

草地贪夜蛾取食诱导玉米叶片转录组分析

黄欣蒸¹ 单 双² 张丹丹² 张天涛² 石旺鹏¹ 张永军^{2*}

(1. 中国农业大学植物保护学院昆虫学系, 农业农村部作物有害生物监测与绿色防控重点实验室, 北京 100193;

2. 中国农业科学院植物保护研究所, 植物病虫害生物学国家重点实验室, 北京 100193)

摘要:为阐明玉米响应草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 取食胁迫防御反应的分子机制, 利用 RNA-seq 技术对草地贪夜蛾取食的玉米叶片进行转录组测序分析, 并对比抗虫代谢产物生物合成途径中的基因进行筛选鉴定。结果显示, 与未接虫对照相比, 草地贪夜蛾取食 18 h 导致玉米叶片中有 1 645 个基因差异表达 ($\log_2$ 处理/对照 >1 且 $FDR < 0.05$), 其中上调表达基因有 1 352 个, 下调表达基因有 293 个。茉莉酸、水杨酸、乙烯等植物激素生物合成与信号转导途径相关基因大多上调表达, 其中 44 个茉莉酸途径相关基因全部上调表达, 说明该途径在玉米响应草地贪夜蛾取食诱导的防御反应中发挥着核心作用, 其它激素生物合成与信号转导途径发挥协同作用。玉米重要抗虫次生代谢物苯并噁唑啉酮类生物合成相关基因中有 9 个基因上调表达; 15 个萜烯挥发物生物合成相关差异表达基因中有 14 个上调表达, 包括 8 个萜烯合成酶基因和 1 个 CYP 基因 *CYP92C5*。表明草地贪夜蛾取食会诱导玉米复杂的植物激素途径和基因调控机制, 激活以次级抗虫代谢物合成为主的防御反应。

关键词: 化学通讯; 生态调控; 信号分子; 植物挥发物; 萜烯合成酶

Transcriptome analysis of *Zea mays* leaves infested by fall armyworm *Spodoptera frugiperda* larvae

HUANG Xinzhen¹ SHAN Shuang² ZHANG Dandan² ZHANG Tiantao² SHI Wangpeng¹ ZHANG Yongjun^{2*}

(1. Department of Entomology and MOA Key Lab of Pest Monitoring and Green Management, College of Plant

Protection, China Agricultural University, Beijing 100193, China; 2. State Key Laboratory for Biology of

Plant Diseases and Insect Pests, Institute of Plant Protection, Chinese Academy of

Agricultural Sciences, Beijing 100193, China)

Abstract: To investigate the molecular mechanisms of defense response that *Spodoptera frugiperda* infestation trigger in maize plants, transcriptome sequencing was performed to analyze the maize plants infested with *S. frugiperda* larvae, and as yet unknown defensive genes involved in the biosynthesis of important secondary metabolites were identified. The results showed that 1 645 transcripts were differentially expressed ($\log_2$ treatment/control >1 ; $FDR < 0.05$) in *S. frugiperda*-infested (18 h) maize leaves compared to the uninfested control plants. Among these differentially expressed genes (DEGs), 1 352 were significantly upregulated, and 293 were significantly downregulated. Most of the DEGs involved in biosynthesis and signaling pathway of phytohormones such as jasmonic acid (JA), salicylic acid (SA) and ethylene (ET) were upregulated, and interestingly, all 44 DEGs in JA pathways were upregulated, highlighting a central role of JA in *S. frugiperda*-induced signaling with overlapping and synergistic effects on other phytohormone pathways. In the biosynthesis of benzoxazinoids, the most important defensive secondary metabolites in maize, nine genes were upregulated. Moreover, almost all (14 of 15)

基金项目: 国家重点研发计划(2019YFD0300101)

* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: yjzhang@ippcaas.cn

收稿日期: 2020-06-08

DEGs involved in herbivore-induced terpene biosynthesis were upregulated, and more noteworthy, all eight terpene synthase genes and one *CYP* gene (*CYP92C5*) responsible for terpenoid volatile emission were upregulated. The present data indicated that *S. frugiperda* induced massive changes in maize transcriptome and complex crosstalk between phytohormone pathways, and triggered the transcriptional reprogramming of defensive secondary metabolism.

Key words: chemical communication; ecological regulation; signaling molecule; plant volatile; terpene synthase

草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda* 自2019年1月入侵我国云南省后(杨学礼等,2019),已经在南方地区完成定殖过程,并在春、夏两季随季风迁移至长江流域、黄河流域和东北玉米及小麦等重要农作物主产区为害(吴孔明,2020)。草地贪夜蛾分为玉米型和水稻型,寄主植物多达350种,偏好禾本科植物(Montezano et al., 2018)。入侵我国的草地贪夜蛾种群为玉米型,嗜食玉米,对国内的玉米作物生产安全构成严重威胁(张磊等,2019)。有研究表明,与棉贪夜蛾 *Spodoptera littoralis*、甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 和棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 等其它鳞翅目害虫相比,草地贪夜蛾取食玉米时表现出更强的适应性,诱导玉米释放的抗虫挥发物更少,这可能是草地贪夜蛾对玉米为害更重的原因之一(De Lange et al., 2020)。

