



NADPH氧化酶参与1-戊烯-3-酮诱导的拟南芥抗虫防御反应

张笑^{1,2}, 丁玉勤¹, 季亚溪^{2,3}, 沈应柏^{2,*}

¹太原师范学院生物科学与技术学院, 山西晋中030619

²北京林业大学生物科学与技术学院, 北京100083

³河北唐山外国语学校, 河北唐山063000

*通信作者(ybshen@bjfu.edu.cn)

摘要: 1-戊烯-3-酮(1-penten-3-one)作为挥发性气体能够诱导拟南芥叶肉细胞早期信号的产生和抗虫性的增加。为了探究质膜NADPH氧化酶在1-戊烯-3-酮诱导的拟南芥抗虫防御反应中的作用, 本研究以野生型拟南芥和2种拟南芥质膜NADPH氧化酶的突变体(*Atrboh*d和*Atrboh*f)为实验材料, 通过生物学实验的测定和实时定量荧光PCR技术研究1-戊烯-3-酮诱导的野生型拟南芥与突变体不同的抗虫性。结果表明, 用1-戊烯-3-酮熏蒸可以诱导拟南芥NADPH氧化酶基因的表达, NADPH氧化酶通过影响小菜蛾的取食行为来提高拟南芥抵御虫害的能力, 并参与1-戊烯-3-酮熏蒸诱导的拟南芥防御基因*Thi2.1*、*VSP1*、*PDF1.2*和*VSP2*的表达。本研究以期揭示NADPH氧化酶在1-戊烯-3-酮诱导拟南芥抗虫性增强过程中的分子机制提供一些理论依据。

关键词: 1-戊烯-3-酮; 拟南芥; NADPH氧化酶; 防御基因

NADPH oxidase participates in the insect-resistant defense response of *Arabidopsis thaliana* induced by 1-pentene-3-one

ZHANG Xiao^{1,2}, DING Yuqin¹, JI Yaxi^{2,3}, SHEN Yingbai^{2,*}

¹College of Biological Sciences and Technology, Taiyuan Normal University, Jinzhong, Shanxi 030619, China

²College of Biological Sciences and Technology, Beijing Forestry University, Beijing 100083, China

³Hebei Tangshan Foreign Language School, Tangshan, Hebei 063000, China

*Corresponding author (ybshen@bjfu.edu.cn)

Abstract: As a volatile gas, ethyl vinyl ketone (1-penten-3-one) can trigger early signal generation and boost the insect resistance of *Arabidopsis thaliana* mesophyll cells. To investigate the role of plasma membrane NADPH oxidase in insect resistance in *Arabidopsis* induced by 1-penten-3-one, biological tests and real-time quantitative PCR were performed in WT *Arabidopsis* and two mutants of NADPH oxidase in plasma membrane (*Atrboh*d and *Atrboh*f). The results showed that fumigation with 1-pentene-3-one could stimulate the expression of NADPH oxidase gene in *Arabidopsis*, and NADPH oxidase may enhance *Arabidopsis*'s capacity to resist insect pests by affecting the eating habits of *Plutella xylostella*. Additionally, NADPH oxidase contributed to the expression of the defense genes *Thi2.1*, *VSP1*, *PDF1.2*, and *VSP2* in *Arabidopsis*, which are stimulated by 1-pentene-3-one fumigation. This study aims to provide theoretical support for the molecular mech-

收稿 2023-06-15 修定 2024-02-14

资助 山西省基础研究计划(202203021222242)、山西高等学校科技创新项目(2019L0802)、河北省教育科学“十四五”规划课题(2205240)和河北省教育装备“十四五”规划课题(JYZB2204124)。

anism of NADPH oxidase in increasing insect resistance in *Arabidopsis* induced by 1-pentene-3-one.

Key words: 1-pentene-3-ketone; *Arabidopsis thaliana*; NADPH oxidase; defense gene

由于自身的不可移动性,植物更容易在各种逆境中遭受到侵染或虫害。植物在遭受到昆虫取食或病菌侵染等生物胁迫时,会迅速合成并释放叶片挥发性有机化合物(volatile organic compounds, VOCs) (Matsui和Koeduka等2016; Tanaka等2018),包括氧化脂质、C₅挥发物和绿叶挥发物(green leaf volatile, GLVs)等。这些气体信号能够通过信号交流而使得周围其他植物提前做好准备以应对昆虫取食、病菌侵染和冷胁迫等主要伤害(Engelberth和Engelberth 2020),这是植物在面对即将来临的胁迫时增强自身抵抗力或耐受力的一种基本防御机制(Farmer 2001)。近年来,植物氧化脂质(oxylin)家族物质参与植物防御机制的研究重新吸引了人们的兴趣(Pretorius等2021)。这些氧化脂质虽然生物合成和结构不同,但是它们大部分的生物活性是由茉莉酸(jasmonic acid, JA)感知识别或通过反应性亲电物质来介导的(Farmer和Mueller 2013)。通常把含有 α,β -不饱和羰基结构的物质统称为反应性亲电物质(reactive electrophilic substances, RES) (Farmer和Davoine 2007)。值得注意的是,邻苯二胺(12-oxo-phytodienoic acid, OPDA)以及其他含有 α,β -不饱和羰基的环戊烯酮类物质均能诱导与胁迫响应和次生代谢相关的基因表达(Mueller等2008)。(E)-2-己烯醛也是一种反应性亲电物质,研究表明它能诱导并提升植物对真菌的抵抗能力(Kunishima等2016),并且在植物遭受到昆虫取食(Paré和Tumlinson 1997)或细菌感染(Heiden等2003; Shiojiri等2006)时均会快速合成和释放。丙二醛(malon-aldehyde, MDA)是含有 α,β -不饱和羰基的最小分子,番茄植株在感染灰霉病(*Botrytis cinerea*)期间,MDA可增加外源JA和水杨酸(salicylic acid, SA)的含量从而提高了植株抗性(Schmid-Siebert等2012)。1-戊烯-3-酮(1-penten-3-one)是一种含有 α,β -不饱和羰基的C₅挥发物,广泛存在于拟南芥、番茄和芒果等植物中,冻害损伤的大豆叶片在氧化应激状态下会释放大量的1-戊烯-3-酮(Fisher等2003)。研究发现当菜粉蝶取食拟南芥后,1-戊烯-3-酮作为植

