Nicotiana tabacum*; *Spodoptera litura*; primed defence; hormone; secondary metabolism

警备防御是指植物在遭受连续不断的环境压力后,通过调整防御反应以更好的应对未来的环境压力。与诱导防御的区别在于,诱导防御是植物应对外界压力的瞬时反应,而警备防御是植物应对先前压力的一种记忆防御。在植物的生长过程中,植物会面临各种生物、非生物胁迫,这些压力因素影响植物的生长、发育和繁殖。植物为了更快适应环境胁迫,将通过对胁迫压力的警备来进一步加强自己的防御能力,使植物自身变得更强或者在环境干扰再次发生时,能采取更迅速的防御反应 (Crisp *et al.*, 2016)。很多文章已经对高等植物的警备防御进行了综述 (Bruce *et al.*, 2007; Conrath, 2011)。然而,关于警备防御的研究多集中在植物应对干旱、寒冷、盐度、过量光照和氧化应激等非生物胁迫方面 (Virlouvet *et al.*, 2014; Wang *et al.*, 2014; Virlouvet and Fromm, 2015)。研究表明,提前暴露与健康的水稻相比,暴露于二化螟诱导的挥发物的水稻增加了对二化螟的直接抗性和间接抗性 (Yao *et al.*, 2023)。同样,提前暴露于昆虫诱导的挥发物中的植物,当受到昆虫取食时会产生更高浓度的茉莉酸 (Jasmonic acid, JA),并释放更高浓度的挥发物 (Engelberth *et al.*, 2004)。并且有证据表明,这种警备防御可以跨代传递,这种适应性跨代可塑性的警备防御在植物应对紫外线、温度、干旱和热量等因素均被报道 (Scoville *et al.*, 2011; Rasmann *et al.*, 2012)。这些结果表明警备防御通过跨代效应传递给后代,进而增加后代的竞争力。此外,支持植物警备防御的分子机制已被部分阐明。植物警备防御形成的一种途径可能是通过关键信号分子或转录因子的持续改变,进而影响植物的次生代谢物质 (Vriet *et al.*, 2015)。另一种途径是通过改变染色体状态,例如蛋白质末端修饰、DNA 甲基化等,影响基因表达进而维持植物警备反应 (Eichten *et al.*, 2014)。然而,目前关于植物警备防御的研究多集中于植物应对非生物胁迫,关于植物应对植食性昆虫等生物胁迫的警备防御

研究报道较少。

昆虫与植物的关系,构成了生态系统中重要的生态学关系 (钦俊德, 1985)。在植物与植食性昆虫 3.5 亿年的协同进化过程中,植物建立了一系列针对昆虫为害的识别和防御机制 (Hernán *et al.*, 2019; 盛子耀等, 2019; Visakorpi *et al.*, 2019; Dalling *et al.*, 2020)。植物在遭受昆虫取食等环境胁迫时,会启动诱导防御反应 (Chen, 2008; Orrock *et al.*, 2015; Lucas-Barbosa, 2016; Mauch-Mani *et al.*, 2017; Zhang *et al.*, 2021; 张涛等, 2021; 赖城玲, 2022), 诱导植物体内次生代谢物如生物碱、萜类、酚类和抗虫类蛋白如蛋白酶抑制剂等含量的升高,进而影响昆虫的生长和繁殖 (Li *et al.*, 2002; Kessler and Baldwin, 2004; van Loon *et al.*, 2006; Kliebenstein *et al.*, 2012; 张帆等, 2012; Sun *et al.*, 2019; Lai *et al.*, 2022)。诱导防御是一种灵活的低成本的防御方式,可以使植物节约资源,更好的平衡自身生长和防御之间的权衡关系 (Kettles *et al.*, 2013; 张苏芳等, 2013; Züst and Agrawal, 2017)。激素在植物应对昆虫取食的诱导防御中发挥关键作用 (Conrath *et al.*, 2002; Berens *et al.*, 2017)。植物应对咀嚼式昆虫的防御反应通过茉莉酸途径实现 (Fu *et al.*, 2021), 在咀嚼式昆虫取食过程中,植物体内 JA 会发生明显升高 (Mao *et al.*, 2017)。许多实验表明,JA 生物合成受损或 JA 缺陷型的植物,在遭受咀嚼式昆虫取食时,其防御性次生代谢产物的积累受到严重影响,因此严重减弱了这类植物对植食性昆虫的抵抗力,这表明茉莉酸途径可调控虫害诱导的次生代谢产物的合成 (Kessler *et al.*, 2004)。在自然界中,植物会遭受昆虫的多次取食,然而,当遭受过植食性昆虫取食的植物再次遭受昆虫取食时,植物是否会产生警备防御,进而诱导更强烈的防御反应尚未完全阐明。

烟草 *Nicotiana tabacum* 是研究植物对植食性昆虫防御的理想材料 (Joo *et al.*, 2021; Li *et al.*, 2021; Sun *et al.*, 2021)。斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 的寄主范围十分广泛,较为喜欢取食茄科

植物。在生长季,烟草频繁地遭受斜纹夜蛾等植食性昆虫的为害(Zong and Wang, 2004; Gao *et al.*, 2019)。本研究以烟草-斜纹夜蛾为体系,通过昆虫喂养实验研究植物警备防御对昆虫生长的影响;通过激素分析和次生代谢物质分析,研究植物对昆虫警备防御的途径和调控物质。我们做出如下假设:(1)植物遭受昆虫为害后会产生警备防御,当植物再次遭受昆虫为害时,诱导防御反应更强;(2)植物的警备防御通过合成更高浓度的次生防御物质实现。探讨植物对植食性昆虫的警备防御,有助于丰富植物对植食性昆虫的防御体系,为进一步揭示植物应对昆虫取食的防御机理奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试植物和昆虫

