

虫咬及挥发物诱导后合作杨叶片中多酚氧化酶活性的变化

胡增辉^{1,2}, 沈应柏^{1,*}, 王宁宁¹, 王金凤¹, 周艳超¹, 张志毅¹

(1. 北京林业大学生物科学与技术学院, 北京 100083; 2. 北京农学院园林系, 北京 102206)

摘要:经杨扇舟蛾 (*Clostera anachoreta*) 幼虫取食, 杨扇舟蛾幼虫诱导的挥发物熏蒸, 及茉莉酸甲酯 (MeJA)、水杨酸甲酯 (MeSA)、顺式己烯醛 (*cis*-hexenal)、反式己烯醛 (*trans*-hexenal) 及苯骈噻唑 (benzothiazole) 熏蒸后, 分析了合作杨 (*Populus simonii* × *P. pyramidalis* ‘Opera 8277’) 叶片中多酚氧化酶 (PPO) 活性的变化。虫咬叶及其上部叶片中 PPO 活性增加了 2~4 倍, 表明合作杨产生了系统抗性。经虫咬诱导的挥发物熏蒸后, 合作杨叶片中的 PPO 活性增加了 1 倍, 推测是合作杨受伤后释放出了具有信号作用的挥发物, 诱导邻近植株产生了防御反应。5 种外源挥发物都引起了叶片 PPO 活性升高, 因此均可能是合作杨间潜在的气体信号, 并且混合挥发物的诱导效果显著高于单一挥发物。EGTA (钙离子螯合剂) 和氯化镧 (钙通道抑制剂) 明显抑制了合作杨虫咬叶片、虫咬上部叶片及虫咬诱导挥发物熏蒸叶中 PPO 活性的升高, 说明钙信号在虫咬及挥发物诱导的 PPO 活性升高中起着重要作用。

关键词:合作杨 (*Populus simonii* × *P. pyramidalis* ‘Opera 8277’); 杨扇舟蛾; 复合气体信号; 防御反应; 多酚氧化酶活性

文章编号: 1000-0933 (2009) 10-5265-06 中图分类号: 文献标识码: A

The activities of polyphenol oxidase in *Populus simonii* × *P. pyramidalis* ‘Opera 8277’ leaves in response to insect herbivory and volatiles exposure

HU Zeng-Hui^{1,2}, SHEN Ying-Bai^{1,*}, WANG Ning-Ning¹, WANG Jin-Feng¹, ZHOU Yan-Chao¹, ZHANG Zhi-Yi¹

1 College of Biological Sciences and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

2 Garden Department, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China

Acta Ecologica Sinica, 2009, 29(10): 5265 ~ 5270.

Abstract: After being defoliated by *Clostera anachoreta* larvae, exposure to volatiles induced by *C. anachoreta* larvae, and five added exogenous volatiles, including methyl jasmonate (MeJA), methyl salicylate (MeSA), *cis*-hexenal, *trans*-hexenal, and benzothiazole, the activities of polyphenol oxidase (PPO) in *Populus simonii* × *P. pyramidalis* ‘Opera 8277’ leaves was measured. A 2-4-fold increase in PPO activities in herbivore-wounded leaves and upper intact leaves showed that the systemic resistance of poplar cuttings was activated. A 1-fold increase in PPO levels in poplar leaves exposed to herbivore-induced volatiles was also found, implying that the volatiles emitted from poplar leaves after insect herbivory acted as signaling molecules triggering the defense response of the neighbouring individuals. Exposure to five exogenous volatiles caused an increase in PPO activity, suggesting that these five volatiles were the potential airborne signals between *P. simonii* × *P. pyramidalis* ‘Opera 8277’ plants. Moreover, the combined inducible effects of mixed volatiles were significantly stronger than single volatile. The PPO activities in herbivore wounding leaves, upper intact leaves, and leaves exposed to herbivore-induced volatiles were obviously inhibited by EGTA (calcium chelator) and LaCl₃ (calcium channel inhibitor), showing that calcium signal played a key role in the increase of PPO activities in *P. simonii* × *P. pyramidalis* ‘Opera 8277’.