物虫害诱导挥发物(herbivore induced plant volatile, HIPV)被诱导并释放(Poecke等2001),并且能激活拟南芥中的防御基因表达(Alm ras等2003)。

活性氧(reactive oxygen species, ROS)在植物的防御反应中起着关键作用,植物在遭遇胁迫后体内会快速积累ROS作为病菌或昆虫袭击的第一道屏障(Powell等2006; Kerchev等2012)。H₂O₂作为高度稳定的一种ROS在植物防御中起着关键作用,它可以通过细胞壁蛋白的氧化交联、调节宿主防御相关基因,诱发植物局部及系统防御反应,最终减轻植物受昆虫取食的伤害(Maffei等2007; Torres 2010; Orozco-C rdenas和Ryan 1999; Zebelo和Maffei 2015)。这表明ROS在植物抗虫响应中起到了系统性信号的作用(Baxter等2014)。植物细胞膜上的NADPH氧化酶是哺乳动物呼吸迸发氧化酶(respiratory burst oxidase homologue, RBOHs)的同源物,研究证明NADPH氧化酶产生超氧化物以及超氧化物歧化酶的特定位置与H₂O₂积累的胞外位置一致,同时在拟南芥中发现NADPH氧化酶在响应各种因非生物和生物胁迫而产生的系统性ROS信号中发挥了核心作用(Suzuki等2011; Miller等2009)。拟南芥的RBOH家族有10个成员(*AtRBOHA~AtRBOHJ*),其中*AtRBOHD*和*AtRBOHF*在整个植物体中表达(Kadota等2015)。*RBOH*基因的时空差异表达有助于调节依赖于NADPH氧化酶的ROS的产生和信号通路(Morales等2016),已证明*RBOHD*和*RBOHF*参与植物防御反应并诱导ROS的产生(Dubiella等2013; Suzuki等2011)。

我们前期的研究发现,1-戊烯-3-酮能够作为一种防御信号物质诱导拟南芥对小菜蛾抗虫性的增强(董杉杉等2016),还发现1-戊烯-3-酮通过激活拟南芥叶肉细胞质膜NADPH氧化酶的活性从而诱导细胞防御早期信号的产生(季亚溪等2018)。但NADPH氧化酶在1-戊烯-3-酮诱导的拟南芥抗虫防御反应中的作用尚未可知。本研究以野生型拟南芥和2种拟南芥质膜NADPH氧化酶的突变体(*Atrboh*和*Atrboh*)为实验材料,通过生物学实验的测

定和实时定量荧光PCR技术, 研究1-戊烯-3-酮诱导的野生型拟南芥与突变体不同的抗虫性, 以期揭示NADPH氧化酶在1-戊烯-3-酮诱导拟南芥抗虫性增强过程中的分子机制。

1 材料与方法

1.1 实验材料

本研究用到的植物材料为拟南芥(*Arabidopsis thaliana* L.)野生型(Col-0)幼苗和拟南芥质膜NADPH氧化酶突变体(*Atrboh*d和*Atrboh*f)幼苗。将每种拟南芥种子在4℃春化24 h后均匀播种于育苗盒中(长3 cm, 宽3 cm, 高5 cm), 并置于拟南芥培养箱(Percival, I-36VL)中培养, 光照/黑暗=16 h/8 h, 光照强度80~110 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$, 温度(22±1)℃, 湿度70%。培养2周后, 选取健康且长势一致的幼苗进行实验。

本实验中所用昆虫材料为小菜蛾(*Plutella xylostella* L.), 由河南省济源科云生物公司购买虫卵, 并置于光照强度80~110 $\mu\text{mol}\cdot\text{m}^{-2}\cdot\text{s}^{-1}$ 、温度(26±1)℃、湿度50%的培养箱中孵化, 2~3 d后幼虫孵出, 用人工饲料培养1~2 d后, 选取长势一致的小菜蛾幼虫进行昆虫体长体重和取食拟南芥叶面积的实验。

本实验中所用试剂1-戊烯-3-酮(≥97%)和甲醇(methanol)均购自Sigma-Aldrich, 取1-戊烯-3-酮溶于甲醇配制成40 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的1-戊烯-3-酮溶液, 密封好后置于4℃冰箱中贮存待用。