在长期进化过程中,植物为抵御害虫的取食为害逐渐形成了一套复杂有效的防御体系。如植物能够迅速识别昆虫取食和产卵产生的信号物质,并触发一系列级联信号事件,激活茉莉酸(jasmonic acid, JA)、水杨酸(salicylic acid, SA)与乙烯(ethylene, ET)等植物激素生物合成与信号转导途径,诱导防御相关基因表达,最终产生大量的抗虫次生代谢物(徐丽萍等,2018)。这些抗虫次生代谢物可以直接毒杀、驱避害虫,即直接防御;或者能够作为植物主动“呼救”的信号,被天敌识别和利用,即间接防御(Turlings & Erb, 2018; Xu & Turlings, 2018)。如丁布(2,4-dihydroxy-7-methoxy-1,4-benzoxazin-3-one, DIMBOA)等苯并噁唑啉酮类物质(benzoxazinoid, Bx)是玉米重要的抗虫次生代谢物,由Bx1~Bx14等酶催化生成(Wouters et al., 2016)。另外,玉米被草地贪夜蛾等昆虫为害后,还会释放大量的虫害诱导挥发物,这些诱导挥发物具有重要的生态学功能,如玉米中的吲哚可作为植物内/间的“预警”信号分子,激活不相邻组织或邻近植株处于警备状态,能够更快速地启动强烈的防御反应以抵御害虫(Erb et al., 2015; Hu et al., 2019)。同时,玉米被草地贪夜蛾为害后增强释放的挥发物能够显著吸引寄生性天敌缘

腹绒茧蜂 *Cotesia marginiventris* (Block et al., 2018); 玉米根部挥发物中的(E)- β -石竹烯能够吸引病原线虫寄生玉米根萤叶甲 *Diabrotica virgifera virgifera* (Degenhardt et al., 2009)。

近几来,转录组技术已广泛应用于植物诱导抗虫反应方面的研究,以解析植物抗虫次生代谢物的生物合成及调控机制。如利用RNA-seq技术揭示不同昆虫取食诱导玉米基因转录水平的变化,包括亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* (Wang et al., 2017; Guo et al., 2019)、禾谷缢管蚜 *Rhopalosiphum padi* (Song et al., 2017)、玉米蚜 *Rhopalosiphum maidis* (Tzin et al., 2015)、东方黏虫 *Mythimna separata* (Qi et al., 2016; Malook et al., 2019)、甜菜夜蛾(Tzin et al., 2017)以及地下害虫暗黑鳃金龟 *Holotrichia parallela* (Pan et al., 2020)。Ankala et al. (2003)利用芯片技术研究了草地贪夜蛾取食玉米后,其叶片及根部基因的差异表达情况,表现为JA、ET途径相关基因上调表达。目前利用转录组测序研究草地贪夜蛾取食诱导玉米防御反应分子机制的报道还较少。本研究利用转录组测序技术探讨玉米响应草地贪夜蛾取食胁迫的基因调控机制,分析抗虫次生代谢物相关基因的差异表达情况,挖掘玉米直接防御与间接防御相关新基因,以期为设计靶标昆虫行为调控策略提供新思路,应用于草地贪夜蛾的绿色防控实践。

1 材料与方法

1.1 材料

供试植物:玉米品种为郑单958,由河南省农业科学院植物保护研究所李国平副研究员提供,种植于温室中,温度为29/25℃,自然光照条件下培养,每2 d浇水1次,16 d后长至4叶期时供试。

供试昆虫:草地贪夜蛾种群采自云南省德宏州鲜食玉米田,置于温度为(26±1)℃、相对湿度为(60±10)%、光周期为16 L:8 D的人工培养箱中,用基于黄豆面和玉米面自制的人工饲料饲养,取同批次的3龄初幼虫供试。

试剂和仪器: Trizol 试剂, 赛默飞世尔科技(中国)有限公司; 无水乙醇、氯仿、异丙醇, 宝生物工程(大连)有限公司; NEB#7530 文库构建试剂盒, 美国 New England Biolabs 公司。RXZ 型人工气候箱, 宁波江南仪器厂; Nanodrop 2000 微量分光光度计, 赛默飞世尔科技有限公司; Agilent 2100 生物分析仪, 安捷伦科技有限公司。

1.2 方法

1.2.1 玉米叶片 RNA 的提取与测序

取 4 叶期玉米进行活体接虫, 每片叶接 1 头 3 龄幼虫, 每株接 4 头, 于 19:00 开始统一接虫, 接虫后均置于长 70 cm×宽 70 cm×高 50 cm 的行为箱中, 在室内自然条件下让其自由取食, 定时检查幼虫是否逃逸或掉落, 并及时补回, 按照预试验结果, 幼虫为害 18 h 玉米症状表型已较明显, 因此本研究设定接虫时间为 18 h。待 18 h 后去除幼虫, 剪取受害叶片用于 RNA 提取。以不接虫玉米苗为对照。每处理设 3 次重复。分别取上述各处理玉米叶片进行磨样, 采用 Trizol 法提取玉米样品的 RNA。使用 Nanodrop 微量分光光度计和 Agilent 2100 生物分析仪进行 RNA 质量检测, 取 $1.8 < OD_{260\text{ nm}}/OD_{280\text{ nm}} < 2.0$ 、RNA 完整度值 ≥ 7.0 的样品, 采用 Illumina HiSeq 2500 平台进行转录组测序, 由基迪奥生物科技有限公司完成。为了保证测序数据质量, 对原始数据进行质控, 过滤低质量数据, 得到高质量序列, 并进行碱基质量分析, 碱基组成越平衡, 则数据质量越高。然后进行序列比对分析(核糖体比对分析、参考基因组比对分析、比对区域统计)、基因分析、表达量统计、样本关系分析和组间差异分析。