基金项目: 长江学者与创新团队发展计划资助项目 (PCSIRT0607); 国家林业局重点资助项目 (2006-59); 国家“十一五”科技支撑计划课题资助项目 (2006BAD01A15; 2006BAD24B04)

收稿日期: 2008-07-03; 修订日期: 2009-03-24

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: ybshen@bjfu.edu.cn

leaves in response to insect herbivory and volatiles exposure.

Key Words: *Populus simonii* *P. pyramidalis* ‘Opera 8277’; *Clostera anachoreta*; compound airborne signal; defense response; PPO activity

当受到昆虫取食时,植物会采取多种策略,产生一系列防御反应^[1]。最常见的是植物体内酚类化合物的大量积累^[2]。多酚氧化酶(PPO)利用分子氧作底物,能够催化酚类物质向更高活性的醌类物质转化。这些醌类能与植物中氨基酸和蛋白质富电子部位结合,降低其在昆虫消化道中的消化率,最终可引起处于发育过程中昆虫的消化不良^[3]。研究发现,在遭受病害或损伤后,植物组织中经常有高水平 PPO 的表达^[4]。昆虫取食诱导了植物体内 PPO 活性的升高^[3,5]。但以前的研究主要以草本植物为对象,对木本植物研究较少。并且对 PPO 在植物个体间防御反应中的作用鲜有报道。

受伤的植物能够释放出具有信号功能的挥发物,诱导邻近植物产生防御反应^[6~8]。以往研究发现,茉莉酸甲酯(MeJA)和水杨酸甲酯(MeSA)均能够诱导杨树叶片中酚酸类含量增加^[9]。MeJA 处理显著提高了番茄中 PPO 的水平^[10]。MeJA^[11]、MeSA^[12]和一些 C6~C10 醛类^[13]被认为是植物间潜在的挥发物性信号。研究发现,植物在受到虫咬、机械损伤等刺激后会释放出多种信号物质,并且释放浓度表现出明显的时序性^[14,15]。这些现象暗示,在植物间的信号传递是通过多个信号分子共同组成的“复合信号”来实现的,单独的挥发物虽也能诱导防御基因的表达,但不能传递完整的信息,完整信息的传递必须通过这种“复合信号”来完成^[16]。而对植物挥发性“复合信号”作用方式的研究报道很少。

本研究检测了受到杨扇舟蛾取食及挥发物诱导后的合作杨叶片中 PPO 活性的变化,并对 PPO 在合作杨直接和间接防御反应中的作用,以及合作杨个体间气体信号作用机制进行了探讨。

1 实验方法

1.1 材料

以 1 年生合作杨(*Populus simonii* × *P. pyramidalis* ‘Opera 8277’)扦插苗离体枝为实验材料。插条采自北京林业大学苗圃 1 棵 9 年生合作杨。3 月份将插条扦插于直径 25 cm,装有果园土的塑料盆中,定期浇水,每两星期供给全 Hoagland 营养液。实验于 6~7 月份进行,选取长势较好且一致的幼苗,剪取其含 5~6 片叶片的顶端枝条为实验材料。

实验用虫为野生杨扇舟蛾(*Clostera anachoreta*)4 龄幼虫,捕于通州区小耕堡苗圃,饲养于温室的指形管中。

1.2 虫咬处理

实验前一天晚上终止杨扇舟蛾进食,使其处于饥饿状态。实验时将昆虫放置于离体枝的下部叶片上,当叶片的 30% 被取食时将虫子取下,于 0.5、2、6 h 采集虫咬叶及上部系统叶,立即投入液氮中,于 -80 °C 保存备用。以相同条件下未受虫咬的离体枝上叶片作为对照,实验重复 3 次。

