

DOI: 10.13376/j.cbls/2015113

文章编号: 1004-0374(2015)07-0813-06



陈晓亚, 1982年毕业于南京大学生物学系, 1985年获得英国里丁大学博士学位。1985~1991年在南京大学任教, 之后赴德国 Tuebingen 大学和美国 Purdue 大学做研究, 1994年至今在中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所工作, 现为研究员、上海辰山植物科学研究中心主任、中国植物生理与植物分子生物学学会理事长, *Science Bulletin* 主编。从事植物次生代谢和棉花生物学研究, 早年曾从事植物分类学研究。2005年当选为中国科学院院士, 2008年当选发展中国家科学院院士。

植物萜类生物合成与抗虫反应

陈晓亚^{1,2*}, 王凌健¹, 毛颖波¹, 杨长青¹

(1 中国科学院上海生命科学研究院植物生理生态研究所, 植物分子遗传国家重点实验室, 上海 200032;
2 上海辰山植物园, 中国科学院上海辰山植物科学研究中心, 上海市资源植物功能基因组学重点实验室, 上海 201602)

摘要: 植物次生代谢在植物的环境适应, 尤其是与微生物和动物的互作和防御反应中起重要作用。萜类是植物次生代谢物中最丰富的一类化合物, 许多成分具有重要生理功能和应用价值。腺毛和腺体是植物次生代谢物合成、储藏和分泌的重要器官。我们实验室在植物倍半萜和单萜的生物合成途径及其调控机制、表皮毛发育与萜类代谢调控等方面取得了一系列研究进展。此外, 还分析了棉铃虫对棉酚的耐受性(适应性)反应, 利用棉铃虫防御基因, 发展了一种植物介导的 RNAi 抗虫技术, 可以有效、特异地抑制昆虫基因的表达, 在植物抗虫技术研究领域有应用前景。

关键词: 次生代谢; 萜类; 棉花; 表皮毛; 植物昆虫互作

中图分类号: Q945; Q958.12; S562 **文献标志码:** A

Plant terpenoids: biosynthesis, regulation and plant-insect interactions

CHEN Xiao-Ya^{1,2*}, WANG Ling-Jian¹, MAO Ying-Bo¹, YANG Chang-Qing¹

(1 National Key Laboratory of Plant Molecular Genetics, Institute of Plant Physiology and Ecology, Shanghai Institutes for Biological Sciences, Chinese Academy of Sciences, Shanghai 200032, China; 2 Plant Science Research Center, Shanghai Key Laboratory of Plant Functional Genomics and Resources, Shanghai Chenshan Botanical Garden, Shanghai 201602, China)

Abstract: Plant secondary metabolism plays an important role in plant adaptation to environment, particularly in mediating bio-interactions and protecting plants from herbivores and pathogens. Terpenoids form the largest group of plant secondary metabolites, and we are interested in sesquiterpene biosynthesis and regulation. Trichome is closely related to secondary metabolism as glandular trichomes synthesize, store and secrete/emit secondary

收稿日期: 2014-12-25

基金项目: 国家重点基础研究发展计划(“973”项目)(2013CB127004); 中国科学院战略性先导科技专项(B类)(XDB11030300)

*通信作者: E-mail: xychen@sibs.ac.cn

metabolites. In this direction, we are particularly interested in transcription factors. We have analyzed the cotton bollworm response to gossypol in relation to insecticide tolerance, and developed the plant based RNAi technology for insect pest control and crop protection.

Key words: secondary metabolism; terpene; cotton; trichome; plant-insect interactions

次生代谢物 (secondary metabolites), 又称特殊代谢物 (specialized metabolites), 是一类由生物产生的, 并非细胞生命活动或生物生长发育正常运行所必需的小分子化合物。植物次生代谢物可分为酚类、萜类和含氮化合物 (生物碱) 等 3 个主要类群, 其产生和分布通常具有种属、器官、组织和生长发育期的特异性。这些小分子化合物在植物适应环境、生物间信息交流以及协同进化中发挥重要作用, 在植物长期进化过程中形成并日趋丰富。萜类成分是植物次生代谢物中最丰富的一类, 大约有 2.50 万种化合物。从结构上看, 萜类由单个或多个五碳单元首尾拼接而成, 根据五碳单元的数量可以分成单萜、单萜、倍单萜、二萜、三萜、四萜以及高聚萜类等, 其中单萜和倍单萜是植物产生的挥发性物质的重要成分, 在植物与微生物和动物的互作和防御反应中起重要作用^[1-3]。本实验室针对植物的倍单萜和单萜生物合成与调控以及植物抗虫反应开展了一系列研究。