试验所用的烟草为普通栽培烟草 *Nicotiana tabacum* cv. Samsun。将烟草种子种植在人工气候室中[温度(28±1)℃,相对湿度 65±5%,光周期 14L:10D]。以营养钵单株培育,种植栽培烟草所用的基质是营养土(Growing Media Europe AISBL, Belgium)和珍珠岩 3:1 混合。正常浇水,选取长势一致的烟草植株进行试验。试验所用的斜纹夜蛾幼虫由河南科云生物科技有限公司提供,用人工饲料喂食(玉米粉 200 g,大豆粉 100 g,酵母粉 12 g,琼脂 15 g,抗坏血酸 1 g,山梨酸 2 g,对羟基苯甲酸甲酯 2 g,复配维生素液 15 mL,蔗糖 50 g,蒸馏水 1 000 mL),饲养温度为(28±2)℃,相对湿度 65%±5%,光周期 14L:10D。

1.2 实验处理

待烟苗第 6 片叶展平后,将 15 头已经饥饿处理 12 h 的二龄斜纹夜蛾幼虫分别转移至供试烟草植株的第 1、3、5 片叶(从上至下),每片叶子放 5 头幼虫,取食 3 d。用网眼孔径为 0.85 mm 的网袋将其限制在叶片上,以防止幼虫逃逸。机械损伤处理为用打孔器人工去除叶片,叶片去除速率与昆虫取食保持一致,并套上网袋。对照植物不做任何取食处理,只套网袋。

继续培养 15 d,检测对照、机械损伤、幼虫为害植物叶片中尼古丁、绿原酸和蛋白酶抑制剂等主要防御物质的含量,保证降至为害前水平(尼古丁:对照(499.2±12.6) mg/g,机械损伤(498.7±18.4) mg/g,虫害(505.3±16.5) mg/g, $F_{2,6}=0.055$, $P=0.947$;绿原酸:对照(185.4±23.5) mg/g,机械损伤(196.6±20.5) mg/g,虫害(216.3±21.9) mg/g, $F_{2,6}=0.138$, $P=0.874$;蛋白酶抑制剂:对照(0.37±0.06) nmol/mg,机械损伤(0.39±0.07) nmol/mg,虫害(0.41±0.03) nmol/mg, $F_{2,6}=0.144$, $P=0.869$)。15 d 以后,用如上述同样的方法进行二次诱导处理,接 15 头斜纹夜蛾幼虫取食叶片。在机械损伤处理植物上做同样的斜纹夜蛾幼虫取食处理。对照植物只套网袋,不作任何取食处理。实验分为 3 个处理:对照+对照;机械损伤+幼虫为害;幼虫为害+幼虫为害。

1.3 斜纹夜蛾生长发育测定

用幼虫为害 3 d 的烟草叶片来喂养斜纹夜蛾幼虫,以分析烟草警备防御对斜纹夜蛾生长的影响。将 2 龄末期的幼虫进行饥饿处理 12 h,然后选择同一时间蜕皮进入 3 龄的幼虫用于试验。实验前,10 头 3 龄幼虫为一组,称量幼虫体重,并计算每头幼虫的体重。将幼虫放在消毒后的带盖塑料盒中(高 12 cm,直径 10 cm)。每天采集不同处理的新鲜烟草叶片喂养斜纹夜蛾幼虫。每天更换叶片,连续喂养 4 d,这 4 d 分别摘取烟草的第 2、4、6、7 片叶进行喂养。4 d 后称量幼虫体重,通过与初始体重相减,计算幼虫体重的增加量。每个处理 10 个重复。

1.4 烟草植株激素检测

在第 2 次斜纹夜蛾幼虫取食后的 90 min,取顶部第二片叶,迅速放入液氮,检测茉莉酸(JA)、水杨酸(SA)和脱落酸(ABA)的含量。具体检测过程如下:1)在叶片中加入液氮,在研钵中充分研磨,称取 100 mg,然后转入 2 mL 的离心管中;2)向离心管中加入 1 mL 乙酸乙酯提取液,提取液中含有内标,分别加入氘代水杨酸、氘代茉莉酸和氘代脱落酸;3)用均质器

(Eppendorf, Germany) 充分混匀 5 min; 4) 将离心管放入离心机, 4 °C, 13 000 g 离心 15 min; 5) 取出离心管, 用移液枪吸取 800 μ L 上清液并转移到新的离心管中; 6) 使用旋转蒸发仪抽干上清液中的溶剂; 然后向新的离心管中加入 600 μ L 70% 的甲醇溶液; 7) 4 °C, 13 000 g, 离心 10 min; 8) 将 400 μ L 上清转移到测量瓶中; 9) 上样, 用 UPLC-MS/MS 系统(LCMS-8040 system, Shimadzu)测定烟草植株激素。每个处理 3 个重复。