1.3 虫咬诱导挥发物熏蒸处理

将未损伤的合作杨离体枝,与被杨扇舟蛾取食的离体枝置于同一密闭玻璃容器中,6 h 后采集未损伤离体枝上的叶片,立即投入液氮中,于 -80 °C 保存备用。以相同条件下未受虫咬诱导挥发物熏蒸的离体枝上叶片作为对照,实验重复 3 次。

1.4 抑制剂处理

使用 EGTA 和氯化镧作为钙离子螯合剂和钙通道抑制剂,处理浓度分别为 5 mmol/L 和 1 mmol/L。提前用抑制剂处理离体枝 12 h,然后进行虫咬和熏蒸处理,实验重复 3 次。

1.5 化合物熏蒸处理

单一化合物熏蒸是将扦插苗离体枝与分别滴有 MeJA、MeSA、反式己烯醛(*trans*-hexenal)、顺式己烯醛

(*cis*-hexenal) 和苯并噻唑 (benzothiazole) 的脱脂棉球放在一密闭玻璃罩中, 避免接触, 终浓度为 $10 \mu\text{mol/L}$ 。混合挥发物熏蒸是将滴有 MeJA 的脱脂棉, 分别与其他四种化合物同时放在玻璃罩中熏蒸离体枝, 挥发物的终浓度均为 $10 \mu\text{mol/L}$ 。熏蒸 12 h 后采集叶片, 立即投入液氮中, 以相同条件下未经熏蒸离体枝上的叶片作对照, 每个处理重复 3 次。

1.6 PPO 活性测定

称取 0.1 g 叶片, 液氮中研磨成粉末, 加入 1 mL 4°C 预冷的 50 mmol/L 磷酸缓冲液 (pH 7.5), 震荡均匀后, 4°C 下 12000 g 离心 20 min, 上清液用于 PPO 活性测定。反应体系包括: 2 mL 磷酸缓冲液 (50 mmol/L, pH 7.0), 1 mL 0.1 mol/L 邻苯二酚, 0.3 mL 酶液。于 398 nm 处测吸光值变化, 15 s 记 1 数, 测 3 min, 结果以 $\Delta\text{OD} \cdot \text{min}^{-1} \cdot \text{g}^{-1} \text{FW}$ 表示。

2 结果与分析

2.1 虫咬叶和系统叶中 PPO 活性变化

杨扇舟蛾取食诱导了合作杨系统性防御反应的产生 (图 1)。与对照相比, 经过杨扇舟蛾取食的合作杨叶片及上部系统叶中 PPO 活性都出现了明显升高。在虫咬后 0.5 h, 虫咬叶中 PPO 活性即出现了显著增加 ($p < 0.01$), 2 h 降低, 6 h 又有显著增加 ($p < 0.05$), 但没有达到 0.5 h 的水平 (图 1 A)。系统叶中的 PPO 活性变化不同于虫咬叶, 其活性随时间逐步升高, 且均显著高于对照 (图 1 B, $p < 0.01$)。

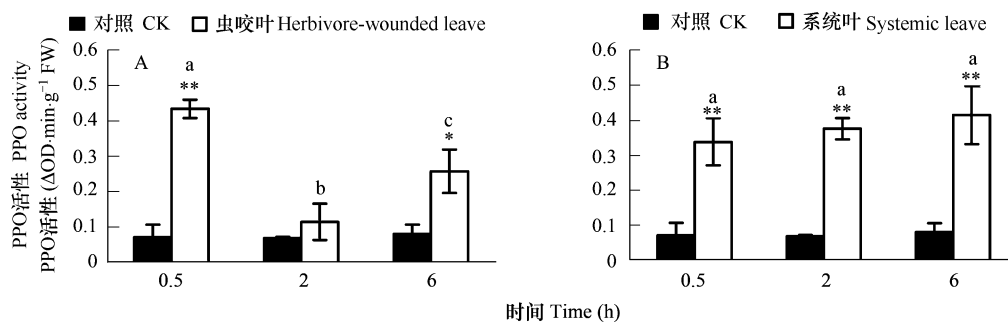


图 1 虫咬叶(A)中和系统叶(B)中 PPO 活性变化

Fig. 1 The activities of PPO in herbivore-wounded leaves (A) and systemic leaves (B)