1 单萜和倍单萜生物合成途径解析

异戊烯基二磷酸 (IPP) 和二甲烯基丙基二磷酸 (DMAPP) 是所有萜类生物合成的前体。有趣的是, 植物通过两个空间上隔开的途径合成 IPP 和 DNAPP: 细胞质中的甲羟戊酸途径 (MVA pathway) 和质体中的 2-C-甲基-D-赤藓糖醇-4-磷酸途径 (MEP pathway)。接着, 异戊烯基转移酶催化去磷酸形成异戊二烯释放到环境中, 或将底物首尾交联成牻牛儿二磷酸 (GPP, C-10)、法尼基二磷酸 (FPP, C-15)、牻牛儿牻牛儿基二磷酸 (GGPP, C-20) 等, 再由萜类合酶 (terpene synthase, TPS) 催化形成结构各异的萜类化合物^[4]。总体来说, 前体化合物的合成途径 (MVA 途径, MEP 途径, 用于合成 GPP、FPP、GGPP 的异戊烯基转移酶) 在不同植物类群中比较保守, 蛋白质序列和催化功能差异不大, 而 TPS 虽然在序列上具有一定的相似性, 但它们的催化活性差异巨大, 直接决定了植物萜类化合物的种类和结构多样性。TPS 的产物或释放到环境中, 成为植物与环境互作中的重要信号分子; 或被其他酶

修饰, 成为参加植物防御反应的植保素 (phytoalexins); 也有少数成分成为调控植物的生长发育的激素, 如油菜素内酯、赤霉素、脱落酸、独角金莲内酯等^[1,3,5]。许多萜类成分具有重要的药用价值或促进健康的功能, 如抗肿瘤药物紫杉醇、抗疟疾特效药物青蒿素、抗炎活血的丹参酮和冬凌草素, 以及具有多种药理活性的三萜类化合物 (如人参皂甙) 等^[6-7]。

棉花是世界上最重要的经济作物之一, 是天然纤维的主要来源。棉花多个组织含有大量倍单萜衍生物, 包括棉酚、半棉酚酮和杀夜蛾素等, 其含量最高可达干重的 1%。它们具有普遍的生物毒性, 是棉花抵御病原微生物和草食性动物 (害虫) 的主要植保素。我们课题组对棉酚生物合成途径进行了系统的研究。

倍单萜合酶 (sesquiterpene synthase) 催化法尼基二磷酸 (FPP) 形成倍单萜中间体。棉酚类成分具有共同的倍单萜骨架结构, 以 (+)- δ -杜松烯 [(+)- δ -cadinene] 为合成前体。棉花倍单萜合酶, (+)- δ -杜松烯合酶 (CDN 或 CAD), 是催化棉酚生物合成第一步反应的关键酶。本文第一作者在美国 Purdue 大学做博士后研究期间首先克隆得到 (+)- δ -杜松烯合酶^[8], 之后又分离鉴定了 CDN 家族其他成员的 cDNA 基因^[9-10] 并分析了这些基因的表达特征^[11-12]。

棉酚及其类似物贮存在棉花地上器官的近表皮色素腺体和根部表皮、亚表皮层。几乎所有的棉花品种都含有色素腺体, 但有少数突变体材料色素腺体缺失, 因而地上部分 (包括种子) 不含棉酚, 称为无腺体棉或无酚棉。通过对正常品种和无酚棉的比较分析, 我们分离了对 (+)- δ -cadinene 进行羟基化修饰的 P450 单加氧酶 CYP706B1^[13], 以及辅助 P450 催化功能的 P450 还原酶^[14]。此外, 我们还分离棉花法尼基二磷酸合酶 (FPS) 并分析了基因表达^[15], 以及漆酶 LAC1^[16], 后者不仅可能催化半棉酚交联成棉酚, 还可用于土壤修复。这些工作使我们对棉酚代谢途径有了初步但系统的了解。除了棉酚, 棉花植株还合成并释放多种挥发性单萜和倍单萜类化合物。我们发现, 倍单萜合酶 GhTPS1/2/3 催化这些化合物的合成^[17]。

