

SEÑALES EN LA INTERACCIÓN PLANTA INSECTO

G. Camarena Gutiérrez

Unidad de Morfología y Función, FES Iztacala. Av. De los Barrios Núm. 1,
los Reyes Iztacala. C. P. 54090. Tlalnepantla, Estado de México. MÉXICO.
Correo-e: datura@servidor.unam.mx

RESUMEN

Las plantas requieren un amplio rango de mecanismos de defensa para combatir efectivamente la invasión por microbios patógenos o el ataque por insectos herbívoros. Estos mecanismos incluyen barreras físicas y químicas preexistentes, también como respuestas de defensa inducibles activadas por la infección de patógeno o la herbivoría por insectos. Una acción concertada de estas actividades defensivas activa ayudas para minimizar el daño causado por el atacante. Además de las defensas locales, las plantas poseen varios mecanismos de defensa que establecen una capacidad defensiva realzada en partes distantes del sitio primario de ataque, protegiéndola sistémicamente contra un ataque posterior. Sin embargo, se sabe muy poco de cómo las plantas integran señales generadas por diferentes inductores de resistencia en respuestas específicas de defensa.

PALABRAS CLAVE: herbivoría, señales de heridas, sistemina.

SIGNALS IN PLANT-INSECT INTERACTION

SUMMARY

Plants require a broad range of defense mechanisms to effectively combat invasion by microbial pathogens or attack by herbivorous insects. These mechanisms include pre-existing physical and chemical barriers, as well as inducible defense responses that become activated upon pathogen infection or insect herbivory. A concerted action of these defensive activities helps the plant to minimize damage caused by the attacker. In addition to localized defenses, plants possess various inducible defense mechanisms that establish an enhanced defensive capacity in plant parts distant from the site of primary attack, thereby protecting the plant systemically against subsequent invasion. However, so far little is known about how plants integrate signals generated by different inducers of resistance into specific defense responses.

KEY WORDS: herbivory, wound signaling, jasmonic acid, sistemin.

INTRODUCCIÓN

Por medio de una serie de adaptaciones, las plantas han evolucionado hasta ser los organismos dominantes en nuestro planeta, de las que dependemos la mayoría de las especies. En su hábitat natural, las plantas reciben diferentes estímulos bióticos y abióticos simultáneamente, a los que responden. Las plantas terrestres son la fuente de alimento para una cantidad estimada en más de un millón de especies de insectos de diferentes grupos taxonómicos, que usan varias estrategias de alimentación para obtener los nutrientes en cada parte de la planta. Aproximadamente dos tercios de todas las especies de insectos herbívoros se alimentan de hojas; los escarabajos (coleópteros) y las orugas (lepidópteros) causan daño con sus partes bucales desarrolladas para masticar; los herbívoros que perforan y succionan, utilizan estructuras tubulares para succionar el

líquido contenido en células laceradas, mientras que los insectos minadores se desarrollan y alimentan en el tejido suave entre las capas de células de la epidermis; los áfidos, moscas blancas, y otros hemípteros insertan estiletes especializados entre las células para establecer un sitio de alimentación en el floema. En cada una de estas interacciones tanto el insecto como la planta, reciben y envían señales químicas que determinan el éxito de la interacción. Por un lado, los quimiorreceptores en las partes bucales, antenas y tarsos del insecto, miden la disponibilidad de la planta como una fuente de alimento. Por otra parte, las células de la planta reconocen y responden al movimiento del insecto y las heridas producidas durante la alimentación y los compuestos en las secreciones orales del insecto. En contraste al ataque de microorganismos patógenos, el ataque de los herbívoros produce heridas, por lo que el

reconocimiento del ataque de herbívoros implica modificaciones en la respuesta a las heridas (Baldwin *et al.*, 2001).

Ante la mordedura de un insecto las plantas han desarrollado estrategias mecánicas para restringir el acceso a las partes donde se encuentran concentrados los nutrientes que la planta utiliza para su metabolismo y crecimiento. Conjuntos complejos de señales modulan las respuestas, ya sea dentro de una planta dada en respuesta a diferentes herbívoros o en diferentes especies de plantas respondiendo a herbívoros similares.