图中数据为平均值 \pm 标准差 (\pm SD), $n = 3$; 数据经过 LSD 分析; “*” 和 “**” 分别表示处理与对照差异显著 ($p < 0.05$) 和极显著 ($p < 0.01$); 不同字母表示不同时间点的 PPO 活性差异显著 ($p < 0.05$)。The data are means \pm SD, $n = 3$; Data were analyzed using LSD test; Statistical significance of differences between control and treated is indicated by “*” ($p < 0.05$) and “**” ($p < 0.01$); Letters indicate significant difference in PPO activities among the different time after insect herbivory ($p < 0.05$)

2.2 抑制剂对虫咬叶和系统叶中 PPO 活性的影响

钙离子在伤信号的传递中起着关键作用。虫咬引起了拟南芥叶片细胞质中钙离子浓度的升高^[17]。钙通道阻断剂实验也证明了钙离子在信号途径中的重要作用^[18]。为了研究钙信号与虫咬诱导的 PPO 活性升高的关系, 检测了 EGTA 和氯化镧处理后, 合作杨虫咬叶和系统叶中 PPO 活性变化 (图 2)。与对照相比, 经过 EGTA 处理的虫咬叶和系统叶中 PPO 活性虽然仍有显著升高 ($p < 0.05$), 但要明显低于未经 EGTA 处理的叶片 ($p < 0.01$), 表明 EGTA 显著抑制了虫咬诱导的 PPO 活性的升高。与 EGTA 相似, 氯化镧处理也明显抑制了虫咬叶和系统叶中 PPO 活性升高, 并且抑制效果明显高于 EGTA (图 2)。

2.3 抑制剂对虫咬诱导挥发物熏蒸的叶片中 PPO 活性的影响

经虫咬诱导挥发物熏蒸的合作杨叶片中 PPO 活性也出现了显著增加 (图 3, $p < 0.05$), 表明杨扇舟蛾取食的合作杨与未被取食的合作杨间存在挥发物介导的信号传递。并且与虫咬叶和系统叶相似, 熏蒸叶中 PPO 活性的升高同样能够被 EGTA 和氯化镧所抑制。

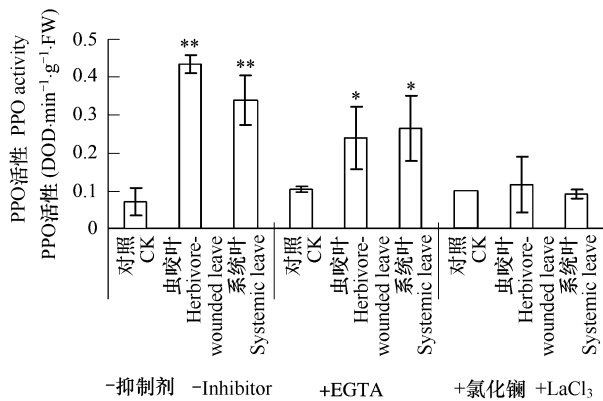


图2 EGTA和氯化镧对虫咬叶和系统叶中PPO活性的影响

Fig. 2 Effects of EGTA and LaCl_3 on PPO activities in herbivore-wounded leaves and systemic leaves

图中数据为平均值 \pm 标准差 (\pm SD), $n=3$; 数据经过 LSD 分析; “*”和“**”分别表示处理与对照差异显著 ($p < 0.05$) 和极显著 ($p < 0.01$)。The data are means \pm SD, $n=3$; Data were analyzed using LSD test; Statistical significance of differences between control and the treated is indicated by “*” ($p < 0.05$) and “**” ($p < 0.01$)