1.2.2 差异表达基因 GO 分类功能注释

从 http://plants.ensembl.org/Zea_mays/Info/Index# 网站下载玉米 B73 基因组 RefGen_v4 (Jiao et al., 2017), 作为参考基因组与本研究 1.2.1 中得到的序列进行对比, 并筛选差异表达基因, 将 $\log_2[\text{处理}/\text{对照}] > 1$ 且错误发现率(false discovery rate, FDR) < 0.05 的基因定义为差异表达基因。使用 Gene Ontology (GO) 数据库与 BLAST2 GO (<http://www.geneontology.org/>) 对筛选到的差异表达基因进行功能注释。

1.2.3 抗虫相关基因的筛选鉴定

植物激素生物合成及信号转导途径在昆虫取食诱导的防御反应中发挥着至关重要的作用 (Rowen & Kaplan, 2016; Erb & Reymond, 2019); Bx 是玉米重要的抗虫次生代谢物 (Wouters et al., 2016); 虫害诱导挥发物主要分为萜烯类、绿叶气味(即脂肪酸衍生

物)和苯基/苯丙烷类(即莽草酸衍生物)3 大类, 也具有重要的抗虫功能 (Dudareva et al., 2013)。因此, 基于 1.2.2 中差异表达基因功能注释结果, 本研究重点分析植物激素生物合成与信号转导途径以及抗虫次生代谢物合成途径相关基因的差异表达情况, 并利用基迪奥生物 OmicShare 平台在线软件 (<http://www.omicshare.com/tools>) 绘制热图。

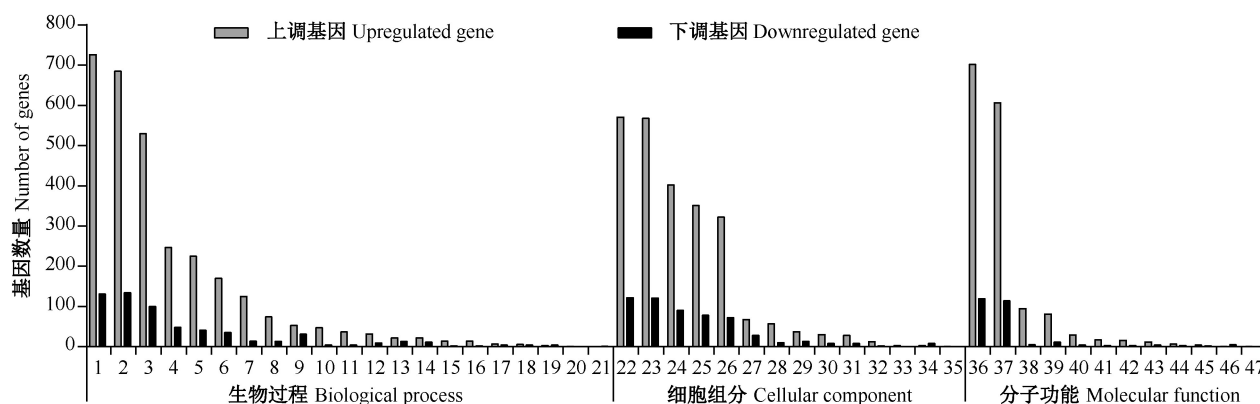
2 结果与分析

2.1 差异表达基因的鉴定及 GO 分类分析

草地贪夜蛾取食玉米叶片 18 h 后, 检测到叶片中有 1 645 个基因差异表达 ($\log_2[\text{处理}/\text{对照}] > 1$ 且 $\text{FDR} < 0.05$), 其中上调表达基因有 1 352 个, 远多于下调表达基因 293 个。差异基因 GO 分类功能注释结果表明(图 1), 生物过程一类中, 差异表达基因富集数目较多的为代谢过程(上调表达基因 726 个, 下调表达基因 131 个)、细胞过程(上调表达基因 685 个, 下调表达基因 134 个)、单组织过程(上调表达基因 530 个, 下调表达基因 100 个)、生物调节(上调表达基因 247 个, 下调表达基因 48 个)、生物过程调节(上调表达基因 225 个, 下调表达基因 41 个)、刺激响应(上调表达基因 170 个, 下调表达基因 35 个)和定位(上调表达基因 125 个, 下调表达基因 14 个); 细胞组分一类中, 差异表达基因富集数目较多的为细胞(上调表达基因 570 个, 下调表达基因 122 个)、细胞组分(上调表达基因 568 个, 下调表达基因 121 个)、膜(上调表达基因 402 个, 下调表达基因 90 个)、膜组分(上调表达基因 351 个, 下调表达基因 78 个)和细胞器(上调表达基因 322 个, 下调表达基因 72 个); 分子功能一类中, 差异表达基因富集数目较多的为催化活性(上调表达基因 702 个, 下调表达基因 119 个)和结合(上调表达基因 606 个, 下调表达基因 114 个)。

2.2 植物激素生物合成与信号转导途径相关基因表达

草地贪夜蛾取食玉米叶片 18 h 后, 导致叶片中有 22 个 JA 生物合成途径相关基因和 22 个 JA 信号转导途径相关基因的差异表达, 且这 44 个基因均为上调表达(图 2)。21 个 ET 途径相关基因及 4 个油菜素甾醇途径相关基因也全部上调表达。其它激素途径中大部分基因均上调表达, 如 11 个 SA 途径相关基因中有 10 个上调表达, 16 个脱落酸(abscisic acid, ABA)途径相关基因中有 15 个上调表达, 14 个生长素途径相关基因中有 10 个上调表达, 9 个细胞分裂素途径相关基因中有 6 个上调表达, 5 个赤霉素途径相关基因中有 4 个上调表达(图 2)。