菊科植物青蒿 (*Artemisia annua*) 合成大量单萜和倍半萜成分, 其中倍半萜内酯青蒿素 (artemisinin) 是著名的治疗疟疾, 尤其是恶性疟疾的药物。我们课题组分析了青蒿的萜类成分, 克隆了多个单萜和倍半萜合酶, 包括 (3R) 芳香醇 (linalool) 合酶^[18]、蒎烯 (pinene) 合酶^[19]、石竹烯 (caryophyllene) 合酶^[20]和 α -没药醇 (bisabolol) 合酶^[21]。青蒿的 α -没药醇合酶 AaBOS 与青蒿素合成关键酶紫穗槐烯合酶 (amorpha-4,11-diene synthase, ADS) 序列高度相似, 但产物完全不同。通过蛋白质结构解析和定点突变技术找到了与催化效率密切相关的关键位点, 为青蒿素代谢工程提供了新的思路和靶点^[21]。此外, 我们还分析了水稻的倍半萜合酶^[22]。

2 倍半萜生物合成调控

作为具有高强活性的防御性化合物, 棉酚在植物中的合成与积累具有严格的时间和空间特异性, 并受环境因子, 如病菌侵染和害虫取食的诱导^[12-13]。植物中许多 WRKY 类转录因子控制基因的诱导性表达。我们从亚洲棉 (*G. arboreum*) 中分离鉴定了 WRKY 转录因子 GaWRKY1, 它能够结合 CDN-A 基因启动子上的 W-box, 激活基因表达, 对棉酚代谢具有重要的调控作用^[23], 这也是第一个报道的调控倍半萜代谢的转录因子。AP2/ERF 是另一类介导植物防御激素信号与基因表达的转录因子, 我们分离了青蒿的 AaERF1 和 AaERF2, 它们都能通过与 ADS 和 P450 单加氧酶 CYP71AV1 基因启动子区域中的顺式元件结合, 激活青蒿素合成途径。在青蒿中高表达这两个转录因子, 青蒿素的生物合成与积累得到提高^[24]。

挥发性萜类是植物与环境, 尤其是与其他生物互作中的重要信号分子, 花的挥发性成分具有吸引昆虫传粉的功能, 但对于环境因子和发育信号如何协调萜类化合物代谢的机制还了解不多。我们课题组发现, bHLH 类转录因子 MYC2 是拟南芥花器官中挥发性萜类合成的重要调控因子, 它既是茉莉酸酯 (jasmonate, JA) 信号途径的关键输出点, 还能与赤霉素 (GA) 信号分子 DELLA 结合。赤霉素是促进植物生长和开花的重要激素, 因此, MYC2 通过与 JA 和 GA 信号途径的因子互作来整合外源环境 (防御) 和内源生长发育信号, 协调花中单萜和倍半萜的合成与挥发^[25]。

许多次生代谢物随着植物的生长成熟逐渐积累。所谓“千年老参”, 意指高龄植物积累更多的

次生代谢物。受 miR156 调控的 SPL 家族转录因子是植物中保守的年龄因子, 对香料植物广藿香 (*Pogostemon cablin*) 的研究发现, 这些 SPL 因子直接调控倍半萜合酶基因表达。随着植物成熟, miR156 表达下降, SPL 水平增高, 导致广藿香油合成与积累的增加。这一研究结果为利用基因工程同时提高植物生长和次生代谢物合成提供了新思路^[26]。

3 萜类代谢与表皮毛

大多数陆生植物的表面都覆有被毛, 包括地上器官的表皮毛 (trichome) 和地下器官的根毛 (root hair)。根据形态结构的不同, 表皮毛又可分为单细胞毛和多细胞毛, 有分叉毛和无分叉毛, 腺毛和非腺毛等, 棉纤维就是生长在棉花种子上的高度伸长的单细胞表皮毛。植物表皮毛具有多种功能, 如抵抗昆虫取食、降低辐射伤害、降低蒸腾作用、增加御寒能力等。很多重要的植物次生代谢物是在腺毛中合成的, 因此, 两者的调控机制有密切关联。