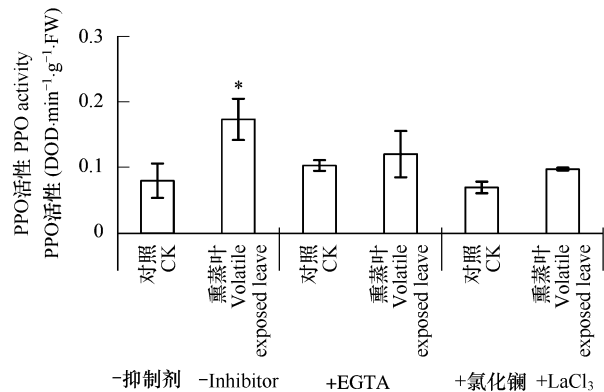


图3 EGTA和氯化镧对虫咬诱导的挥发物熏蒸叶中PPO活性的影响

Fig. 3 Effects of EGTA and LaCl_3 on PPO activities in poplar leaves

exposed to herbivore-induced volatiles 图中数据为平均值 \pm 标准差 (\pm SD), $n=3$; 数据经过 LSD 分析; “*”和“**”分别表示处理与对照差异显著 ($p < 0.05$) 和极显著 ($p < 0.01$)。The data are means \pm SD, $n=3$; Data were analyzed using LSD test; Statistical significance of differences between control and the treated is indicated by “*” ($p < 0.05$) and “**” ($p < 0.01$)

2.4 单一外源挥发物诱导的合作杨叶片中PPO活性变化

为了检验 MeJA、MeSA、*cis*-hexenal、*trans*-hexenal 和 benzothiazole 在合作杨间的信号作用,对经过这些挥发物熏蒸的合作杨叶片中 PPO 活性进行了检测。与对照相比,这 5 种挥发物均诱导了 PPO 活性的升高(图 4)。其中 MeJA 和 *trans*-hexenal 的效果最为明显,诱导的 PPO 活性分别比对照高 2 倍和 3 倍,与对照差异显著 ($p < 0.05$)。其他 3 种挥发物虽然也引起了 PPO 活性升高,但与对照差异不显著 ($p < 0.05$)。

2.5 混合挥发物诱导的合作杨叶片中PPO活性变化

植物在受到胁迫后能够释放出多种挥发性信号,组合成“复合气体信号”,实现植物间的信号传递^[16],因此对植物间的复合气体信号进行了初步探索。4 种混合挥发物,MeJA + MeSA、MeJA + *cis*-hexenal、MeJA + *trans*-hexenal 及 MeJA + benzothiazole,均诱导了 PPO 活性的显著升高(图 5)。其中,MeJA + *cis*-hexenal 的能力最高,诱导的 PPO 活性比对照高 5.6 倍,差异达到了极显著 ($p < 0.01$),其次是 MeJA + *trans*-hexenal 和 MeJA + benzothiazole,诱导效果最低的是 MeJA + MeSA,但也达到了对照的 3.5 倍。从数值上看,混合挥发物诱导的 PPO 活性明显高于单一挥发物,表明混合挥发物具有更强的诱导效果。

3 讨论

植物在受到昆虫取食后,经过一系列的信号传递,最终导致体内多种防御蛋白的合成^[19]。PPO 是植物体内重要的防御酶,可将酚类氧化为更具毒性的醌类。在虫咬后的合作杨叶片中 PPO 活性有了大幅度升高,表