Cuando sucede un daño en el tejido de la planta, no existe la posibilidad de movilizar células para sanar las heridas, como en el caso de los mamíferos. Sin embargo, las plantas también han desarrollado estrategias bioquímicas para resistir a los predadores; la principal es que han desarrollado la habilidad para que cada célula pueda ser competente para activar respuestas de defensa. El daño mecánico que sufren las plantas puede ser de tipo abiótico, como la ruptura de las hojas por granizo o por el viento; o de tipo biótico como la mordedura por un insecto; en cualquier caso se activan un conjunto de respuestas que incluyen la activación de genes, llamados genes WR, que responden a las heridas. Algunos de estos genes pueden tener funciones defensivas contra organismos que se alimentan de la planta o que entran a través de las heridas, mientras que otros genes tienen una función relacionada a sanar las heridas (Bowles, 1990). Las heridas inducen respuestas dirigidas a sanar los tejidos lesionados y para activar procesos de defensa que prevengan daños posteriores. Después que sucedió una lesión en los tejidos de la planta, algunas respuestas inducidas tardan desde algunos minutos hasta varias horas para manifestarse; el proceso de respuesta incluye la generación o liberación, percepción, y transducción de señales específicas que después activan los genes de defensa relacionados a las heridas (WR). Los genes WR dirigen la síntesis de proteínas que pueden participar en alguna de las siguientes funciones:

- i) Reparación del tejido de la planta dañado.
- ii) Producción de sustancias que inhiben el crecimiento del insecto herbívoro, es decir, toxinas o bien moléculas que disminuyen la digestión del tejido de la planta.
- iii) Activan vías metabólicas de señales de heridas.
- iv) Ajustando el metabolismo de la planta a las demandas nutricionales impuestas.

Un daño localizado activa mecanismos de defensa a través de la planta tanto en el tejido dañado directamente, lo que es una respuesta local; como en áreas no dañadas, lo que es una respuesta sistémica. Las respuestas locales y sistémicas, activadas por heridas, incluyen cambios metabólicos e inducción de expresión de genes, pero sólo

los tejidos dañados sufren desórdenes severos de las estructuras celulares, asociados con la liberación de materiales almacenados, y pérdidas drásticas de agua. El objetivo de esta revisión es hacer un resumen del estado actual del conocimiento en la interacción planta insecto, y se mencionan resultados de la biología molecular que ha abierto nuevos caminos para entender esta interacción.

HERIDA MECÁNICA VS. HERBIVORÍA

Si bien toda la herbivoría produce daño en el tejido de la planta, la ruptura del tejido *per se* no siempre es un indicador confiable del ataque de insectos. Por lo tanto, para evitar el gasto de recursos de defensa, las plantas deben diferenciar entre la alimentación del insecto y el daño mecánico simple, como el que causa el viento en condiciones naturales. Durante la herbivoría suceden cambios en la expresión de genes después de la síntesis inducida de proteínas y la mayoría de metabolitos secundarios de defensa. Experimentos donde se utilizó la tecnología molecular llamada microarreglos en varias especies de plantas, incluyendo *Arabidopsis thaliana* (*Arabidopsis*) (De Vos *et al.*, 2005), *Nicotiana attenuata* (tabaco coyote) (Voelckel *et al.*, 2004), *Populus trichocarpa* x *Populus deltoides* (Major y Constabel, 2006), compararon los patrones de expresión de genes inducidos por heridas mecánicas contra las que son inducidas por la alimentación del insecto o herbivoría simulada. Los datos indican que un conjunto de genes es similar, pero también hay respuestas de transcripción que parecen ser específicas a la alimentación del insecto o la aplicación de secreciones orales del insecto en los sitios de heridas. En algunos casos, estas respuestas han sido asociadas con la producción de compuestos repelentes de insectos como nicotina y glucosinolatos.