已知直接调控拟南芥表皮毛起始的转录因子包括 3 类, 分别是 WD40 蛋白 TRANSPARENT TESTA GLABRA1 (TTG1)、R2R3 MYB 类转录因子 GLABRA1 (GL1) 和 MYB23, 以及 bHLH 类转录因子 GLABRA3 (GL3) 和 ENHANCER OF GLABRA3 (EGL3), 其中 GL1 是关键因子; 它们形成 MYB-bHLH-WD40 复合体, 激活下游关键转录因子 GLABRA2 (GL2) 基因的表达。另一类单个 MYB 域的因子, 如 TRICHOMELESS 1 (TCL1) 和 TRIPTYCHON (TRY) 等, 与 GL1 竞争结合 GL3, 干扰活性复合体的形成^[4,27-28]。我们发现棉纤维细胞中这些转录因子基因都高水平表达^[29], 转入拟南芥大多都能互补相应同源基因突变的表型, 因而都具有调控表皮毛发育的功能。我们已发现与 GL2 有一定同源性的 GhHOX3 是调控棉纤维伸长的关键因子^[30], 但 MYB-bHLH-WD40 复合体在棉纤维发育中的具体功能还需要进一步分析。倒是另一类属于 MIXTA 类的 MYB 转录因子 GhMYB25-like, 被证明在棉纤维起始过程中起重要作用^[31]。

GaMYB2 (或 GhMYB2) 是棉花中与 GL1 同源性很高的转录因子基因, 在纤维中特异表达, 可以互补拟南芥 *g1* 没有表皮毛的表型, 过表达时还能诱导拟南芥种子表面长出表皮毛^[32]。*GaMYB2* 基因的启动子也是表皮毛特异的, 尤其有趣的是, 在烟草中该启动子主要在分泌型腺毛的腺细胞中表达, 而这里正是次生代谢活跃的区域^[33], 这不仅为植物

代谢工程提供了特异性调控元件,也为分析多细胞表皮毛各个细胞的属性提供了线索。

进一步研究发现,拟南芥表皮毛的发育在时间和空间上受到严格控制,与植物时相转换紧密连锁。拟南芥在营养发育时期,表皮毛主要生长于莲座叶的近轴面;而当植物进入生殖发育期,表皮毛的数量随着花序轴的延伸而减少,直至花器官(除花萼外)基本无毛。这一依赖于植物发育进程的特征是由 miR156-SPL 控制的。与直接调控萜类合酶基因的表达^[26]不同, SPL 通过不断上调表皮毛起始抑制子 TCL1 和 TRY 基因的表达阻止表皮毛发育^[34]。

研究还发现,拟南芥另一组 microRNA, miR171 通过调控 *LOST MERISTEMS 1 (LOM1)*、*LOM2* 和 *LOM3* 等 GRAS 蛋白基因的表达来影响表皮毛的分布。LOM 蛋白可与 SPL 因子(如 SPL9)结合,这种蛋白质间的相互作用削弱 SPL 的转录激活活性,导致 TCL1 和 TRY 基因表达受阻,表皮毛在茎和花器官上异位发育。LOM 与 SPL 相互作用的意义不仅仅是局限于控制表皮毛分布,对许多重要的生长发育过程,如叶绿素发育也有重要影响^[35-36]。综上所述, miR156-SPL 和 miR171-LOM 是连接植物发育进程、表皮毛发育和次生代谢的桥梁。

4 棉酚与植物-昆虫互作

植物对昆虫的防御反应可分为组成型和诱导型两大类,两者都导致植物次生代谢物和防御蛋白的产生与积累。一般来说,不同植物的诱导型防御机制是相似的,而组成型防御往往因种而异,不同植物会积累特殊的小分子化合物来抵御特定类群的植食性昆虫。植物受昆虫进攻后,通过包括茉莉酸酯、系统素、半乳糖醛酸、过氧化氢等在内的信号分子转导,激发产生局部的和系统的诱导型防御。此外,植物还可诱导产生并释放挥发性气体,它们或者对昆虫有趋赶避作用,或者作为信号分子吸引昆虫的天敌^[3,37-38]。

在长期的进化演变中,植食性昆虫对植物防御形成的适应机制,也可分为组成型和诱导型两种。专性植食昆虫对植物防御机制的适应一般是组成型的,昆虫或存在一个发达的解毒酶系来对付其专一性宿主所产生的有毒化合物,或者有一套特殊的系统来阻止有毒化合物的吸收并将其排出体外。而广谱性植食昆虫则通过可诱导的反应来克服植物的防御物质,其体内的解毒酶系可以在取食植物时被诱导,从而对摄入的活性物质进行解毒^[39]。