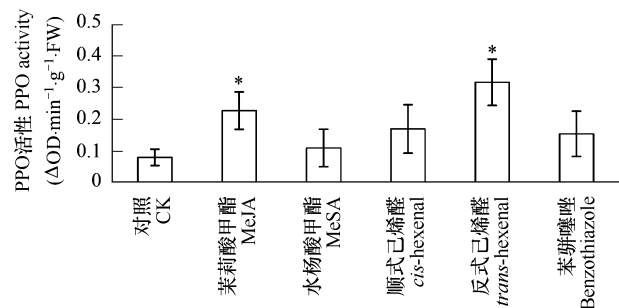


图4 外源挥发物诱导的合作杨叶片中PPO活性变化

Fig. 4 Effects of exogenous volatiles on PPO activities in poplar leaves

图中数据为平均值 \pm 标准差 (\pm SD), $n=3$; 数据经过 LSD 分析; “*”和“**”分别表示处理与对照差异显著 ($p < 0.05$) 和极显著 ($p < 0.01$)。The data are means \pm SD, $n=3$; Data were analyzed using LSD test; Statistical significance of differences between control and the treated is indicated by “*” ($p < 0.05$) and “**” ($p < 0.01$)

明植物为了更有效的抵御昆虫的取食,将酚类转化为醌类,降低叶片的可食性,提高了对昆虫的毒性。以前的实验也发现了虫咬后的植物叶片中 PPO 活性升高的现象^[3,20]。

植物不仅在受损伤部位产生防御反应,在未受损伤的部位,甚至整株植物也会产生系统抗性^[21]。在实验中检测到与合作杨虫咬叶片邻近的上部叶片中,PPO 活性也明显增加,并且随着时间逐步升高,表明合作杨产生了系统抗性。以前的实验也发现,在损伤叶片邻近的未损伤叶片中 PPO 的 mRNA 显著增加^[20]。系统叶中的 PPO 活性除 0.5 h 略低于虫咬叶外,在 2 h 和 6 h 的活性都高于虫咬叶,这表明合作杨将防御重心转移到未损伤叶,是避免健康叶受到取食而采取的一种防御策略,进一步说明了 PPO 在抵御昆虫取食中的重要作用。

此外植物在遭到机械损伤、昆虫取食后,会释放出一系列挥发性物质^[14,15]。其中一些挥发物能够作为株间信号,诱导邻近植物产生防御反应^[1,22,23]。在受到虫咬诱导挥发物熏蒸的合作杨叶片中,PPO 活性要显著高

于对照,表明合作杨间存在由挥发物介导的信号传递。但究竟哪些挥发物可以作为合作杨间有效的气体信号分子,研究还很少。由 MeJA、MeSA、*trans*-hexenal、*cis*-hexenal 和 benzothiazole 诱导 PPO 活性升高的结果表明,这五种挥发物均是合作杨间潜在的气体信号。其中 MeJA 和 *cis*-hexenal 的诱导效果最明显。从对植物伤诱导挥发物多年的研究结果来看,植物在受到虫咬等胁迫后会释放出多种挥发性信号分子,并且具有明显的、呈时序性的释放规律^[14,15]。因此推测植物间的信号传递,是多种信号分子以不同的浓度组成的“复合信号”来完成的^[16]。实验对 MeJA 与其他 4 种挥发物混合后诱导的 PPO 活性进行了检测,初步探索“复合信号”的作用方式。结果表明,混合挥发物的诱导能力都要高于单一挥发物。与其他 3 种混合挥发物相比,MeJA + *cis*-hexenal 的诱导能力最高。但混合挥发物诱导的酶活不仅仅是单一挥发物诱导酶活的加和,各个挥发物诱导的途径间存在交叉和重叠,表明信号传递途径的复杂性。

钙离子是真核细胞中普遍存在的重要的二级信号物质,在植物细胞对逆境反应中起着重要的调节作用^[24],参与了 ABA 诱导的气孔关闭^[25]和昆虫取食诱导的植物防御反应^[26]等的信号传递。研究表明,虫咬^[17]和激发子处理^[27]引起了植物叶片细胞质中钙离子浓度的迅速增加。经过 EGTA 及氯化镧处理的合作杨虫咬叶和系统叶中,PPO 活性受到了明显的抑制,表明钙信号位于 PPO 反应的上游。推测虫咬、系统信号首先激活了钙信号,而后引起了虫咬叶和系统叶中 PPO 活性的升高。在本次实验中发现,EGTA 和氯化镧处理明显抑制了熏蒸叶中 PPO 活性的升高,表明钙信号在挥发物诱导的防御反应中也起着重要作用。与 EGTA 相比,氯化镧的抑制效果更加显著。当熏蒸叶片接收到“复合信号”后,首先与其受体结合,而后通过激活钙信号诱导了下游的防御反应。