1.5 烟草叶片次生代谢物质检测

收集斜纹夜蛾为害 6 d 的叶片, 放入液氮冷冻处理后, 存放于 -80 °C 冰箱保存, 检测尼古丁和绿原酸的含量。具体测定方法如下: 1) 将栽培烟草叶片用液氮充分研磨, 称取 100 mg 样品放入 2 mL 的离心管; 2) 向离心管中加入 1 mL 的提取溶剂(40% 甲醇+0.1% 甲酸), 充分涡旋混匀 5 min; 3) 4 °C, 13 000 g 离心 20 min; 4) 将上清液转移到 1.5 mL 的离心管中, 同样条件再次离心, 去除细小的叶片微粒; 5) 将 400 μ L 上清装入上样瓶进行分析(LC-20AD system, Shimadzu); 6) 各种次级代谢产物的最佳出峰波长: 尼古丁(260 nm), 绿原酸(320 nm)。每个处理 3 个重复。

1.6 烟草植株胰蛋白酶抑制剂(TPI)测定

1) 配制 25 mL 的烟草植株凝胶(Sigma, 1.8% (m/v) 溶于 0.1 mol/L Tris-HCl (pH 7.6)) 并在 50 °C 的水中冷却; 2) 向凝胶中加入 50 μ L 1 mg/mL 的胰蛋白酶, 立即混合均匀并倒入 12 cm $\times$ 12 cm 的培养皿中; 3) 用打孔器在凝胶上打出直径为 4 mm 的洞; 4) 向洞中加入提取的栽培烟草叶片蛋白溶液以及标准液(大豆蛋白酶抑制剂, 浓度分别为: 0.30, 0.15, 0.075, 0.037 5 和 0.018 7 mg/mL); 5) 将培养皿放入 4 °C 冰箱 16-18 h; 6) 把培养皿取出, 倒入 25 mL 染色液(12 mg Fast Blue 溶于 125 μ L 水; 6 mg 的 APNE (N-acetyl-DL-phenylalanine β -naphthyl ester, Sigma) 溶于 5 mL 二甲基亚砜; 二者与 20 mL 0.1 mol/L Tris-HCl (pH 7.6) 混合均匀); 7) 培养皿

在 37 °C 放置 1 h, 然后倒掉染色液, 用清水冲洗干净; 8) 用游标卡尺量取 TPI 抑制圈的直径并结合标线得出结果。每个处理 3 个重复。

1.7 数据分析

斜纹夜蛾体重及烟草植株的激素和次生代谢物质含量, 用 SPSS 19.0 软件进行 One-way ANOVA 的 Duncan 氏多重比较进行分析。

2 结果与分析

2.1 取食诱导的烟草对斜纹夜蛾体重的影响

斜纹夜蛾的生测分析表明, 斜纹夜蛾幼虫取食诱导的烟草防御反应显著降低了斜纹夜蛾的生长, 这种影响在斜纹夜蛾幼虫喂养第 3 天开始显现。喂养的第 3 天, 斜纹夜蛾幼虫取食诱导显著增加了烟草对斜纹夜蛾的防御能力, 且遭受多次取食的烟草比遭受一次取食的烟草植株的防御反应更强, 取食二次诱导和一次诱导烟草的斜纹夜蛾体重比对照处理分别下降了 36.4% 和 15.4% ($F_{2,27}=20.117$, $P<0.0001$)。昆虫喂养的第 4 天, 昆虫诱导同样显著增加了植物对斜纹夜蛾的防御能力, 且取食二次诱导和一次诱导植物的斜纹夜蛾体重比对照处理分别下降了 30.3% 和 14.6% ($F_{2,27}=14.377$, $P<0.0001$) (图 1)。

2.2 昆虫处理对烟草植株激素的影响

与对照相比, 二次诱导显著增加了烟草植株体内的 JA 含量, 且二次诱导比一次诱导的 JA 含量增加 78.9% ($F_{2,6}=11.514$, $P=0.009$)。虽然一次诱导的激素含量与对照相比差异不显著, 但一次诱导比对照的激素含量增加 171.4% (图 2: A)。与对照处理相比, 斜纹夜蛾一次诱导和二次诱导对 SA 的含量没有影响 ($F_{2,6}=0.051$, $P=0.951$) (图 2: B)。我们还测定了斜纹夜蛾取食后叶片中 ABA 的含量, 结果发现昆虫处理对 ABA 含量也没有影响 ($F_{2,6}=0.411$, $P=0.680$) (图 2: C)。

2.3 斜纹夜蛾取食对烟草抗虫物质的影响

昆虫处理增加了烟草中尼古丁的含量, 二次诱导和一次诱导分别比对照处理增加了 73.5%

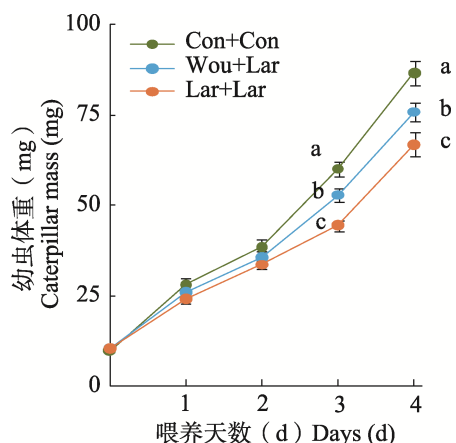


图1 植物的警备防御对斜纹夜蛾生长的影响

Fig. 1 Effects of plant primed defence on the performance of *Spodoptera litura*

Con+Con: 对照+对照; Wou+Lar: 机械损伤+昆虫诱导; Lar+Lar: 昆虫诱导+昆虫诱导。图中数据为平均值±标准误差, 图中折线或柱上字母不同表示处理间差异显著(单因素方差分析, Duncan氏多重检验)。图2和图3同。

Con+Con: Control+Control; Wou+Lar: Wounding+Larva; Lar+Lar: Larva+Larva. Data in the figure are mean±SE. Different letters above broken lines or bars indicate significant differences (One-way ANOVA followed by Duncan's multiple range test). The same for Fig. 2 and Fig. 3.