Existen dos teorías principales para explicar cómo las plantas discriminan la herbivoría por insectos del daño mecánico. La primera es que las plantas reconocen compuestos de la secreción oral del insecto. Esto se apoya en la identificación de varias sustancias del insecto que inducen respuestas de defensa cuando son aplicadas a heridas artificiales. La segunda es que las plantas pueden diferenciar entre heridas mecánicas y herbivoría a través del uso de mecanismos todavía desconocidos que evalúan la cantidad y calidad de tejido dañado.

Los investigadores han desarrollado enfoques novedosos para diferenciar los efectos del daño mecánico, de los efectos de las secreciones orales. Un enfoque es el estudio del papel de la saliva del insecto en las interacciones planta-lepidóptero. Por ejemplo, retar plantas con orugas en las que la glándula salival es removida; los experimentos realizados con orugas de *Helicoverpa zea* han dado evidencias que las secreciones salivales afectan cualitativamente las respuestas de defensa de la planta a la alimentación de orugas (Musser *et al.*, 2006). Un segundo enfoque es retar plantas con dispositivos mecánicos que

imitan el daño al tejido causado por la alimentación de orugas (Mithofer *et al.*, 2005); estos experimentos han mostrado que las heridas mecánicas en las hojas de *Phaseolus lunatus* inducen un patrón de emisión de compuestos volátiles que es cualitativamente similar al inducido por el ataque de orugas.

Secreciones orales del insecto

Una de las respuestas mejor estudiadas es la forma de defensa indirecta, que consiste en la liberación de compuestos volátiles por la planta que incluye metanol, acetona, formaldehído y otros compuestos carbonilo de cadena corta; además terpenos, fenilpropanoides, benzenoides, y derivados de ácidos grasos. Las hojas liberan continuamente pequeñas cantidades de compuestos volátiles, pero cuando los insectos herbívoros dañan una planta se libera una gran cantidad; la mezcla de volátiles es característica de la planta y la especie del insecto herbívoro. Estudios con varias combinaciones planta-insecto han demostrado que la alimentación del insecto o la aplicación de secreciones orales en los sitios de la herida inducen una respuesta diferente o más intensa de volátiles que solamente el daño mecánico (Arimura *et al.*, 2004 a; Arimura *et al.*, 2004 b). Durante la herbivoría, las plantas pueden beneficiarse de la producción específica de compuestos volátiles que pueden tener diferentes efectos: i) repelentes de herbívoros, ii) atracción de depredadores de insectos herbívoros, iii) eventos de señales dentro de la planta que preparan un tejido no infestado para una inducción más rápida de defensa. Debido a la facilidad relativa de la colección de volátiles y la naturaleza no destructiva del ensayo, la producción inducida de volátiles ha sido utilizada para identificar inductores derivados de insectos de las respuestas de defensa de la planta.

Se identificó un compuesto llamado volicitina, N-17-hidroxiolenolil-L-glutamina, en las secreciones orales de *Spodoptera exigua*, sustancia que tiene la capacidad de inducir la liberación de compuestos volátiles en las plantas de maíz. Este compuesto fue el primer ejemplo de lo que parece ser una amplia producción de ácidos grasos conjugados con aminoácidos (FACs) por larvas de lepidópteros (Halitschke *et al.*, 2001). Se ha utilizado a *N. attenuata* para estudiar el efecto de los FACs, observándose cambios importantes en el metabolismo de la planta; la que produce inhibidores de proteasa, cambia la expresión de genes, y aumenta la producción de nicotina. La unión selectiva de volicitina a preparaciones de membrana plasmática de maíz sugiere la existencia de un receptor FAC. Algunas plantas, incluyendo a *Phaseolus lunatus* y *Gossypium hirsutum* no responden a FACs. Sin embargo, la liberación de volátiles por plantas no sensibles a FACs en respuesta a la alimentación de orugas indica que otros inductores están presentes en las secreciones orales. Una investigación dirigida a inductores de la producción de etileno en *Vigna unguiculata* permitió identificar fragmentos proteolíticos de la subunidad ATP-g sintasa en las