1.2 实验方法

1.2.1 熏蒸处理

熏蒸处理方法参考董杉杉等(2016)文献, 熏蒸浓度参照Almérás等(2003)文献。熏蒸处理使用容积为2 L的钟形透明玻璃罩, 玻璃罩内放置滴加了50 μL 1-戊烯-3-酮溶液的脱脂棉和4盆长势一致的拟南芥幼苗, 使得玻璃罩内1-戊烯-3-酮的终浓度为1 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$, 并通过凡士林将玻璃罩与毛玻璃板进行密封, 对照组内的脱脂棉上只滴加50 μL 甲醇。

1.2.2 小菜蛾生长量和取食叶面积测定

小菜蛾处理方法参考董杉杉等(2016)文献。对植株进行熏蒸处理24 h后分别编号分组, 每株接种5头孵化1~2 d的小菜蛾幼虫, 接种完毕后立即用透明塑料罩(高12 cm, 内径8 cm)将每个植株盖住, 同时用保鲜膜封顶, 并在保鲜膜上扎小孔以保持

塑料罩内气体交换。处理组和对照组各使用20株拟南芥, 取食7 d后从每组植株上取下100头幼虫进行称重用于体重变化测定, 并拍照用于体长变化测量; 对每组被取食后的拟南芥叶片也进行拍照, 并利用Image J软件测量植株损失的叶面积值。

1.2.3 实时荧光定量PCR检测

对达到熏蒸时长的不同样品进行取样并立即置于液氮中冷冻, 叶片总RNA的提取采用RNAperp Pure植物试剂盒, 购于TIANGEN公司, 提取完成后检测所提取样品的RNA完整性。cDNA由500 ng总RNA和Takara公司的逆转录酶(PrimeScript™ II 1st Strand cDNA Synthesis Kit)制备。反转录体系为20 μL , 其中反转录酶混合体系12 μL 、ddH₂O 6 μL 、RNA 2 μL 。样品混合好后放在PCR仪(S1000 Thermal Cycler)中进行反转录(37℃ 15 min, 85℃ 5 s, 4℃终止反应)。实时定量RT-PCR用购于Takara公司的SYBR® Premix Ex Taq™试剂盒, 将反转录得到的cDNA稀释5倍作为模板, 20 μL 体系中包括混合体系9 μL 、上下游引物(相关基因和引物序列见表1)各0.5 μL 、cDNA 2 μL 和ddH₂O 8 μL 。采用两步法进行PCR: 95℃ 30 s; 95℃ 5 s, 60℃ 30 s, 40个循环。选取*ACTIN2*为内参基因, 利用StepOnePlus™ Real-Time PCR仪(Applied Biosysteme公司)提供的软件对结果进行分析。对照组目的基因表达量定为1, 计算各处理组目的基因的相对表达量。

1.3 数据统计与分析

数据进行处理和分析利用Excel软件和SPSS 22。P<0.05为差异显著, P<0.01为差异极显著。结果以平均值±标准差表示。使用Origin软件作图。

2 实验结果

2.1 1-戊烯-3-酮熏蒸诱导拟南芥NADPH氧化酶基因的表达

为了研究NADPH氧化酶是否参与1-戊烯-3-酮信号诱导的拟南芥抗虫防御反应, 对1-戊烯-3-酮处理后拟南芥NADPH氧化酶基因*RBOHD*和*RBOHF*进行荧光定量PCR验证, 分别检测拟南芥这两个基因在1-戊烯-3-酮处理10 min、0.5 h和2 h后相对于对照处理的基因表达量变化。结果表明, 与对照处理相比, *RBOHD* (图1-A)和*RBOHF* (图1-B)基因在

表1 实时定量PCR基因和引物序列
Table 1 qRT-PCR genes and primer sequences

基因名称	正向引物(5'→3')	反向引物(5'→3')
<i>RBOHD</i>	GATGGGAGACAGCAGGAT	TTTCGACAAACAGGCAAC
<i>RBOHF</i>	CCAATGTCCTGCGGTTC	TTGTTGTTTCGTCGGCTC
<i>VSP1</i>	CGTATCCGTCACCTCCTCAT	CGCCAAAGGACTTGCCCTAA
<i>VSP2</i>	GTTAGGGACCGGAGCATCAA	AACGGTCACTGAGTATGATGGGT
<i>PDF 1.2</i>	CCATCATCACCCCTTATCTTCGC	TGTCCCACTTGCTTCTCG
<i>THI 2.1</i>	GTTCGTATACGTGAAGGGAGTA	CACACACTACATATTATCGACT
<i>ACTIN7</i>	CCATTCAAGCCGTCTTTC	CGTTCTGCGGTAGTGGTGA

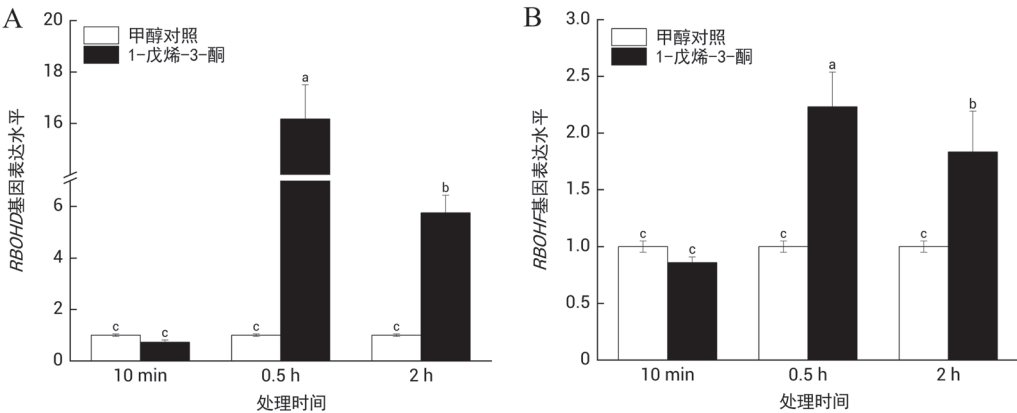


图1 1-戊烯-3-酮处理后拟南芥中*RBOHD*和*RBOHF*基因的相对表达量

Fig. 1 Relative expression levels of *RBOHD* and *RBOHF* genes in *Arabidopsis* treated with 1-pentene-3-one