和 33.3%, 且二次诱导比一次诱导显著增加 30.2% ($F_{2,6}=23.709$, $P=0.001$) (图 3: A)。昆虫处理显著影响了烟草中绿原酸的含量, 与一次诱导和对照处理相比, 二次诱导显著增加的绿原酸的含量 ($F_{2,6}=7.848$, $P=0.021$) (图 3: B)。昆虫处理显著增加了烟草 TPI 的含量, 且昆虫二次诱导处理比一次诱导处理的 TPI 含量更高 ($F_{2,6}=24.274$, $P=0.001$) (图 3: C)。

3 讨论

笔者的研究表明, 烟草对植食性昆虫斜纹夜蛾存在警备防御, 连续遭受昆虫取食的植物比初次遭受昆虫取食的植物防御反应更强, 对昆虫的防御能力更高, 且植物对咀嚼式昆虫的警备防御是通过茉莉酸途径实现。

当植物受到害虫为害, 会激发自身的防御系统。作为植物防御的重要信号途径, JA 在植食性昆虫诱导的植物防御反应中发挥着重要作用 (Costarelli *et al.*, 2020; Walling, 2000; Fu *et al.*,

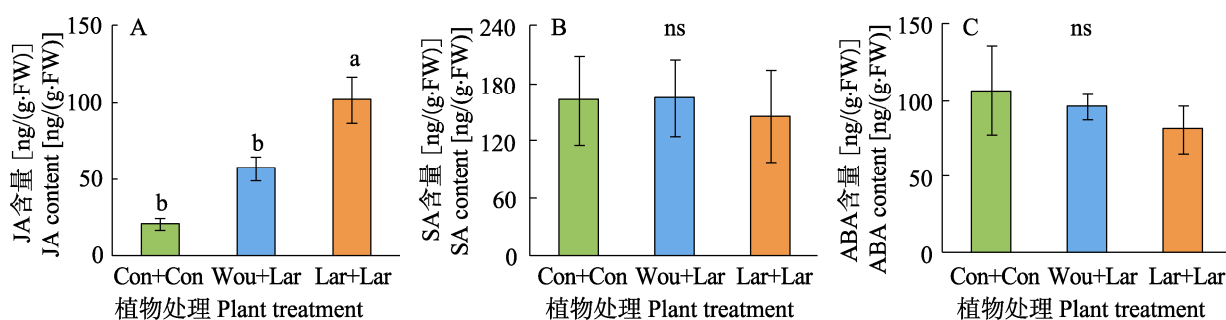


图2 植物警备防御对烟草激素 JA (A), SA (B) 和 ABA (C) 的影响

Fig. 2 Effects of plant primed defence on hormone concentration of JA (A), SA (B) and ABA (C)

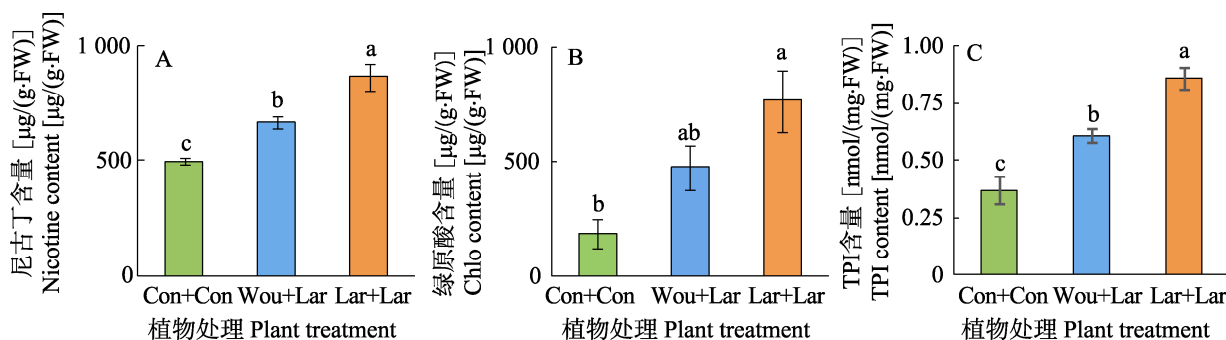


图3 植物警备防御对烟草次生代谢物质尼古丁 (A), 绿原酸 (B) 和 TPI (C) 的影响

Fig. 3 Effects of plant primed defence on secondary metabolisms of nicotine (A), chlo acid (B) and TPI (C)