1: 代谢过程; 2: 细胞过程; 3: 单组织过程; 4: 生物调节; 5: 生物过程调节; 6: 刺激响应; 7: 定位; 8: 信号转导; 9: 细胞组成或生物发生; 10: 多组织过程; 11: 生物过程负调控; 12: 生物过程正调控; 13: 发育过程; 14: 多细胞生物过程; 15: 繁殖; 16: 繁殖过程; 17: 解毒作用; 18: 免疫系统程序; 19: 生长; 20: 细胞死亡; 21: 移动; 22: 细胞; 23: 细胞组分; 24: 膜; 25: 膜组分; 26: 细胞器; 27: 细胞器组分; 28: 胞外区; 29: 大分子复合体; 30: 细胞连接; 31: 共质体; 32: 膜封闭腔; 33: 胞外区组分; 34: 超分子纤维; 35: 胞外基质; 36: 催化活性; 37: 结合; 38: 转运蛋白活性; 39: 核酸结合转录因子活性; 40: 分子功能调控; 41: 信号转导蛋白活性; 42: 分子转导蛋白活性; 43: 电子运载体活性; 44: 抗氧化分子活性; 45: 营养库活性; 46: 结构分子活性; 47: 蛋白结合转录因子活性。1: Metabolic process; 2: cellular process; 3: single-organism process; 4: biological regulation; 5: regulation of biological process; 6: response to stimulus; 7: localization; 8: signaling; 9: cellular component organization or biogenesis; 10: multi-organism process; 11: negative regulation of biological process; 12: positive regulation of biological process; 13: developmental process; 14: multicellular organismal process; 15: reproduction; 16: reproductive process; 17: detoxification; 18: immune system process; 19: growth; 20: cell killing; 21: locomotion; 22: cell; 23: cell part; 24: membrane; 25: membrane part; 26: organelle; 27: organelle part; 28: extracellular region; 29: macromolecular complex; 30: cell junction; 31: symplast; 32: membrane-enclosed lumen; 33: extracellular region part; 34: supramolecular fiber; 35: extracellular matrix; 36: catalytic activity; 37: binding; 38: transporter activity; 39: nucleic acid binding transcription factor activity; 40: molecular function regulator; 41: signal transducer activity; 42: molecular transducer activity; 43: electron carrier activity; 44: antioxidant activity; 45: nutrient reservoir activity; 46: structural molecule activity; 47: protein binding transcription factor activity.

图1 草地贪夜蛾取食诱导玉米差异表达基因的GO功能注释

Fig. 1 Distribution of DEGs in the maize leaf in response to *Spodoptera frugiperda* based on GO functional categories

2.3 Bx合成相关基因的表达

抗虫次生代谢物Bx生物合成相关的14个关键基因中, *Bx3*、*Bx4*、*Bx5*、*Bx8*和*Bx9*的表达量未发生显著变化,而*Bx1*、*Bx2*、*Bx6*、*Bx7*和*Bx10*~*Bx14*这9个基因在草地贪夜蛾取食后均上调表达(图3)。

2.4 植物挥发物合成相关基因的表达

草地贪夜蛾取食玉米叶片18 h后,15个萜烯挥发物生物合成相关基因差异表达,其中14个上调表达,1个下调表达。值得注意的是,差异表达基因中共有8个萜烯合成酶(terpene synthase, TPS)基因,均为上调表达,TPS基因是萜烯挥发物生物合成的关键基因;另外,2种萜烯同系物(*E*)-4,8-二甲基-1,3,7-壬三烯((*E*)-4,8-dimethyl-1,3,7-nonatriene, DMNT)和(*E,E*)-4,8,12-三甲基-1,3,7,11-十三碳四烯((*E,E*)-4,8,12-trimethyltrideca-1,3,7,11-tetraene, TMTT)由TPS2和CYP(CYP92C5和CYP92C6)共同催化生成,除TPS2上调表达外,

CYP92C5也上调表达,但CYP92C6的表达量未显著变化。草地贪夜蛾取食诱导玉米叶片中8个脂氧合酶(lipoxygenase, LOX)基因均上调表达,LOX基因参与绿叶挥发物及茉莉酸的生物合成;另外,草地贪夜蛾取食还诱导顺-3-己烯醇乙酰转移酶((*Z*)-3-hexen-1-ol acetyltransferase)基因上调表达,其酶活产物顺-3-乙酸叶醇酯((*Z*)-3-hexenyl acetate)是重要的绿叶挥发物。草地贪夜蛾取食诱导玉米叶片中苯基/苯丙烷类挥发物生物合成相关基因中的16个基因上调表达,3个基因下调表达,而苯丙氨酸氨基裂解酶(phenylalanine ammonia-lyase, PAL)、肉桂酸-4-羟解酶(cinnamate-4-hydroxylase, C4H)和4-香豆酰辅酶A连接酶(4-coumarate-CoA ligase, 4CL)是该类化合物合成途径中的3个关键酶,差异表达基因中有5个PAL基因上调表达,1个PAL基因下调表达,2个C4H基因上调表达,2个4CL基因上调表达(图3)。



图2 草地贪夜蛾取食诱导植物激素生物合成与信号转导途径中差异表达基因

Fig. 2 *Spodoptera frugiperda*-responsive DEGs involved in phytohormone biosynthesis and signaling
基因功能注释详见 https://www.maizegdb.org/associated_genes; 不同颜色代表不同的基因表达量($\log_2$ |处理/对照|)。Gene function annotations are accessible online at https://www.maizegdb.org/associated_genes; $\log_2$ |treatment/control| values are visualized by a color scale.