内参基因为*ACTIN7*且定义其表达量为1, 计算出各组基因的相对表达量(平均值±标准误, $n=3$)。图中不同小写字母表示不同处理间的显著差异($P<0.05$)。

1-戊烯-3-酮处理0.5和2 h后表达量均显著升高。

2.2 NADPH氧化酶增强1-戊烯-3-酮熏蒸诱导的拟南芥抗虫性

为了探究NADPH氧化酶在1-戊烯-3-酮诱导的拟南芥抗虫性增强过程中的作用, 本研究分别对野生型拟南芥、突变体*Atrbohd*和*Atrbohlf*进行1-戊烯-3-酮熏蒸处理24 h, 之后用于小菜蛾喂养, 并在小菜蛾取食不同植株1周后进行体长、体重变化的测量。结果表明: 取食对照处理与1-戊烯-3-酮处理的野生型拟南芥后, 小菜蛾体长增长量差异显著(图2-A)。而取食对照处理与1-戊烯-3-酮处理的*Atrbohd*和*Atrbohlf*突变体后, 小菜蛾体长增长量在两组间均未达到显著(图2-A)。幼虫体重也有同样的变化趋势, 与对照处理相比, 取食1-戊烯-3-酮处理的WT幼苗组的幼虫体重增长明显下降; 而取食突

变体*Atrbohd*和*Atrbohlf*后, 1-戊烯-3-酮处理的幼虫体重与对照处理的幼虫体重变化不明显(图2-B)。

在小菜蛾取食对照处理与1-戊烯-3-酮处理的拟南芥1周后, 对WT、*Atrbohd*和*Atrbohlf*三种基因型拟南芥叶面积进行统计。结果如图2-C所示, 熏蒸1-戊烯-3-酮的野生型拟南芥被取食面积显著低于对照处理。而与对照处理的突变体组叶片叶面积相比, 熏蒸1-戊烯-3-酮的*Atrbohd*和*Atrbohlf*突变体叶面积略微减少, 但均未达到差异显著。

2.3 NADPH氧化酶参与1-戊烯-3-酮熏蒸诱导的拟南芥防御基因表达

我们之前的研究(董杉杉等2016)表明, 拟南芥中防御基因的激活与抗虫防御反应的产生受到1-戊烯-3-酮处理的强烈诱导。为了进一步证实1-戊烯-3-酮诱导的拟南芥抗虫反应中是否有NADPH氧