secreciones orales de *Spodoptera frugiperda* (Schmelz *et al.*, 2006). Al menos cuatro de estos péptidos con uniones disulfuro, llamados inceptinas, son producidos a través de la digestión de proteínas de la planta en el intestino de *S. frugiperda* (Schmelz *et al.*, 2007). El mecanismo de acción propuesto para la inceptinas es consistente con la hipótesis guardián de la inmunidad de la planta, pero los receptores de la planta para estos inductores tienen que ser identificados. Las secreciones orales de insectos ortópteros también utilizan un mecanismo independiente de FAC para inducir la liberación de volátiles en las plantas hospedadas de estos insectos. Recientemente, una nueva clase de ácidos grasos sulfatados llamados caeliferinas fueron identificados en las secreciones orales de *Shistocerca americana* y otras especies (Alborn *et al.*, 2007). Como las FACs, las caeliferinas inducen la liberación de terpenos volátiles de plántulas de maíz.

SEÑALES DE LAS HERIDAS

En la familia Solanaceae se han identificado varios componentes involucrados en la transducción de las señales de las heridas. Muchas moléculas con estructuras químicas diferentes participan regulando las señales. Ésta diversidad de moléculas incluye al oligopéptido llamado sistemina (Pearce *et al.*, 1991), oligosacáridos de la pared celular de las células dañadas (Bishop *et al.*, 1981) y moléculas con actividad hormonal como derivados del ácido jasmónico (Farmer y Ryan, 1990), etileno (O'Donnell *et al.*, 1996), y ácido abscísico (Peña-Cortés *et al.*, 1989). Sin embargo no ha sido posible identificar y definir de manera inequívoca la naturaleza de las primeras señales que disparan las respuestas de defensa activadas por las heridas. Frecuentemente, la inducción de respuestas a las heridas requiere la acción simultánea de diferentes señales, y reguladores.

Señales móviles

En las heridas producidas por los insectos se ha identificado un polipéptido de 18 aminoácidos, llamado sistemina. La sistemina es generada a partir de una proteína precursora llamada prosistemina; la sistemina sólo se ha localizado en plantas de solanáceas (Constabel *et al.*, 1998). Para saber si la sistemina se transporta a otras partes de la planta se han realizado injertos, probando que la sistemina se transmite a los injertos no lesionados, regulando la expresión de dos familias de genes (pin) que transcriben inhibidores de proteinasas (PIs) y polifenoloxidasas. La sistemina es activa en concentración de femtomoles por planta. Cuando se aplica sistemina radioactiva directamente a las heridas, después se localiza en el floema de donde se transporta a toda la planta. No se conoce como se transporta desde el floema a las células distales de las hojas para activar los genes de defensa. También se ha propuesto que existen otras señales que se transmiten a larga distancia como son los pulsos eléctricos y ondas hidráulicas; es probable que tanto las señales químicas y físicas participen

en los primeros pasos de señales de heridas y también que ocurran interacciones entre ellas.

RESPUESTAS DE DEFENSA DIRECTA

Ante la mordedura de un insecto, las plantas han desarrollado estrategias mecánicas para restringir el acceso a las partes donde se encuentran concentrados los nutrientes que la planta utiliza para su metabolismo y crecimiento. Durante la coevolución con los insectos, las plantas han desarrollado cutículas, endurecimientos, cubiertas leñosas, o bien tienen tricomas, espinas o púas que pueden oponer resistencia a pequeños herbívoros.

Metabolitos secundarios

Es probable que todas las plantas muestren acumulación constitutiva o inducida de metabolitos secundarios tóxicos como parte de sus defensas contra la herbivoría. Investigaciones con numerosas plantas han revelado una gran variedad de pequeñas moléculas con efectos tóxicos o antinutritivos sobre insectos herbívoros. Muchos terpenoides, la clase más diversa de metabolitos secundarios de plantas (con más de 40,000 estructuras conocidas), juegan un papel en la defensa de las plantas. Los alcaloides, metabolitos secundarios distribuidos ampliamente que son mejor conocidos por sus efectos metabólicos en mamíferos (por ejemplo, cafeína, nicotina, morfina, estricnina y cocaína), probablemente evolucionaron como defensa contra la herbivoría de insectos. Otras clases de metabolitos secundarios de plantas bien estudiados con propiedades defensivas incluyen furanocoumarinas, cardenolidos, taninos, saponinas, glucosinolatos y glicosidos cianogénicos.