植物对昆虫的抗性和昆虫对植物的适应性都是相对的,没有一种植物可以抵抗全部植食性昆虫,也没有一种昆虫能耐受所有的植物毒素。两者在不断的竞争和较量中协同演化,越来越多样化和复杂化。

尽管棉酚对包括植食性昆虫在内的大多数生物体有毒,但棉铃虫(*Helicoverpa armigera*)却能以棉花为食完成生活史,说明棉铃虫对棉酚有较高的耐受性。细胞色素 P450 单加氧酶(P450)在许多代谢途径中起重要作用,在多细胞生物中往往形成一个多成员的家族。在昆虫中,P450 承担着许多重要的生理功能,包括对外源化合物(如植物次生生物和人工杀虫剂)的代谢解毒。经 P450 活性抑制剂处理的棉铃虫对棉酚耐受性明显降低,说明 P450 是这种耐受性所必需的。CYP6AE14 是一个受棉酚诱导的在棉铃虫幼虫中常高表达的 P450 单加氧酶,我们将之命名为 GIP (gossypol induced P450)。食物中存在棉酚时,GIP 的表达水平与棉铃虫的生长呈正相关^[40]。

艾氏剂是一种有机氯杀虫剂,棉铃虫 P450 单加氧酶 GIP 具有艾氏剂环氧化活性。由于 GIP 等 P450 基因的表达受棉酚的诱导,因此,棉酚处理可能会提高棉铃虫对包括杀虫剂在内的有活性化合物的解毒能力。我们发现,棉铃虫在取食含高浓度棉酚的有腺体棉叶片后,中肠 P450 总酶活有明显提高,对杀虫剂溴氰菊酯的耐受性增强。同时,低浓度溴氰菊酯处理也能够提高棉铃虫中肠 P450 活性。为了进一步研究棉酚对棉铃虫解毒能力的影响,我们分析了不同次生代谢化合物以及溴氰菊酯处理后的棉铃虫中肠转录组,结果显示在各受试组中溴氰菊酯和棉酚诱导的 P450 基因表达谱最为相似。多个棉铃虫 P450 基因的表达能同时被棉酚或溴氰菊酯诱导。报道显示,这些 P450 具有底物多样性。对其中 5 个(*CYP321A1*、*CYP9A12*、*CYP9A14*、*CYP6AE11* 和 *CYP6B7*)进行分析,发现这些基因的高表达以及中肠 P450 的活性的提高与棉铃虫溴氰菊酯抗性密切相关。抑制 P450 基因(如 *CYP9A14*)的表达,棉铃虫对溴氰菊酯的耐受性降低。需要指出的是,虽然棉铃虫是广谱性的植食昆虫,但由于长期生活在棉田,形成了对棉酚的高效的响应机制。因此,P450 酶家族对植物次生代谢物的响应机制是作物害虫产生抗药性的重要分子基础。由此可见,昆虫不是一味被动地防御植物次生代谢物,还主动利用这些天然产物来锻炼自己,增加对复杂生物环境的适应性^[41]。

5 植物抗虫新技术——植物介导的RNAi

RNA 干扰 (RNAi) 是基因和基因组调控的一个重要机制。自发现以来, RNAi 在基础和应用研究两方面发展迅速, 已被广泛应用于靶基因功能分析和基因治疗。我们发展了一种植物介导的昆虫 RNAi 技术: 将与昆虫基因匹配的双链 RNA 在植物中表达, 昆虫取食后相应靶基因的表达受到抑制^[40]。这一技术的一个显著优点是能够特异性地抑制昆虫防御基因的表达, 不仅为昆虫的功能基因组研究提供了便捷的方法, 也为农业害虫的安全有效防治提供了新思路和新技术, 使 RNA 干扰抗虫在作物生产中的应用成为可能。这项技术为开发新一代安全有效的抗虫植物奠定了基础。越来越多的证据表明, 植物介导的昆虫 RNAi 适用于包括咀嚼式和刺吸式在内的多种昆虫, 并具有较高的基因特异性^[42-44]。