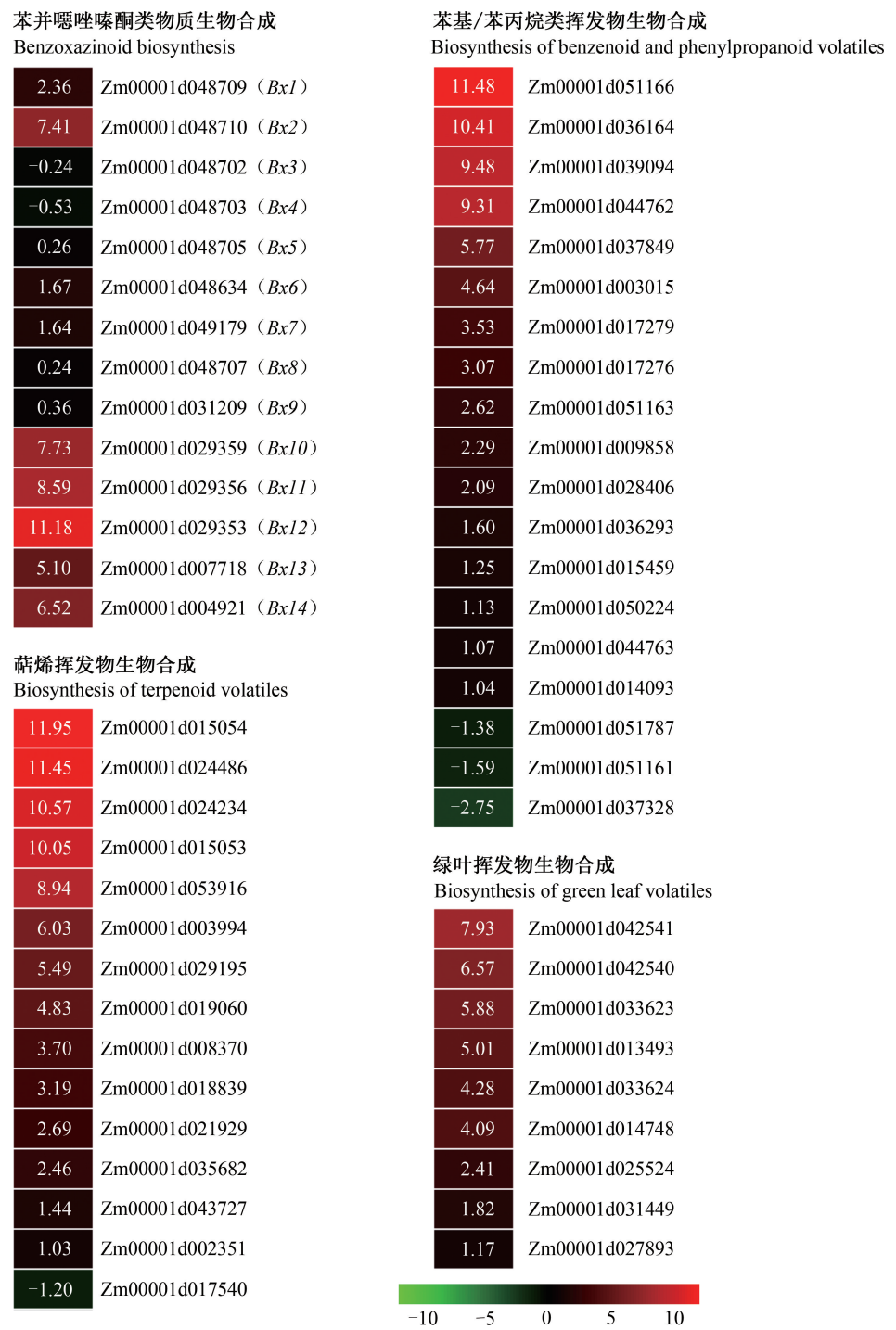


图3 草地贪夜蛾取食诱导苯并噁唑酮类物质及植物挥发物生物合成途径中差异表达基因

Fig. 3 *Spodoptera frugiperda*-responsive DEGs involved in the biosynthesis of benzoxazinoid and plant volatiles
基因功能注释详见 https://www.maizegdb.org/associated_genes; 不同颜色代表不同的基因表达量($\log_2$ |处理/对照|)。Gene function annotations are accessible online at https://www.maizegdb.org/associated_genes; $\text{Log}_2|\text{treatment/control}|$ values are visualized by a color scale.

3 讨论

本研究结果显示,草地贪夜蛾取食玉米叶片共诱导了1 645个差异表达基因,其中植物激素、苯并噁唑酮类、植物挥发物等抗虫代谢物合成途径中

的大多数差异表达基因在草地贪夜蛾取食后都上调表达,说明草地贪夜蛾取食激活了玉米抗虫代谢物相关基因的调控机制。昆虫取食诱导的植物防御反应涉及生理生化与物质代谢等多个方面,整体上是

由初级代谢物合成为主的生长发育向次级代谢物合

成为主的防御反应转移的一个重建过程(Zhou et al., 2011; Huang et al., 2015)。

JA和SA等植物激素在植物诱导防御反应中发挥着重要功能。一般来说,SA在植物抵御蚜虫、粉虱等刺吸式害虫和病原菌的防御中发挥着重要作用,而咀嚼式口器害虫、害螨和蜡类及蓟马等刺吸式害虫主要激活JA途径(Rowen & Kaplan, 2016)。通常,SA与JA途径存在相互拮抗作用,但也有研究表明这2种途径存在协同作用(Erb & Reymond, 2019)。本研究结果表明,8个植物激素途径相关基因中有124个差异表达基因,且大多数差异表达基因都上调表达。其中JA途径差异表达基因最多,达到44个,且全部上调表达,说明JA途径在草地贪夜蛾取食诱导的寄主玉米防御反应中发挥着核心作用,SA等其它植物激素途径发挥着协同作用。玉米响应其它鳞翅目幼虫取食也有类似结果,如东方黏虫口腔分泌物能够诱导玉米中的JA、SA、ET和ABA等物质增多积累,且多个相关基因上调表达(Qi et al., 2016)。亚洲玉米螟取食也能够诱导JA、SA和ABA途径多个相关基因上调表达,同时导致JA和ABA的含量增加,但是SA的含量并未增加(Guo et al., 2019)。