2021)。研究发现,斜纹夜蛾取食美花烟草 *Nicotiana sylvestris* 后,烟草根部 JA 含量在 3 h 内升高 10 倍,叶部 JA 含量升高 3.5 倍(Baldwin *et al.*, 1997)。本实验中,昆虫取食也显著提高了茉莉酸的含量,证实了烟草叶部 JA 含量的升高提高烟草对害虫的防御作用。胰蛋白酶抑制剂是包括烟草在内的多种植物中重要的直接防御化合物(Sagili *et al.*, 2005; Tamhane *et al.*, 2007)。在很多种植物中发现 JA 能诱导植物蛋白酶抑制剂含量上升(Rakwal *et al.*, 2001; Casaretto *et al.*, 2004)。如在烟草中,烟草天蛾 *Manduca sexta* 幼虫为害及其唾液处理能诱导烟草植株中 JA 含量上升,并导致多种蛋白酶抑制剂含量增加(van Dam *et al.*, 2001)。本文的研究结果也表明,昆虫取食显著增加了 JA 的含量,并且作为重要防御物质的胰蛋白酶抑制剂含量在昆虫取食后也明显升高。这些结果表明,斜纹夜蛾幼虫的取食为害,能激活烟草体内的茉莉酸信号途径,并由此引发烟草胰蛋白酶抑制剂的增加。

在自然界,植物会遭受植食性昆虫多次取食。植物通过警备防御,能更好的应对外界压力(Bruce *et al.*, 2007; Conrath, 2011)。如果外界压力再次出现,植物的防御反应会更迅速、更敏感(Herman and Sultan, 2011; Walter *et al.*, 2011)。目前关于植物警备防御的研究多集中于应对外界非生物胁迫,而关于植物应对昆虫等生物胁迫的警备防御研究较少(Crisp *et al.*, 2016)。植物的警备防御可以跨代传播。例如,上一代的防御诱导可以使植物引发更强防御反应应对随后的攻击(van Hulten *et al.*, 2006)。JA 处理的种子对植食性昆虫抗性增强(Worrall *et al.*, 2011)。上一代的茉莉酸甲酯诱导可以使后代植物具有更强的抗性,并且母株需要 JA 的调控以增加下一代的抗性(Rasmann *et al.*, 2012)。我们的实验结果表明,植物的警备防御也可以在同一代植物中存在,遭受昆虫二次取食的烟草的防御能力比遭受一次取食的烟草防御能力更强。

植物激素作为信号分子在调控植物应对植食性昆虫取食中发挥重要作用(Loake and Grant, 2007; Buscaill and Rivas, 2014; Nejat and Mantri,

2017)。越来越多的证据表明不同的植物激素信号通路之间存在拮抗作用(Robert-Seilaniantz *et al.*, 2011; Aerts *et al.*, 2021; Varshney and Majee, 2021)。B 型烟粉虱若虫为害拟南芥强烈诱导 SA 途径并抑制 JA 途径(Kempema *et al.*, 2007; Zarate *et al.*, 2007),而烟蚜为害拟南芥同时诱导了 SA 和 JA 途径(Girling *et al.*, 2008)。我们的结果显示咀嚼式昆虫的二次取食增加了 JA 的含量,但没有影响 SA 和 ABA 的含量。这些结果表明 JA 在烟草防御斜纹夜蛾取食时发挥重要作用。

次生代谢物质是植物防御昆虫的重要武器。烟草中主要的次生代谢物质包括生物碱和酚类化合物(Keinanen *et al.*, 2001)。其中,以尼古丁为代表的烟碱是烟草生长代谢过程中产生的主要次生物质,在烟草的诱导防御系统中发挥重要作用(Baldwin and Preston, 1999)。绿原酸是烟草中含量最多、最重要的多酚类化合物(He *et al.*, 1999)。植物在遭受损伤后,酚类化合物含量会显著增加(Rani and Jyothsna, 2010)。且有研究表明酚含量的高低与植食性昆虫的生长发育呈显著负相关(Huang *et al.*, 2014)。烟蚜取食烟草后,烟草中烟碱含量增加了 56.8%(Fu *et al.*, 2010)。在我们的试验中也有类似的结果,昆虫取食诱导烟草体内尼古丁和绿原酸含量显著增加,且二次诱导比一次诱导的量增加更多,说明尼古丁和绿原酸在昆虫诱导的烟草防御反应和警备防御反应中起重要作用。

风险/收益分析表明,在不受到实际威胁的情况下保持高水平的防御会对植株的生长产生负面影响,并且只有在高风险的情况下这种防御机制才会使植物受益。植物的警备防御提供了一种不同的方式来应对植食性昆虫的威胁。植物以一种未知的启动机制,在再次受到昆虫攻击时做出更强烈的反应,正如结果所呈现,当植物第 2 次受到昆虫攻击时,会诱导产生浓度更高的次生代谢物质。通过这种警备防御的方式,植物可以在第一时间对昆虫进行更有效的防御(Heil and Baldwin, 2002)。而植物的警备防御机制需要通过基因水平和分子水平的研究进一步探讨。

我们的研究结果从昆虫表型、激素水平和代

谢水平为植物的警备防御提供了坚实的理论支撑。因此, 未来应在外源 JA 激发烟草植株形成抗性次生物质及其对害虫的防御反应程度与持续时间等方面进行研究, 以提高烟草生产中的绿色防控水平。

参考文献 (References)