前期研究表明, 棉铃虫对棉酚的耐受性与 GIP 在中肠的高表达密切相关。将 GIP 双链 RNA 载体 (dsGIP) 转入棉花, 虫试分析发现, 以 dsGIP 棉为食的棉铃虫幼虫体重增加缓慢, 生长受到严重抑制, 同时对棉铃的损害降低, 因此, dsGIP 棉花对棉铃虫的抗性得到增强, 说明这一技术对研制开发新一代安全有效的抗虫植物 (如抗虫棉) 具有可行性^[45]。

在植物介导昆虫 RNAi 的过程中, 沉默信号从食物向昆虫传递是靶基因抑制得以实现的关键步骤。昆虫的围食膜的一个功能是将食物与中肠细胞隔离, 因而成了 dsRNA 进入中肠细胞的第一道屏障。我们用植物半胱氨酸蛋白酶疏松昆虫围食膜结构, 使得 dsRNA 更容易被中肠细胞吸收。将 dsRNA 和半胱氨酸蛋白酶在植物中共表达, 显著地提高了植物介导昆虫 RNAi 效率, 提高了植物的抗虫性, 使 RNAi 技术在植物抗虫领域的应用向前迈出了重要一步^[46]。

转基因 Bt 作物具有良好的抗虫性能, 但这一技术也有其局限性。Bt 毒素对包括蚜虫在内的刺吸式昆虫作用不大; 由于长期种植, 有些害虫对 Bt 转基因作物产生了抗性。因此, 需要发展新的抗虫技术。RNAi 在植物保护中的利用不仅仅是抗虫, 在病毒防御机制中也能发挥重要作用, 同时还能用于调控植物的抗逆和抗病反应^[47-48]。有研究表明, 在植物中表达小麦叶锈病致病基因的 dsRNA 削弱了病原菌的侵染^[49], RNAi 信号还可以在宿主和寄生植物间传播, 控制寄生的蔓延^[50]。综上所述, 植物介导的 RNAi 技术在农林业生物技术领域有广阔

的应用前景。

[参 考 文 献]

- [1] Dudareva N, Pichersky E, Gershenzon J. Biochemistry of plant volatiles. *Plant Physiol*, 2004, 135: 1893-902
- [2] Cheng AX, Lou YG, Mao YB, et al. Plant terpenoids: Biosynthesis and ecological functions. *J Integr Plant Biol*, 2007, 49: 179-86
- [3] Tholl D. Terpene synthases and the regulation, diversity and biological roles of terpene metabolism. *Curr Opin Plant Biol*, 2006, 9: 297-304
- [4] Pesch M, Hulskamp M. One, two, three...models for trichome patterning in *Arabidopsis*? *Curr Opin Plant Biol*, 2009, 12: 587-92
- [5] Vranova E, Coman D, Grusissem W. Structure and dynamics of the isoprenoid pathway network. *Mol Plant*, 2012, 5: 318-33
- [6] Kroymann J. Natural diversity and adaptation in plant secondary metabolism. *Curr Opin Plant Biol*, 2011, 14: 246-51
- [7] Wang LJ, Fang X, Yang C, et al. Biosynthesis and regulation of secondary terpenoid metabolism in plants. *Sci Sin Vitae*, 2013, 43: 1030-6
- [8] Chen XY, Chen Y, Heinstejn P, et al. Cloning, expression, and characterization of (+)- δ -cadinene synthase: a catalyst for cotton phytoalexin biosynthesis. *Arch Biochem Biophys*, 1995, 324: 255-66
- [9] Chen XY, Wang MS, Chen Y, et al. Cloning and heterologous expression of a second (+)- δ -cadinene synthase from *Gossypium arboreum*. *J Nat Prod*, 1996, 59: 944-51
- [10] Meng YL, Jia JW, Liu CJ, et al. Coordinated accumulation of (+)- δ -cadinene synthase mRNAs and gossypol in developing seeds of *Gossypium hirsutum* and a new member of the CAD1 family from *G arboreum*. *J Nat Prod*, 1999, 62: 248-52
- [11] Liang WQ, Tan XP, Chen XY, et al. Isolation of a (+)- δ -cadinene synthase gene *CAD1-A* and analysis of its expression pattern in seedlings of *Gossypium arboreum* L. *Sci Chin: Ser C*, 2000, 43(3): 245-53
- [12] Tan XP, Liang WQ, Liu CJ, et al. Expression pattern of (+)- δ -cadinene synthase genes and biosynthesis of sesquiterpene aldehydes in plants of *Gossypium arboreum* L. *Planta*, 2000, 210: 644-51
- [13] Luo P, Wang YH, Wang GD, et al. Molecular cloning and functional identification of (+)- δ -cadinene-8-hydroxylase, a cytochrome P450 mono-oxygenase (CYP706B1) of cotton sesquiterpene biosynthesis. *Plant J*, 2001, 28: 95-104
- [14] Yang CQ, Lu S, Mao YB, et al. Characterization of two NADPH: Cytochrome P450 reductases from cotton (*Gossypium hirsutum*). *Phytochemistry*, 2010, 71: 27-35
- [15] Liu CJ, Heinstejn P, Chen XY. Expression pattern of genes encoding farnesyl diphosphate synthase and sesquiterpene cyclase in cotton suspension-cultured cells treated with fungal elicitors. *Mol Plant Microbe In*, 1999, 12: 1095-104
- [16] Wang GD, Li QJ, Luo B, et al. *Ex planta* phytoremediation of trichlorophenol and phenolic allelochemicals via an engineered secretory laccase. *Nat Biotechnol*, 2004, 22:

- 893-7
- [17] Yang CQ, Wu XM, Ruan JX, et al. Isolation and characterization of terpene synthases in cotton (*Gossypium hirsutum*). *Phytochemistry*, 2013, 96: 46-56
- [18] Jia JW, Crock J, Lu S, et al. (3R)-linalool synthase from *Artemisia annua* L.: cDNA isolation, characterization, and wound induction. *Arch Biochem Biophys*, 1999, 372: 143-9
- [19] Lu S, Xu R, Jia JW, et al. Cloning and functional characterization of a β -pinene synthase from *Artemisia annua* that shows a circadian pattern of expression. *Plant Physiol*, 2002, 130: 477-86
- [20] Cai Y, Jia JW, Crock J, et al. A cDNA clone for β -caryophyllene synthase from *Artemisia annua*. *Phytochemistry*, 2002, 61: 523-9
- [21] Li JX, Fang X, Zhao Q, et al. Rational engineering of plasticity residues of sesquiterpene synthases from *Artemisia annua*: product specificity and catalytic efficiency. *Biochem J*, 2013, 451: 417-26
- [22] Cheng AX, Xiang CY, Li JX, et al. The rice (E)- β -caryophyllene synthase (OsTPS3) accounts for the major inducible volatile sesquiterpenes. *Phytochemistry*, 2007, 68: 1632-41
- [23] Xu YH, Wang JW, Wang S, et al. Characterization of GaWRKY1, a cotton transcription factor that regulates the sesquiterpene synthase gene (+)- δ -cadinene synthase-A. *Plant Physiol*, 2004, 135: 507-15
- [24] Yu ZX, Li JX, Yang CQ, et al. The jasmonate-responsive AP2/ERF transcription factors AaERF1 and AaERF2 positively regulate artemisinin biosynthesis in *Artemisia annua* L. *Mol Plant*, 2012, 5: 353-65
- [25] Hong GJ, Xue XY, Mao YB, et al. *Arabidopsis* MYC2 interacts with DELLA proteins in regulating sesquiterpene synthase gene expression. *Plant Cell*, 2012, 24: 2635-48
- [26] Yu ZX, Wang LJ, Zhao B, et al. Progressive regulation of sesquiterpene biosynthesis in *Arabidopsis* and Patchouli (*Pogostemon cablin*) by the miR156-targeted SPL transcription factors. *Mol Plant*, 2014, doi:10.1093/mp/ssu127
- [27] Ishida T, Kurata T, Okada K, et al. A genetic regulatory network in the development of trichomes and root hairs. *Annu Rev Plant Biol*, 2008, 59: 365-86
- [28] Guan XY, Yu N, Shangguan XX, et al. *Arabidopsis* trichome research sheds light on cotton fiber development mechanisms. *Chn Sci Bull*, 2007, 52: 1734-41
- [29] Gou JY, Wang LJ, Chen SP, et al. Gene expression and metabolite profiles of cotton fiber during cell elongation and secondary cell wall synthesis. *Cell Res*, 2007, 17: 422-34
- [30] Shan CM, Shangguan XX, Zhao B, et al. Control of cotton fibre elongation by a homeodomain transcription factor GhHOX3. *Nat Commun*, 2014, 5: 5519
- [31] Walford SA, Wu Y, Llewellyn DJ, et al. GhMYB25-like: a key factor in early cotton fibre development. *Plant J*, 2011, 65: 785-97
- [32] Wang S, Wang JW, Yu N, et al. Control of plant trichome development by a cotton fiber MYB gene. *Plant Cell*, 2004, 16: 2323-34