Bx抗虫次生代谢物广泛存在于玉米与小麦等粮食作物中,正常情况下,Bx以糖苷形式存在于植物液泡内,当植物遭受昆虫为害时会分解成相应的抗虫物质,包括HDMBOA(2-hydroxy-4,7-dimethoxy-1,4-benzoxazin-3-one)、DIMBOA、MBOA(6-methoxy-benzoxazolin-2-one)、DIM₂BOA(2,4-dihydroxy-7,8-dimethoxy-1,4-benzoxazin-3-one)和HDM₂BOA(2-dihydroxy-4,7,8-trimethoxy-1,4-benzoxazin-3-one)等,其中HDMBOA对草地贪夜蛾等鳞翅目幼虫具有较强的毒杀、拒食和抑制生长发育等作用。草地贪夜蛾(Glauser et al., 2011)、亚洲玉米螟(Guo et al., 2019)及东方黏虫(Qi et al., 2016; Malook et al., 2019)取食玉米能够诱导Bx含量增多。与欧洲玉米螟*Ostrinia nubilalis*相比,灰翅夜蛾属*Spodoptera*的昆虫对Bx具有较强的适应性,而灰翅夜蛾属中,草地贪夜蛾对该类抗虫物质的抗性优于棉贪夜蛾、南方贪夜蛾*Spodoptera eridania*和甜菜夜蛾(Wouters et al., 2016)。棉贪夜蛾偏好取食Bx含量相对少的玉米老叶,而草地贪夜蛾偏好取食Bx含量更多的嫩叶,Bx中的一些组分能够刺激和促进草地贪夜蛾的取食行为(Wouters et al., 2016)。但也有研究表明,草地贪夜蛾4龄幼虫取食玉米能够抑制DIMBOA-

glucoside和DIM₂BOA-glucoside等组分的诱导产生,其诱导量显著少于棉贪夜蛾4龄幼虫的诱导量(Glauser et al., 2011)。本研究结果表明,草地贪夜蛾取食诱导Bx生物合成中的9个基因上调表达,但是玉米叶片中哪些Bx组分含量增多仍有待进一步研究验证。

玉米被昆虫取食为害后会释放大量的挥发物,这些挥发物在驱避、毒杀害虫的直接防御反应中以及吸引天敌的间接防御反应中都发挥着重要功能。如亚洲玉米螟取食玉米诱导释放的挥发物对腰带长体茧蜂*Macrocentrus cingulum*雌、雄蜂均具有显著吸引作用(Guo et al., 2019);棉贪夜蛾幼虫为害玉米诱导释放的挥发物显著吸引寄生蜂缘腹绒茧蜂(D'Alessandro et al., 2009)。(E)- α -香柑油烯和(E)- β -法尼烯由萜烯合成酶TPS10催化生成,超表达TPS10基因的拟南芥突变体植株能够吸引缘腹绒茧蜂(Schnee et al., 2006)。本研究中草地贪夜蛾取食玉米叶片诱导了43个挥发物生物合成相关基因差异表达,其中大多数基因上调表达,达到39个,有19个苯基/苯丙烷类挥发物生物合成相关基因差异表达,包括PAL、C4H和4CL等关键基因;另外,草地贪夜蛾还诱导了顺-3-己烯醇乙酰转移酶基因的上调表达,它直接催化顺-3-乙酸叶醇酯的生成。顺-3-乙酸叶醇酯是玉米绿叶挥发物的主要组分,能够作为植物内/间的“预警”信号分子,激活不相邻组织或邻近植株的防御反应(Hu et al., 2019)。绿叶挥发物在植物被昆虫取食或机械损伤后几分钟内即大量释放(D'Auria et al., 2007)。萜类化合物是虫害诱导挥发物中最的一类,且只在植食性昆虫取食后特异性释放,模仿取食的连续机械损伤并不能诱导该类物质大量释放。TPS家族基因和CYP基因是萜烯挥发物生物合成的关键基因,草地贪夜蛾取食导致8个TPS基因和CYP92C5的差异表达,且均为上调表达,其中TPS23(Zm00001d024234)酶活产物为(E)- β -石竹烯(Köllner et al., 2008),TPS10(Zm00001d024486)酶活产物为(E)- α -香柑油烯和(E)- β -法尼烯(Schnee et al., 2006),TPS2(Zm00001d015053)和CYP92C5(Zm00001d018839)共同催化生成萜烯同系物DMNT(Richter et al., 2016)。有研究表明,与棉贪夜蛾、甜菜夜蛾和棉铃虫等其它咀嚼式口器害虫相比,草地贪夜蛾口腔分泌物活性较低,取食玉米所诱导的挥发物更少(de Lange et al., 2020),推测本研究中植物挥发物相关差异表达基因的数量会少于这些害虫取