- Aerts N, Pereira Mendes M, Van Wees SC, 2021. Multiple levels of crosstalk in hormone networks regulating plant defense. *Plant J.*, 105(2): 489–504.
- Baldwin IT, Preston CA, 1999. The eco-physiological complexity of plant responses to insect herbivores. *Planta*, 208(2): 137–145.
- Baldwin IT, Zhang ZP, Diab N, Ohnmeiss TE, Mccloud ES, Lynds GY, 1997. Quantification, correlations and manipulations of wound-induced changes in jasmonic acid and nicotine in *Nicotiana sylvestris*. *Planta*, 201(4): 397–404.
- Berens ML, Berry HM, Mine A, Argueso CT, Tsuda K, 2017. Evolution of hormone signaling networks in plant defense. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 55: 401–425.
- Bruce TJ, Matthes MC, Napier JA, Pickett JA, 2007. Stressful “memories” of plants: evidence and possible mechanisms. *Plant Sci.*, 173(6): 603–608.
- Buscaill P, Rivas S, 2014. Transcriptional control of plant defence responses. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 20: 35–46.
- Casaretto JA, Zúñiga GE, Corcuera LJ, 2004. Absciscic acid and jasmonic acid affect proteinase inhibitor activities in barley leaves. *J. Plant Physiol.*, 161(4): 389–396.
- Chen Y, Schmelz EA, Wäckers F, Ruberson JR, 2008. Cotton plant, *Gossypium hirsutum* L., defense in response to nitrogen fertilization. *J. Chem. Ecol.*, 34(12): 1553–1564.
- Conrath U, 2011. Molecular aspects of defence priming. *Trends Plant Sci.*, 16: 524–531.
- Conrath U, Pieterse CM, Mauch-Mani B, 2002. Priming in plant-pathogen interactions. *Trends Plant Sci.*, 7(5): 210–216.
- Costarelli A, Bianchet C, Ederli L, Salerno G, Piersanti S, Rebora M, Pasqualini S, 2020. Salicylic acid induced by herbivore feeding antagonizes jasmonic acid mediated plant defenses against insect attack. *Plant Signal. Behav.*, 15(1): 1704517.
- Crisp PA, Ganguly D, Eichten SR, Borevitz JO, Pogson BJ, 2016. Reconsidering plant memory: Intersections between stress recovery, RNA turnover, and epigenetics. *Sci. Adv.*, 2(2): e1501340.
- Dalling JW, Davis AS, Arnold AE, Sarmiento C, Zalamea PC, 2020. Extending plant defense theory to seeds. *Annu. Rev. Ecol. Evol.* S., 51: 123–141.
- Eichten SR, Schmitz RJ, Springer NM, 2014. Epigenetics: Beyond chromatin modifications and complex genetic regulation. *Plant Physiol.*, 165(3): 933–947.
- Engelberth J, Alborn HT, Schmelz EA, Tumlinson JH, 2004. Airborne signals prime plants against insect herbivore attack. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 101(6): 1781–1785.
- Fu X, Ye L, Kang L, Ge F, 2010. Elevated CO₂ shifts the focus of tobacco plant defences from cucumber mosaic virus to the green peach aphid. *Plant, Cell Environ.*, 33(12): 2056–2064.
- Fu W, Jin G, Jiménez-Alemán GH, Wang X, Song J, Li S, Li R, 2021. The jasmonic acid–amino acid conjugates JA–Val and JA–Leu are involved in rice resistance to herbivores. *Plant, Cell Environ.*, 45(1): 262–272.
- Gao Q, Tan XL, Xu L, Zhang WN, Wang D, Zhang WH, 2019. Predation of *Arma chinensis* on larvae of *Spodoptera litura*. *Tobacco Sci. China*, 40(6): 55–59. [高强, 谭效磊, 徐蕊, 张伟娜, 王迪, 张文慧, 2019. 蠋蝽对斜纹夜蛾幼虫的捕食作用研究. 中国烟草科学, 40(6): 55–59]
- Girling RD, Madison R, Hassall M, Poppy GM, Turner JG, 2008. Investigations into plant biochemical wound-response pathways involved in the production of aphid-induced plant volatiles. *J. Exp. Bot.*, 59(11): 3077–3085.
- He CX, Cui H, Sun YG, Zhao HZ, Shao XG, Zhao GW, 1999. Determination of chlorogenic acid and rutin in tobacco by high performance liquid chromatography with chemiluminescence inhibition detection. *Analytical Chemistry*, 27(9): 1. [贺彩霞, 崔华, 孙玉刚, 赵化章, 邵学广, 赵贵文, 1999. 高效液相色谱化学发光抑制检测法测定烟草中的绿原酸和芸香苷. 分析化学, 27(9): 1.]
- Heil M, Baldwin IT, 2002. Fitness costs of induced resistance: Emerging experimental support for a slippery concept. *Trends. Plant Sci.*, 7(2): 61–67.
- Herman JJ, Sultan SE, 2011. Adaptive transgenerational plasticity in plants: Case studies, mechanisms, and implications for natural populations. *Front. Plant Sci.*, 2: 102.
- Hernán G, Castejón I, Terrados J, Tomas F, 2019. Herbivory and resource availability shift plant defense and herbivore feeding choice in a seagrass system. *Oecologia*, 189(3): 719–732.
- Huang W, Siemann E, Xiao L, Yang X, Ding J, 2014. Species-specific defence responses facilitate conspecifics and inhibit heterospecifics in above-belowground herbivore interactions. *Nat. Commun.*, 5(1): 1–9.
- Joo Y, Kim H, Kang M, Lee G, Choung S, Kaur H, Kim SG, 2021. Pith - specific lignification in *Nicotiana attenuata* as a defense