- [33] Shangguan XX, Xu B, Yu ZX, et al. Promoter of a cotton fibre MYB gene functional in trichomes of *Arabidopsis* and glandular trichomes of tobacco. *J Exp Bot*, 2008, 59: 3533-42
- [34] Yu N, Cai WJ, Wang SC, et al. Temporal control of trichome distribution by microRNA156-targeted SPL genes in *Arabidopsis thaliana*. *Plant Cell*, 2010, 22: 2322-35
- [35] Xue XY, Zhao B, Chao LM, et al. Interaction between two timing microRNAs controls trichome distribution in *Arabidopsis*. *PLoS Genet*, 2014, 10: e1004266
- [36] Ma ZX, Hu XP, Cai WJ, et al. *Arabidopsis* miR171-targeted scarecrow-like proteins bind to GT cis-elements and mediate gibberellin-regulated chlorophyll biosynthesis under light conditions. *PLoS Genet*, 2014, 10: e1004519
- [37] Grayer RJ, Kokubun T. Plant-fungal interactions, the search for phytoalexins and other antifungal compounds from higher plants. *Phytochemistry*, 2001, 56: 253-63
- [38] Howe GA, Jander G. Plant immunity to insect herbivores. *Annu Rev Plant Biol*, 2008, 59: 41-66
- [39] Schuler MA. P450s in plant-insect interactions. *Biochim Biophys Acta*, 2011, 1814: 36-45
- [40] Mao YB, Cai WJ, Wang JW, et al. Silencing a cotton bollworm P450 monooxygenase gene by plant-mediated RNAi impairs larval tolerance of gossypol. *Nat Biotechnol*, 2007, 25: 1307-13
- [41] Tao XY, Xue XY, Huang YP, et al. Gossypol-enhanced P450 gene pool contributes to cotton bollworm tolerance to a pyrethroid insecticide. *Mol Ecol*, 2012, 21: 4371-85
- [42] Xue XY, Mao YB, Tao XY, et al. New approaches to agricultural insect pest control based on RNA interference. *Adv Insect Physiol*, 2012, 42: 73-117
- [43] Zha WJ, Peng XX, Chen RZ, et al. Knockdown of midgut genes by dsRNA-transgenic plant-mediated RNA interference in the hemipteran insect *Nilaparvata lugens*. *PLoS One*, 2011, 6: e20504
- [44] Pitino M, Coleman AD, Maffei ME, et al. Silencing of aphid genes by dsRNA feeding from plants. *PLoS One*, 2011, 6: e25709
- [45] Mao YB, Tao XY, Xue XY, et al. Cotton plants expressing CYP6AE14 double-stranded RNA show enhanced resistance to bollworms. *Transgenic Res*, 2011, 20: 665-73
- [46] Mao YB, Xue XY, Tao XY, et al. Cysteine protease enhances plant-mediated bollworm RNA interference. *Plant Mol Biol*, 2013, 83: 119-29
- [47] Jakubiec A, Yang SW, Chua NH. *Arabidopsis* DRB4 protein in antiviral defense against turnip yellow mosaic virus infection. *Plant J*, 2012, 69: 14-25
- [48] Pantaleo V. Plant RNA silencing in viral defence. *Adv Exp Med Biol*, 2011, 722: 39-58
- [49] Panwar V, McCallum B, Bakkeren G. Host-induced gene silencing of wheat leaf rust fungus *puccinia triticina* pathogenicity genes mediated by the *barley stripe mosaic virus*. *Plant Mol Biol*, 2013, 81: 595-608
- [50] Alakonya A, Kumar R, Koenig D, et al. Interspecific RNA interference of SHOOT MERISTEMLESS-like disrupts *Cuscuta pentagona* plant parasitism. *Plant Cell*, 2012, 24: 3153-66