食诱导玉米挥发物相关基因的数量,但有待进一步深入研究。

本研究利用转录组技术鉴定了玉米响应草地贪夜蛾取食胁迫差异表达基因,为抗虫基因的挖掘提供了参考。另外,作物在驯化过程中可能会丢失一些抗虫性状,如非洲玉米栽培种根部不能释放(*E*)- β -石竹烯,对玉米根萤叶甲的病原线虫引诱力较弱,更易受害,而超表达(*E*)- β -石竹烯合成酶基因的突变体植株能够吸引更多病原线虫(Degenhardt et al., 2009)。大刍草是玉米的近缘祖先,比玉米表现出更强的抗草地贪夜蛾性状(Szczepaniec et al., 2013)。因此,今后的工作可进一步挖掘野生种质资源的抗虫基因,用于提高作物的抗虫性,这将是草地贪夜蛾绿色防控中的重要一环。

参 考 文 献 (References)

- ANKALA A, KELLEY RY, ROWE E, WILLIAMS WP, LUTHE DS. 2013. Foliar herbivory triggers local and long distance defense responses in maize. *Plant Science*, 199/200(1): 103–112
- BLOCK AK, HUNTER CT, RERING C, CHRISTENSEN SA, MEAGHER RL. 2018. Contrasting insect attraction and herbivore-induced plant volatile production in maize. *Planta*, 248(1): 105–116
- D'ALESSANDRO M, BRUNNER V, VON MÉRÉY G, TURLINGS TCJ. 2009. Strong attraction of the parasitoid *Cotesia marginiventris* towards minor volatile compounds of maize. *Journal of Chemical Ecology*, 35(9): 999
- D'AURIA JC, PICHERSKY E, SCHAUB A, HANSEL A, GERSHENZON J. 2007. Characterization of a BAHD acyltransferase responsible for producing the green leaf volatile (*Z*)-3-hexen-1-yl acetate in *Arabidopsis thaliana*. *The Plant Journal*, 49(2): 194–207
- DE LANGE ES, LAPLANCHE D, GUO HJ, XU W, VLIMANT M, ERB M, TON J, TURLINGS TCJ. 2020. *Spodoptera frugiperda* caterpillars suppress herbivore-induced volatile emissions in maize. *Journal of Chemical Ecology*, 46(3): 344–360
- DEGENHARDT J, HILTPOLD I, KÖLLNER TG, FREY M, GIERL A, GERSHENZON J, HIBBARD BE, ELLERSIECK MR, TURLINGS TCJ. 2009. Restoring a maize root signal that attracts insect-killing nematodes to control a major pest. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 106(32): 13213–13218
- DUDAREVA N, KLEMPIEN A, MUHLEMANN JK, KAPLAN I. 2013. Biosynthesis, function and metabolic engineering of plant volatile organic compounds. *New Phytologist*, 198: 16–32
- ERB M, REYMOND P. 2019. Molecular interactions between plants and insect herbivores. *Annual Review of Plant Biology*, 70: 527–557
- ERB M, VEYRAT N, ROBERT CAM, XU H, FREY M, TON J, TURLINGS TCJ. 2015. Indole is an essential herbivore-induced volatile priming signal in maize. *Nature Communications*, 6: 6273
- GLAUSER G, MARTI G, VILLARD N, DOYEN GA, WOLFENDER JL, TURLINGS TCJ, ERB M. 2011. Induction and detoxification of maize 1, 4-benzoxazin-3-ones by insect herbivores. *The Plant Journal*, 68(5): 901–911
- GUO JF, QI JF, HE KL, WU JQ, BAI SX, ZHANG TT, ZHAO JR, WANG ZY. 2019. The Asian corn borer *Ostrinia furnacalis* feeding increases the direct and indirect defence of mid-whorl stage commercial maize in the field. *Plant Biotechnology Journal*, 17(1): 88–102
- HU LF, YE M, ERB M. 2019. Integration of two herbivore-induced plant volatiles results in synergistic effects on plant defence and resistance. *Plant, Cell and Environment*, 42(3): 959–971
- HUANG XZ, CHEN JY, XIAO HJ, XIAO YT, WU J, WU JX, ZHOU JJ, ZHANG YJ, GUO YY. 2015. Dynamic transcriptome analysis and volatile profiling of *Gossypium hirsutum* in response to the cotton bollworm *Helicoverpa armigera*. *Scientific Reports*, 5: 11867
- JIAO YP, PELUSO P, SHI JH, LIANG T, STITZER MC, WANG B, CAMPBELL MS, STEIN JC, WEI XH, CHIN CS, et al. 2017. Improved maize reference genome with single-molecule technologies. *Nature*, 546(7659): 524–527
- KÖLLNER TG, HELD M, LENK C, HILTPOLD I, TURLINGS TCJ, GERSHENZON J, DEGENHARDT J. 2008. A maize (*E*)- β -caryophyllene synthase implicated in indirect defense responses against herbivores is not expressed in most American maize varieties. *The Plant Cell*, 20(2): 482–494
- MALOOK SU, QI JF, HETTENHAUSEN C, XU YX, ZHANG CP, ZHANG JX, LU CK, LI J, WANG L, WU JQ. 2019. The oriental armyworm (*Mythimna separata*) feeding induces systemic defence responses within and between maize leaves. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*, 374(1767): 20180307
- MONTEZANO DG, SPECHT A, SOSA-GÓMEZ DR, ROQUE-SPECHT VF, SOUSA-SILVA JC, PAULA-MORAES SV, PETERSON JA, HUNT TE. 2018. Host plants of *Spodoptera frugiperda* (Lepidoptera: Noctuidae) in the Americas. *African Entomology*, 26(2): 286–300
- PAN Y, ZHAO SW, TANG XL, WANG S, WANG X, ZHANG XX, ZHOU JJ, XI JH. 2020. Transcriptome analysis of maize reveals potential key genes involved in the response to belowground herbivore *Holotrichia parallela* larvae feeding. *Genome*, 63(1): 1–12
- QI JF, SUN GL, WANG L, ZHAO CX, HETTENHAUSEN C, SCHUMAN MC, BALDWIN IT, LI J, SONG J, LIU Z, et al. 2016. Oral secretions from *Mythimna separata* insects specifically induce defence responses in maize as revealed by high-dimensional biological data. *Plant, Cell and Environment*, 39(8): 1749–1766
- RICHTER A, SCHAFF C, ZHANG ZW, LIPKA AE, TIAN F, KÖLL-