References:

- [1] Arimura G, Kost C, Boland W. Herbivore-induced, indirect plant defences. *Biochimica et Biophysica Acta*, 2005, 1734: 91–111.
- [2] Dixon R A, Paiva N L. Stress-induced phenylpropanoid metabolism. *Plant Cell*, 1995, 7: 1085–1097.
- [3] Felton G W, Donato K, Del Vecchio R J, Duffey S S. Activation of plant foliar oxidases by insect feeding reduces nutritive quality of foliage for noctuid herbivores. *J. Chem. Ecol.*, 1989, 15, 2667–2694.
- [4] Mayer A M. Polyphenol oxidases in plants and fungi: Going places? A review. *Phytochemistry*, 2006, 67, 2318–2331.

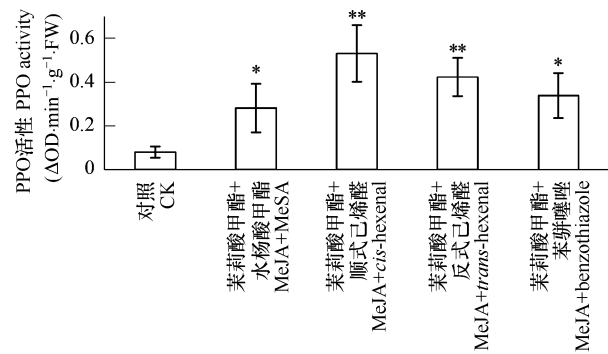


图5 混合挥发物诱导的合作杨叶片中 PPO 活性变化

Fig. 5 Effects of mixed exogenous volatiles on PPO activities in poplar leaves

图中数据为平均值 ± 标准差 (± SD), $n=3$; 数据经过 LSD 分析; “*”和“**”分别表示处理与对照差异显著 ($p < 0.05$) 和极显著 ($p < 0.01$)。The data are means ± SD, $n=3$; Data were analyzed using LSD test; Statistical significance of differences between control and the treated is indicated by “*” ($p < 0.05$) and “**” ($p < 0.01$)