- against a stem - boring herbivore. *New Phytol.*, 232(1): 332–344.
- Kempema LA, Cui X, Holzer FM, Walling LL, 2007. Arabidopsis transcriptome changes in response to phloem-feeding silverleaf whitefly nymphs. Similarities and distinctions in responses to aphids. *Plant Physiol.*, 143(2): 849–865.
- Keinänen M, Oldham NJ, Baldwin IT, 2001. Rapid HPLC screening of jasmonate-induced increases in tobacco alkaloids, phenolics, and diterpene glycosides in *Nicotiana attenuata*. *J. Agr. Food Chem.*, 49(8): 3553–3558.
- Kessler A, Baldwin IT, 2004. Herbivore-induced plant vaccination. Part I. The orchestration of plant defenses in nature and their fitness consequences in the wild tobacco *Nicotiana attenuata*. *Plant J.*, 38(4): 639–649.
- Kessler A, Halitschke R, Baldwin IT, 2004. Silencing the jasmonate cascade: Induced plant defences and insect populations. *Science*, 305(5684): 665–668.
- Kettles GJ, Drurey C, Schoonbeek HJ, Maule AJ, Hogenhout SA, 2013. Resistance of *Arabidopsis thaliana* to the green peach aphid, *Myzus persicae*, involves camalexin and is regulated by micro RNAs. *New Phytol.*, 198(4): 1178–1190.
- Kliebenstein DJ, 2012. Plant defense compounds: Systems approaches to metabolic analysis. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 50: 155–173.
- Lai CL, Zhang J, Shen TXP, Hao PY, Pang K, Yu XP, 2022. Review of how secondary metabolites defend plants against herbivorous insects. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 59(5): 969–978. [赖城玲, 张珺, 申屠旭萍, 郝培应, 庞琨, 俞晓平, 2022. 植物次生代谢物对植食性昆虫防御作用的研究进展. *应用昆虫学报*, 59(5): 969–978.]
- Li R, Jin J, Xu J, Wang L, Li J, Lou Y, Baldwin IT, 2021. Long non - coding RNAs associate with jasmonate - mediated plant defence against herbivores. *Plant Cell Environ.*, 44(3): 982–994.
- Li XC, Schuler MA, Berenbaum MR, 2002. Jasmonate and salicylate induce expression of herbivore cytochrome P450 genes. *Nature*, 419(6908): 712–715.
- Loake G, Grant M, 2007. Salicylic acid in plant defence-the players and protagonists. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 10(5): 466–472.
- Lucas-Barbosa, 2016. Integrating studies on plant-pollinator and plant-herbivore interactions. *Trends Plant Sci.*, 21(2): 125–133.
- Mao YB, Liu YQ, Chen DY, Chen FY, Fang X, Hong GJ, Chen XY, 2017. Jasmonate response decay and defense metabolite accumulation contributes to ageregulated dynamics of plant insect resistance. *Nat. Commun.*, 8: 13925.
- Mauch-Mani B, Baccelli I, Luna E, Flors V, 2017. Defense priming: An adaptive part of induced resistance. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 68: 485–512.
- Nejat N, Mantri N, 2017. Plant immune system: Crosstalk between responses to biotic and abiotic stresses the missing link in understanding plant defence. *Curr. Issues Mol. Biol.*, 23(1): 1–16.
- Orrock JL, Sih A, Ferrari M, Karban R, Preisser EL, Sheriff MJ, Thaler JS, 2015. Error management in plant allocation to herbivore defense. *Trends Ecol. Evol.*, 30(8): 441–445.
- Qin JD, 1985. Interactions between plant and insect. *Bull. Biol.*, 10: 16–18. [钦俊德, 1985. 植物与昆虫的关系. *生物学通报*, 10: 16–18.]
- Rakwal R, Agrawal GK, Agrawal VP, 2001. Jasmonate, salicylate, protein phosphatase 2A inhibitors and kinetin up-regulate OsPR5 expression in cut-responsive rice (*Oryza sativa*). *J. Plant Physiol.*, 158(10): 1357–1362.
- Rani PU, Jyothsna Y, 2010. Biochemical and enzymatic changes in rice plants as a mechanism of defense. *Acta Physiol. Plant*, 32(4): 695–701.
- Rasmann S, De Vos M, Casteel CL, Tian D, Halitschke R, Sun JY, Agrawal AA, Felton GW, Jander G, 2012. Herbivory in the previous generation primes plants for enhanced insect resistance. *Plant Physiol.*, 158(2): 854–863.
- Robert-Seilanianz A, Grant M, Jones JD, 2011. Hormone crosstalk in plant disease and defense: More than just jasmonate-salicylate antagonism. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 49: 317–343.
- Sagili RR, Pankiw T, Zhu-Salzman K, 2005. Effects of soybean trypsin inhibitor on hypopharyngeal gland protein content, total midgut protease activity and survival of the honey bee (*Apis mellifera* L.). *J. Insect Physiol.*, 51(9): 953–957.
- Scoville AG, Barnett LL, Bodbyl-Roels S, Kelly JK, Hileman LC, 2011. Differential regulation of a MYB transcription factor is correlated with transgenerational epigenetic inheritance of trichome density in *Mimulus guttatus*. *New Phytol.*, 191: 251–263.
- Sheng ZY, Li WZ, Yuan GH., 2019. Advances in studies on the relationship between plant odor diversity and insects. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 56(4): 652–661. [盛子耀, 李为争, 原国辉, 2019. 植物气味多样性与昆虫关系的研究进展. *应用昆虫学报*, 56(4): 652–661.]
- Sun X, Siemann E, Liu Z, Wang Q, Wang D, Huang W, Ding J, 2019. Root-feeding larvae increase their performance by inducing leaf volatiles that attract above-ground conspecific adults. *J. Ecol.*, 107(6): 2713–2723.
- Sun Z, Lin Y, Wang R, Li Q, Shi Q, Baerson SR, Song Y, 2021. Olfactory perception of herbivore-induced plant volatiles elicits