- NER TG, SCHNEE C, PREIB S, IRMISCH S, JANDER G, et al. 2016. Characterization of biosynthetic pathways for the production of the volatile homoterpenes DMNT and TMTT in *Zea mays*. *The Plant Cell*, 28(10): 2651–2665
- ROWEN E, KAPLAN I. 2016. Eco-evolutionary factors drive induced plant volatiles: a meta-analysis. *The New Phytologist*, 210(1): 284–294
- SCHNEE C, KÖLLNER TG, HELD M, TURLINGS TCJ, GERSHENZON J, DEGENHARDT J. 2006. The products of a single maize sesquiterpene synthase form a volatile defense signal that attracts natural enemies of maize herbivores. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 103(4): 1129–1134
- SONG J, LIU H, ZHUANG HF, ZHAO CX, XU YX, WU SB, QI JF, LI J, HETTENHAUSEN C, WU JQ. 2017. Transcriptomics and alternative splicing analyses reveal large differences between maize lines B73 and Mo17 in response to aphid *Rhopalosiphum padi* infestation. *Frontiers in Plant Science*, 8: 1738
- SZCZEPANIEC A, WIDNEY SE, BERNAL JS, EUBANKS MD. 2013. Higher expression of induced defenses in teosintes (*Zea* spp.) is correlated with greater resistance to fall armyworm, *Spodoptera frugiperda*. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 146(2): 242–251
- TURLINGS TCJ, ERB M. 2018. Tritrophic interactions mediated by herbivore-induced plant volatiles: mechanisms, ecological relevance, and application potential. *Annual Review of Entomology*, 63: 433–452
- TZIN V, FERNANDEZ-POZO N, RICHTER A, SCHMELZ EA, SCHOETTNER M, SCHAFER M, AHERN KR, MEIHLS LN, KAUR H, HUFFAKER A, et al. 2015. Dynamic maize responses to aphid feeding are revealed by a time series of transcriptomic and metabolomic assays. *Plant Physiology*, 169(3): 1727–1743
- TZIN V, HOJO Y, STRICKLER SR, BARTSCH LJ, ARCHER CM, AHERN KR, ZHOU SQ, CHRISTENSEN SA, GALIS I, MUELLER LA, et al. 2017. Rapid defense responses in maize leaves induced by *Spodoptera exigua* caterpillar feeding. *Journal of Experimental Botany*, 68(16): 4709–4723
- WANG H, LI SY, TENG SZ, LIANG HS, XIN HJ, GAO HJ, HUANG DF, LANG ZH. 2017. Transcriptome profiling revealed novel transcriptional regulators in maize responses to *Ostrinia furnacalis* and jasmonic acid. *PLoS ONE*, 12(5): e0177739
- WOUTERS FC, BLANCHETTE B, GERSHENZON J, VASSÃO DG. 2016. Plant defense and herbivore counter-defense: benzoxazinoids and insect herbivores. *Phytochemistry Reviews*, 15(6): 1127–1151
- WU KM. 2020. Management strategies of fall armyworm (*Spodoptera frugiperda*) in China. *Plant Protection*, 46(2): 1–5 (in Chinese) [吴孔明. 2020. 中国草地贪夜蛾的防控策略. *植物保护*, 46(2): 1–5]
- XU H, TURLINGS TCJ. 2018. Plant volatiles as mate-finding cues for insects. *Trends in Plant Science*, 23(2): 100–111
- XU LP, LI H, LOU YG. 2018. Research progress on early signaling events in plant-herbivore interactions. *Journal of Plant Protection*, 45(5): 928–936 (in Chinese) [徐丽萍, 李恒, 娄永根. 2018. 植物-植食性昆虫互作关系中早期信号事件研究进展. *植物保护学报*, 45(5): 928–936]
- YANG XL, LIU YC, LUO MZ, LI Y, WANG WH, WAN F, JIANG H. 2019. Fall armyworm was firstly detected in Jiangcheng County, Yunnan Province, China. *Yunnan Agriculture*, (1): 72 (in Chinese) [杨学礼, 刘永昌, 罗茗钟, 李依, 王文辉, 万飞, 姜虹. 2019. 云南省江城县首次发现迁入我国西南地区的草地贪夜蛾. *云南农业*, (1): 72]
- ZHANG L, JIN MH, ZHANG DD, JIANG YY, LIU J, WU KM, XIAO YT. 2019. Molecular identification of invasive fall armyworm *Spodoptera frugiperda* in Yunnan Province. *Plant Protection*, 45(2): 19–24, 56 (in Chinese) [张磊, 靳明辉, 张丹丹, 姜玉英, 刘杰, 吴孔明, 萧玉涛. 2019. 入侵云南草地贪夜蛾的分子鉴定. *植物保护*, 45(2): 19–24, 56]
- ZHOU GX, WANG X, YAN F, WANG X, LI R, CHENG JA, LOU YG. 2011. Genome-wide transcriptional changes and defence-related chemical profiling of rice in response to infestation by the rice striped stem borer *Chilo suppressalis*. *Physiologia Plantarum*, 143(1): 21–40

(责任编辑:李美娟)