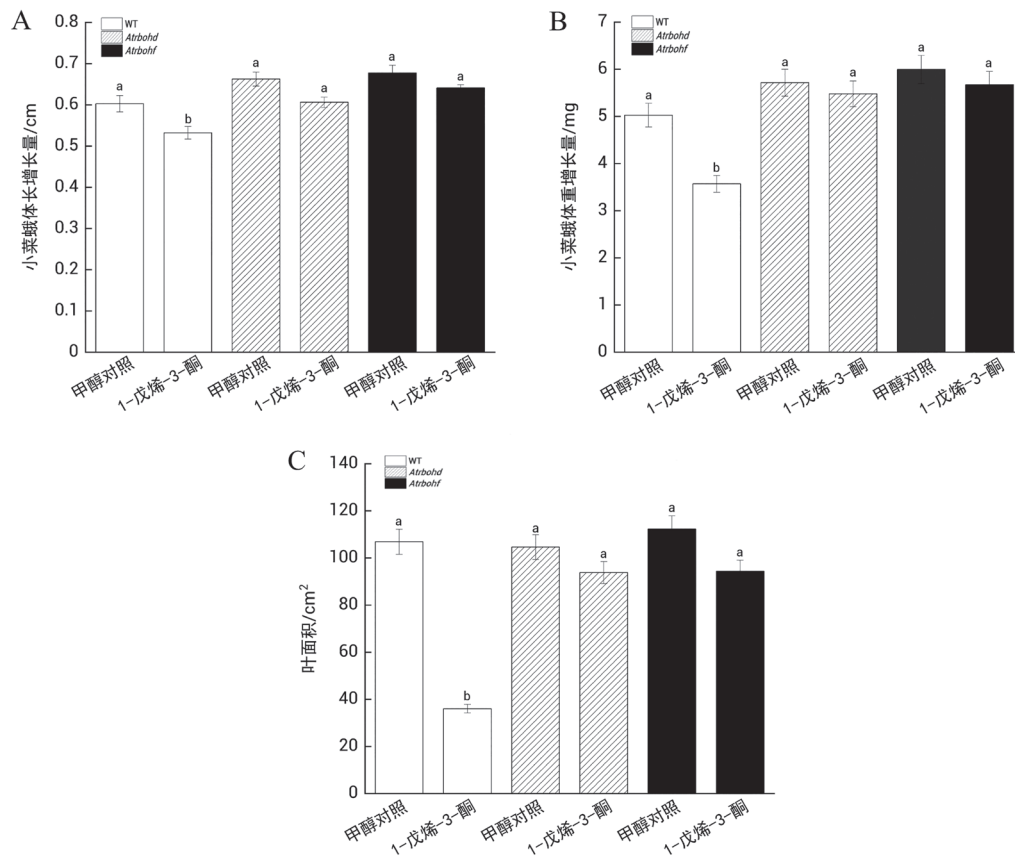


图2 小菜蛾取食不同处理的拟南芥后体长和体重的增长量及拟南芥叶面积的变化

Fig. 2 Growth in body length and body weight of *Plutella xylostella* after feeding on wild-type *Arabidopsis* under different treatments and changes in leaf area

A: 小菜蛾体长增长量; B: 小菜蛾体重增长量; C: 小菜蛾取食后的拟南芥叶面积变化。柱形图上方小写字母代表差异显著性(独立样本 t 检验, $P < 0.05$)。

化酶的参与, 本文探究了1-戊烯-3-酮处理8和16 h后 WT、*Atrboh1*和*Atrboh2*拟南芥中防御基因*Thi2.1*、*VSP1*、*PDF1.2*和*VSP2*的表达情况。结果如图3-A所示, 与对照处理相比, 1-戊烯-3-酮处理8 h诱导了 WT中*Thi2.1*的高表达量; 在*Atrboh1*中*Thi2.1*的表达量则均显著低于对照处理。而在*Atrboh2*中*Thi2.1*的表达量则均显著低于对照处理。*VSP1*和*VSP2*是茉莉酸防御响应基因, 参与影响植物的抗虫性(Guerineau等2003)。由图3-B和D可知, 1-戊烯-3-酮处理8和16 h均显著增强了WT中*VSP1*和*VSP2*的表达量; 相反, 在*Atrboh1*和*Atrboh2*中防御基因*VSP1*和*VSP2*的表达量都显著低于WT中的表达量。类似地, 1-戊烯-3-酮处理8和16 h均引起WT中*PDF1.2*的表达

量显著增强, 而同等时间下在*Atrboh1*和*Atrboh2*中*PDF1.2*的表达量均显著低于WT(图3-C)。

3 讨论

植物氧化脂质类化合物积极参与植物防御机制, 在植物抵御病原体和害虫的防御机制中发挥作用, 被认为是植物抵抗病原体和害虫的关键(Guimarães和Venâncio 2022), 其中含有 α, β -不饱和羰基结构的C₅挥发物1-戊烯-3-酮也被发现能够诱导拟南芥的抗虫防御反应(张庆花等2019)。植物在遭受昆虫取食后会快速积累ROS (Torres 2010)。植物NADPH氧化酶(呼吸迸发氧化酶同源物RBOHs)是植物生物胁迫过程中ROS的主要来源(Wu等2013),