- counter-defences in larvae of the tobacco cutworm. *Func. Ecol.*, 35(2): 384–397.
- Tamhane VA, Giri AP, Sainani MN, Gupta VS, 2007. Diverse forms of Pin-II family proteinase inhibitors from *Capsicum annuum* adversely affect the growth and development of *Helicoverpa armigera*. *Gene*, 403(12): 29–38.
- van Dam NM, Hermenau U, Baldwin IT, 2001. Instar-specific sensitivity of specialist *Manduca sexta* larvae to induced defences in their host plant *Nicotiana attenuata*. *Ecol. Entomol.*, 26(6): 578–586.
- van Hulten M, Pelser M, van Loon LC, Pieterse CM, Ton J, 2006. Costs and benefits of priming for defense in *Arabidopsis*. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 103(14): 5602–5607.
- van Loon LC, Rep M, Pieterse CM, 2006. Significance of inducible defense-related proteins in infected plants. *Annu. Rev. Phytopathol.*, 44: 135–162.
- Varshney V, Majee M, 2021. Ja shakes hands with aba to delay seed germination. *Trends Plant Sci.*, 26(8): 4–7.
- Virlouvet L, Ding Y, Fujii H, Avramova Z, Fromm M, 2014. ABA signaling is necessary but not sufficient for RD 29 B transcriptional memory during successive dehydration stresses in *A. Rabidopsis thaliana*. *Plant J.*, 79(1): 150–161.
- Virlouvet L, Fromm M, 2015. Physiological and transcriptional memory in guard cells during repetitive dehydration stress. *New Phytol.*, 205(2): 596–607.
- Visakorpi K, Riutta T, Angélica E, Martínez-Bauer AE, Salminen JP, Gripenberg S, 2019. Insect community structure covaries with host plant chemistry but is not affected by prior herbivory. *Ecology*, 100(8): e01561.
- Vriet C, Hennig L, Laloi C, 2015. Stress-induced chromatin changes in plants: Of memories, metabolites and crop improvement. *Cell. Mol. Life Sci.*, 72: 1261–1273.
- Walling LL, 2000. The myriad plant responses to herbivores. *J. Plant Growth Regul.*, 19(2): 195–216.
- Walter J, Nagy L, Hein R, Rascher U, Beierkuhnlein C, Willner E, Jentsch A, 2001. Do plants remember drought? Hints towards a drought-memory in grasses. *Environ. Exp. Bot.*, 71(1): 34–40.
- Wang X, Vignjevic M, Jiang D, Jacobsen S, Wollenweber B, 2014. Improved tolerance to drought stress after anthesis due to priming before anthesis in wheat (*Triticum aestivum* L.) var. Vinjett. *J. Exp. Bot.*, 65(22): 6441–6456.
- Worrall D, Holroyd GH, Moore JP, Glowacz M, Croft P, Taylor JE, Paul ND, Roberts MR, 2011. Treating seeds with activators of plant defence generates long-lasting priming of resistance to pests and pathogens. *New Phytol.*, 193(3): 770–778.
- Yao C, Du L, Liu Q, Hu X, Ye W, Turlings TC, Li Y, 2023. Stemborer-induced rice plant volatiles boost direct and indirect resistance in neighboring plants. *New Phytol.*, 237(6): 2375–2387.
- Zarate SI, Kempema LA, Walling LL, 2007. Silverleaf whitefly induces salicylic acid defenses and suppresses effectual jasmonic acid defenses. *Plant Physiol.*, 143(2): 866–875.
- Zong N, Wang CZ, 2004. Induction of nicotine in tobacco by herbivory and its relation to glucose oxidase activity in the labial gland of three noctuid caterpillars. *Chinese Sci. Bull.*, 49(15): 1596–1601.
- Züst T, Agrawal AA, 2017. Trade-offs between plant growth and defense against insect herbivory: An emerging mechanistic synthesis. *Annu. Rev. Plant Biol.*, 68: 513–534.
- Zhang F, Ma DY, Zhou H, Zhang YP, 2012. Two secondary defensive cotton metabolites and their effects on the specific activities of carboxylesterase in *Bemisia tabaci*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 49(2): 408–413. [张帆, 马德英, 周泓, 张悦平, 2012. 两种棉花防御反应次生代谢物质及其对烟粉虱羧酸酯酶活性的影响. 应用昆虫学报, 49(2): 408–413.]
- Zhang SF, Kong XB, Wang HB, Zhang Z, 2013. Different strategies of plant resistance to insects and their interactions. *Chinese Journal of Applied Entomology*, [张苏芳, 孔祥波, 王鸿斌, 张真, 2013. 植物对昆虫不同防御类型及内在联系. 应用昆虫学报, 50(5): 1428–1437.]
- Zhang T, Zhi JR, Zeng G, Yue WB, Liu L, 2021. Review of induced plant defenses against the western flower thrip and adaptations by thrips to counter these. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 58(3): 479–486. [张涛, 邹军锐, 曾广, 岳文波, 刘利, 2021. 西花蓟马与植物互动中的诱导防御与适应性研究进展. 应用昆虫学报, 58(3): 479–486.]