- [5] Tschamtké T, Thiessen S, Dolch R, Boland W. Herbivory, induced resistance, and interplant signal transfer in *Alnus glutinosa*. *Biochem. Syst. Ecol.*, 2001, 29: 1025—1047.
- [6] Engelberth J, Alborn H T, Schmelz E A, Tumlinson J H. Airborne signals prime plants against insect herbivore attack. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2004, 101: 1781—1785.
- [7] Karban R, Baldwin I T, Baxter K J, Laue G, Felton G W. Communication between plants; induced resistance in wild tobacco plants following clipping of neighboring sagebrush. *Oecologia*, 2000, 125: 66—71.
- [8] Karban R, Maron J, Felton G W, Ervin G, Eichenseer H. Herbivore damage to sagebrush induces resistance in wild tobacco; evidence for eavesdropping between plants. *Oikos*, 2003, 100: 325—332.
- [9] An Y, Shen Y B, Wu L J, Zhang Z X. A change of phenolic acids content in poplar leaves induced by methyl salicylate and methyl jasmonate. *J. Forest. Res.*, 2006, 17: 107—110.
- [10] Constabel C P, Bergey D R, Ryan C A. Systemin activates synthesis of wound-inducible tomato leaf polyphenol oxidase via the octadecanoid defense signaling pathway. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1995, 92: 407—411.
- [11] Farmer E E, Ryan C A. Interplant communication; airborne methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1990, 87: 7713—7716.
- [12] Shulaev V, Silverman P, Raskin I. Airborne signaling by methyl salicylate in plant pathogen resistance. *Nature*, 1997, 385: 718—721.
- [13] Zeringue H J. Effect of C6-C10 alkenals and alkanals on eliciting a defence responsible in the developing cotton boll. *Phytochemistry*, 1992, 31: 2305—2308.
- [14] Arimura G, Köpke S, Kunert M, Volpe V, David A, Brand P, Dabrowska P, Maffei M E, Boland W. Effects of feeding *Spodoptera littoralis* on lima bean leaves: IV. Diurnal and nocturnal damage differentially initiate plant volatile emission. *Plant Physiol*, 2008, 146: 965—973.
- [15] Ping L Y, Shen Y B, Jin Y J. Plant volatiles released in succession from artificially wounded ashleaf maple leaves. *Aust. J. Plant Physiol*, 2001, 28: 513—517.
- [16] Kong C H, Hu F. Advance in the research on chemical communication between plants. *Acta Phytocologica Sinica*, 2003, 27(4): 561—566.
- [17] Maffei M, Bossi S, Spiteller D, Mithöfer A, Boland W. Effects of feeding *Spodoptera littoralis* on lima bean leaves. I. membrane potentials, intracellular calcium variations, oral secretions, and regurgitate components. *Plant Physiol.*, 2004, 134: 1752—1762.
- [18] León J, Rojo E, Titarenko E, Sánchez-Serrano J J. Jasmonic acid-dependent and -independent wound signal transduction pathways are differentially regulated by Ca^{2+} /calmodulin in *Arabidopsis thaliana*. *Mol. Gen. Genet.*, 1998, 258: 412—419.
- [19] Chen H, Gonzales-Vigil E, Wikerson C G, Howe G A. Stability of plant defense proteins in the gut of insect herbivores. *Plant Physiol.*, 2007, 143: 1954—1967.
- [20] Haruta M, Pedersen J A, Constabel C P. Polyphenol oxidase and herbivore defence in trembling aspen (*Populus tremuloides*): cDNA cloning, expression, and potential substrates. *Physiol. Plantarum.*, 2001, 112: 552—558.
- [21] Ryan C A, Moura D S. Systemic wound signaling in plants: A new perception. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2002, 99: 6519—6520.
- [22] Peñuelas J, Llusà J. Plant VOC emissions; making use of the unavoidable. *Trends Ecol. Evol.*, 2004, 19: 402—403.
- [23] Frost C J, Mescher M C, Carlson J E, De Moraes C M. Plant defense priming against herbivores; getting ready for a different battle. *Plant Physiol.*, 2008, 146: 818—824.
- [24] Jian L C, Wang H. Ca^{2+} signaling in plant cell response and adaptation to low temperature, drought and salt stresses. *Chinese Bulletin of Botany*, 2008, 25(3): 255—267.
- [25] Hamilton D W A, Hills A, Kohler B, Blatt M R. Ca^{2+} channels at the plasma membrane of stomatal guard cells are activated by hyperpolarization and abscisic acid. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2000, 97: 4967—4972.
- [26] Maffei M, Mithöfer A, Boland W. Before gene expression; early events in plant-insect interaction. *Trends Plant Sci.*, 2007, 12: 310—316.
- [27] Moyen C, Hammond-Kosack K E, Jones J, Knight M R, Johannes E. Systemin triggers an increase of cytoplasmic calcium in tomato mesophyll cells; Ca^{2+} mobilization from intra- and extracellular compartments. *Plant Cell Env.*, 1998, 21: 1101—1111.

参考文献:

- [16] 孔垂华, 胡飞. 植物化学通讯研究进展. *植物生态学报*, 2003, 27(4): 561~566.
- [24] 简令成, 王红. Ca^{2+} 在植物细胞对逆境反应和适应中的调节作用. *植物学通报*, 2008, 25(3): 255~267.