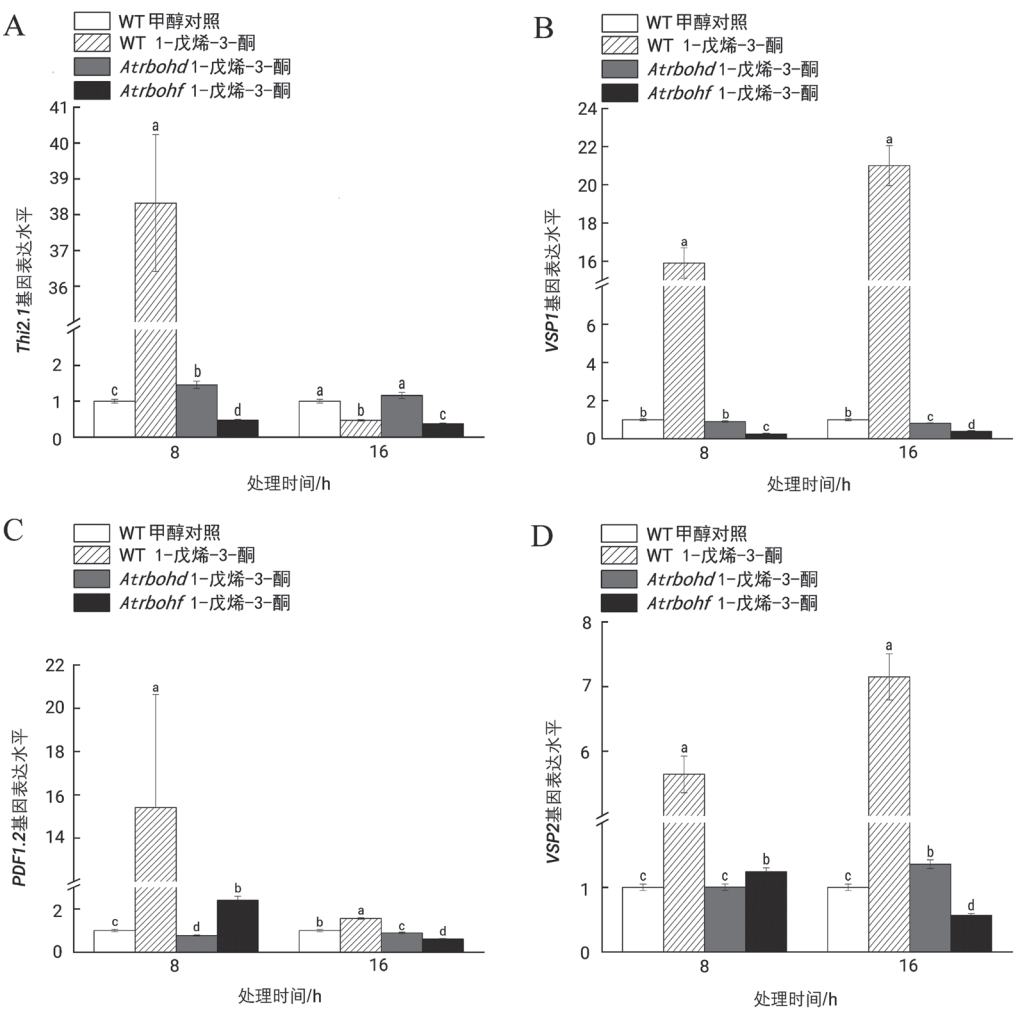


图3 1-戊烯-3-酮处理后拟南芥叶片防御基因的表达

Fig. 3 Expression of defense genes in leaves of Arabidopsis treated with 1-pentene-3-one

A: *Thi2.1*; B: *VSP1*; C: *PDF1.2*; D: *VSP2*. 内参基因为 *ACTIN7*, 相对表达量表示为平均值±标准差 (n=3)。不同小写字母表示同一时间不同处理间的显著差异 (P<0.05)。

先前的研究发现NADPH氧化酶RBOHD和RBOHF在调节拟南芥芜菁花叶病毒(TuMV)感染周期中的重要性(Otulak-Kozie等2020)。Maruta等(2011)从遗传学角度上揭示了RBOHD和RBOHF对拟南芥叶片响应JA过程中产生的ROS极其重要。拟南芥中依赖于RBOHD的ROS产生能够用于响应病原体攻击、损伤相关的分子模式和防御性代谢物; 真菌几丁质也会诱导拟南芥中产生依赖于RBOHD的ROS (Lozano-Duran等2014; Monaghan等2014)。我们之前的研究表明1-戊烯-3-酮通过诱导胞内H₂O₂含量的增加而参与了拟南芥叶肉细胞响应其产生的早

期信号事件(季亚溪等2018)。本研究表明, 经1-戊烯-3-酮熏蒸0.5和2 h后, 拟南芥中RBOHD和RBOHF基因表达量显著提高(图1), 表明1-戊烯-3-酮熏蒸的确诱导了NADPH氧化酶的表达。

研究发现, NADPH氧化酶活性的丧失会影响免疫反应和细胞死亡, 寄生线虫侵染拟南芥后, 可以激活NADPH氧化酶RBOHD和RBOHF产生ROS, 而缺乏RBOHD和RBOHF的植物在线虫感染时则表现出更大的细胞死亡区域, 营养细胞的形成也大大减少(Siddique等2014)。经1-戊烯-3-酮熏蒸处理后, 被接种在野生型拟南芥上的小菜蛾与其对

照组相比,小菜蛾的体长和体重都受到明显的抑制(图2),说明1-戊烯-3-酮预处理可能诱导了拟南芥的防御反应,并通过影响小菜蛾的取食和抑制它的生长来提高拟南芥的抗虫性。而接种在同样是1-戊烯-3-酮熏蒸处理的2种突变体拟南芥*Atrboh*d和*Atrboh*f上的昆虫体长和体重却与对照无差异,表明NADPH氧化酶参与了1-戊烯-3-酮预处理诱导的拟南芥抗虫防御反应。

茉莉酸(JA)是植物控制抗虫防御反应中最重要的激素和中心防御信号,昆虫取食后,植物中JA合成被迅速触发,诱导大量防御相关基因表达(Li等2022)。在水稻中发现受到褐飞虱(*Nilaparvata lugens*)攻击后,植株体内H₂O₂的含量随JA浓度急剧增加而增加(Qi等2015)。本实验探究1-戊烯-3-酮熏蒸处理野生型拟南芥Maruta和2种突变体拟南芥*Atrboh*d和*Atrboh*f后防御基因*Thi2.1*、*VSP1*、*PDF1.2*和*VSP2*的表达情况。经典的JA响应基因包括*PDF1.2* (*PLANT DEFENSIN1.2*)和*VSPs* (*VEGETATIVE STORAGE PROTEIN*), *PDF1.2*编码防御素, *THI2.1*编码一种硫蛋白, *VSP1*和*VSP2*是茉莉酸防御响应基因(Guerineau等2003),它们都参与昆虫诱导的植物防御反应(张瑞鑫等2014)。在本研究中,与对照相比,用1-戊烯-3-酮熏蒸处理的野生型植物中JA相关基因的表达增加(图3),这表明1-戊烯-3-酮诱导的JA相关基因的上调使植物处于更具抗逆性的状态,以增强植物的防御能力。在*Atrboh*d突变体中, *Thi2.1*在处理8 h的表达量较WT显著下调,而在处理16 h的表达量明显高于WT,这揭示了*Thi2.1*可能参与短时间内1-戊烯-3-酮处理诱导的拟南芥防御反应。由图3-C可知,WT中*PDF1.2*在处理8和16 h的表达量均显著高于对照,而在2种突变体中表达量则显著低于WT;同时与WT相比,2种突变体中1-戊烯-3-酮处理8和16 h后*VSP1*和*VSP2*的基因表达量均产生显著下降(图3-B和D)。以上结果证明RBOHD和RBOHF的功能缺失整体抑制了1-戊烯-3-酮诱导的防御基因的上调表达,说明1-戊烯-3-酮首先激活了NADPH氧化酶的活性,进而作用于JA防御信号途径,诱导防御基因表达,从而引起拟南芥抗虫性的增强。

综上所述,用1-戊烯-3-酮熏蒸可以诱导拟南芥

NADPH氧化酶基因的表达, *RBOHD*和*RBOHF*在经1-戊烯-3-酮熏蒸后表达量显著升高,说明NADPH氧化酶参与了1-戊烯-3-酮诱导的拟南芥抗虫防御反应; NADPH氧化酶通过影响小菜蛾的取食行为来提高拟南芥抵御虫害的能力,并参与1-戊烯-3-酮熏蒸诱导的拟南芥防御基因*Thi2.1*、*VSP1*、*PDF1.2*和*VSP2*的表达,从而增强拟南芥抗虫防御反应。

参考文献(References)

- Almérás E, Stolz S, Vollenweider S, et al (2003). Reactive electrophile species activate defense gene expression in *Arabidopsis*. *Plant J*, 34 (2): 205–216
- Baxter A, Mittler R, Suzuki N, et al (2014). ROS as key players in plant stress signaling. *J Exp Bot*, 65 (5): 1229
- Dong SS, Zhang T, Yan SL, et al (2016). 1-penten-3-one induces defense responses in *Arabidopsis thaliana* to *Plutella xylostella*. *Plant Physiol J*, 52 (5): 715–722 (in Chinese with English abstract) [董杉杉, 张婷, 闫素丽等 (2016). 1-戊烯-3-酮诱导拟南芥对小菜蛾的防御反应. *植物生理学报*, 52 (5): 715–722]
- Dubiella U, Seybold H, Durian G, et al (2013). Calcium-dependent protein kinase/NADPH oxidase activation circuit is required for rapid defense signal propagation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 110 (21): 8744
- Engelberth J, Engelberth M (2020). Variability in the capacity to produce damage-induced aldehyde green leaf volatiles among different plant species provides novel insights into biosynthetic diversity. *Plants*, 9 (2): 213
- Farmer EE (2001). Surface-to-air signals. *Nature*, 411: 854–856
- Farmer EE, Davoine C (2007). Reactive electrophile species. *Curr Opin Plant Biol*, 10: 380–386
- Farmer EE, Mueller MJ (2013). ROS-mediated lipid peroxidation and RES-activated signaling. *Annu Rev Plant Biol*, 64: 429–450
- Fisher AJ, Grimes HD, Fall R, et al (2003). The biochemical origin of pentenol emissions from wounded leaves. *Phytochemistry*, 62 (2): 159–163
- Guerineau F, Benjdia M, Zhou DX (2003). A jasmonate-responsive element within the *A. thaliana* *vsp1* promoter. *J Exp Bot*, 54 (385): 1153–1162
- Guimarães A, Venâncio A (2022). The potential of fatty acids and their derivatives as antifungal agents: a review. *Toxins*, 14 (3): 188
- Heiden AC, Kobel K, Langebartels C, et al (2003). Emissions of oxygenated volatile organic compounds from plants. part I: Emissions from lipoxygenase activity. *J Atmos Chem*, 45: 143–172
- Ji YX, Xu LY, Jiao CY, et al (2018). Role of NADPH oxidase in early signal events induced by 1-penten-3-one in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Physiol J*, 54 (7): 1213–1222 (in Chinese with English abstract) [季亚溪, 许玲玉, 焦春阳等 (2018). NADPH氧化酶在1-戊烯-3-酮诱导的拟南芥早期信号事

- 件中的作用. 植物生理学报, 54 (7): 1213–1222]
- Kadota Y, Shirasu K, Zipfel C (2015). Regulation of the NADPH oxidase RBOHD during plant immunity. *Plant Cell Physiol*, 56 (8): 1472–1480
- Kerchev PI, Fenton B, Foyer CH, et al (2012). Plant responses to insect herbivory: interactions between photosynthesis, reactive oxygen species and hormonal signaling pathways. *Plant Cell Environ*, 35 (2): 441–453
- Kunishima M, Yamauchi Y, Mizutani M, et al (2016). Identification of (Z)-3:(E)-2-hexenal isomerases essential to the production of the leaf aldehyde in plants. *J Biol Chem*, 291 (27): 14023–14033
- Li C, Xu M, Cai X, et al (2022). Jasmonate signaling pathway modulates plant defense, growth, and their trade-offs. *Int J Mol Sci*, 23 (7): 3945
- Lozano-Duran R, Bourdais G, He SY, et al (2014). The bacterial effector HopM1 suppresses PAMP-triggered oxidative burst and stomatal immunity. *New Phytol*, 202: 259–269
- Maffei ME, Mithöfer A, Boland W (2007). Before gene expression: early events in plant-insect interaction. *Trends Plant Sci*, 12 (7): 310–316
- Maruta T, Inoue T, Tamoi M, et al (2011). Arabidopsis NADPH oxidases, AtrbohD and AtrbohF, are essential for jasmonic acid-induced expression of genes regulated by MYC2 transcription factor. *Plant Sci*, 180: 655–660
- Matsui K, Koeduka T (2016). Green leaf volatiles in plant signaling and response. In: Nakamura Y, Li-Beisson Y (eds). *Lipids in Plant and Algae Development*. Vol 86. Springer Cham, 427–446
- Miller G, Schlauch K, Tam R, et al (2009). The plant NADPH oxidase RBOHD mediates rapid systemic signaling in response to diverse stimuli. *Sci Signal*, 2 (84): ra45
- Monaghan J, Matschi S, Shorinola O, et al (2014). The calcium-dependent protein kinase CPK28 buffers plant immunity and regulates BIK1 turnover. *Cell Host Microbe*, 16: 605–615
- Morales J, Kadota Y, Zipfel C, et al (2016). The Arabidopsis NADPH oxidases RbohD and RbohF display differential expression patterns and contributions during plant immunity. *J Exp Bot*, 67 (6): 1663–1676
- Mueller S, Hilbert B, Dueckershoff K, et al (2008). General detoxification and stress responses are mediated by oxidized lipids through TGA transcription factors in *Arabidopsis*. *Plant Cell*, 20 (3): 768–785
- Orozco-Cárdenas M, Ryan CA (1999). Hydrogen peroxide is generated systemically in plant leaves by wounding and systemin via the octadecanoid pathway. *Proc Natl Acad Sci USA*, 96 (11): 6553–6557
- Otulak-Kozie K, Kozie E, Józef Julian, et al (2020). Respiratory burst oxidase homologs RBOHD and RBOHF as key modulating components of response in turnip mosaic virus-*Arabidopsis thaliana* (L.) heyhn system. *Int J Mol Sci*, 21 (22): 8510
- Paré PW, Tumlinson JH (1997). De novo biosynthesis of volatiles induced by insect herbivory in cotton plants. *Plant Physiol*, 114 (4): 1161–1167
- Poecke RMPV, Posthumus MA, Dicke M (2001). Herbivore-induced volatile production by *Arabidopsis thaliana* leads to attraction of the parasitoid *Cotesia rubecula*: chemical, behavioral, and gene-expression analysis. *J Chem Ecol*, 27: 1911–1928
- Powell G, Tosh CR, Hardie J (2006). Host plant selection by aphids: behavioral, evolutionary, and applied perspectives. *Ann Rev Entomol*, 51 (1): 309–330
- Pretorius CJ, Zeiss DR, Dubery IA (2021). The presence of oxygenated lipids in plant defense in response to biotic stress: a metabolomics appraisal. *Plant Signal Behav*, 16 (12): 1989215
- Qi J, Li J, Han X, et al (2015). Jasmonic acid carboxyl methyltransferase regulates development and herbivory-induced defense response in rice. *J Integr Plant Biol*, 58: 564–576
- Schmid-Siebert E, Loscos J, Farmer EE (2012). Inducible malondialdehyde pools in zones of cell proliferation and developing tissues in *Arabidopsis*. *J Biol Chem*, 287: 8954–8962
- Shiojiri K, Ozawa R, Matsui K, et al (2006). Role of the lipoxygenase/lyase pathway of host-food plants in the host searching behavior of two parasitoid species, *Cotesia glomerata* and *Cotesia plutellae*. *J Chem Ecol*, 32: 969–979
- Siddique S, Matera , Zoran S, et al (2014). Parasitic worms stimulate host NADPH oxidases to produce reactive oxygen species that limit plant cell death and promote infection. *Sci Signal*, 7 (320): ra33
- Suzuki N, Miller G, Morales J, et al (2011). Respiratory burst oxidases: the engines of ROS signaling. *Curr Opin Plant Biol*, 14 (6): 691–699
- Tanaka T, Ikeda A, Shiojiri K, et al (2018). Identification of a hexenal reductase that modulates the composition of green leaf volatiles. *Plant Physiol*, 178 (2): 552–564
- Torres MA (2010). ROS in biotic interactions. *Physiol Plantarum*, 138 (4): 414–429
- Wu J, Wang L, Wünsche H, et al (2013). Narboh D, a respiratory burst oxidase homolog in *Nicotiana attenuata*, is required for late defense responses after herbivore attack. *J Integr Plant Biol*, 55 (2): 187–198
- Zebelo SA, Maffei ME (2015). Role of early signaling events in plant-insect interaction. *J Exp Bot*, 66 (2): 435–448
- Zhang QH, Chen QH, Chen YY, et al (2019). Role of 1-pentene-3-one in plant defense response. *Plant Physiol J*, 55 (3): 225–231 (in Chinese with English abstract) [张庆花, 陈迎迎, 张海龙等(2019). 1-戊烯-3-酮在植物防御反应中的作用. 植物生理学报, 55 (3): 225–231]
- Zhang RX, Gao HB, Yan SL, et al (2014). Transmembrane Ca^{2+} and H^{+} flows participate in the anti-insect defense response induced by linalol in Arabidopsis. *Plant Physiol J*, 50 (4): 471–476 (in Chinese with English abstract) [张瑞鑫, 高海波, 闫素丽等(2014). 跨膜 Ca^{2+} 和 H^{+} 离子流参与里那醇诱导的拟南芥中抗虫防御反应. 植物生理学报, 50 (4): 471–476]