Avances recientes en la biología molecular de plantas han permitido identificar las vías de síntesis que permiten la producción de toxinas defensivas. Se han identificado casi todos los genes requeridos para la producción de glucosinolatos, una clase diversa de metabolitos encontrados en la planta modelo *Arabidopsis thaliana* y otras crucíferas. Frey *et al.* (1997) descubrieron los genes que codifican las cinco enzimas involucradas en la biosíntesis de 2,4-dihidroxi-1,4-benzoxazin-3-ona (DIBOA), una toxina encontrada en maíz, trigo y otras gramíneas. Un ejemplo de cómo tal conocimiento de las vías bioquímicas pueden ser aplicados para cambiar la inmunidad de la planta a la herbivoría: *Arabidopsis thaliana* fue manipulada genéticamente introduciéndole tres enzimas de *Sorghum bicolor* para producir glicosidos cianogénicos, aumentando la resistencia a *Phyllotreta memorum* (Tattersall *et al.*, 2001).

Muchos compuestos de defensa son potencialmente tóxicos a las plantas que los producen. Por lo tanto, el almacenamiento de precursores relativamente benignos que son activados por la herbivoría es un tema recurrente en la biología de la planta. Por ejemplo, los sistemas de defensa mencionados en los párrafos anteriores incluyen compuestos

que son secuestrados en plantas y no activados hasta la presencia de herbivoría. DIBOA es almacenado como glucósido-DIBOA inactivo, los glucosinolatos son activados enzimáticamente para producir compuestos tóxicos, y el inhibidor de la respiración cianuro es liberado de glicosidos cianogénicos durante la herbivoría.

La mezcla compleja de toxinas encontradas en muchas plantas puede dar efectos sinérgicos en la defensa contra la herbivoría. Por ejemplo, una combinación de dos monoterpenoides casi es 10 veces más tóxico a *Spodoptera litura* (larva de tabaco). Además de los posibles efectos sinérgicos, la diversidad metabólica en la producción de toxinas por plantas individuales también puede proveer defensa contra múltiples herbívoros con diferentes estilos de alimentación o mecanismos de resistencia. Casi 40 glucosinolatos se han encontrado en *Arabidopsis thaliana* y probablemente más de 100 productos de su rompimiento son formados después de la activación de la enzima mirosinasa. Experimentos con cuatro insectos herbívoros mostraron que el triptófano derivado de indol y metionina derivada de glucosinolatos tiene diferentes efectos sobre hemipteros y lepidópteros.

Proteínas defensivas

La alimentación de los insectos dispara la expresión de proteínas defensivas de la planta que ejercen efecto directo sobre los atacantes. Los inhibidores de proteasas o PIs, que dañan varias clases de proteasas digestivas en el tracto digestivo del insecto, han sido rigurosamente estudiados por su papel en las respuestas activas de defensa. La inhibición de proteasas del intestino por PIs produce deficiencias de aminoácidos que afectan negativamente el crecimiento y desarrollo del herbívoro.

El arsenal de proteínas defensivas de las plantas también incluye enzimas que rompen la fisiología digestiva del insecto y otros aspectos del consumo de alimento. Miembros de la familia de la cisteína-proteasa, por ejemplo, rompen la membrana rica en quitina que protege el epitelio del intestino. Las enzimas oxidativas como la polifenol oxidasa (PPO) y lipoxigenasa (LOX) modifican covalentemente las proteínas de la dieta a través de la producción de *o*-quinonas y peróxidos lipídicos, respectivamente. Es posible que PPO y LOX actúen en segundos durante la masticación del tejido. Esta hipótesis es particularmente pertinente en el caso de plantas como la papa y el tomate que expresan altos niveles de PPO (Thipyapong *et al.*, 1997) y LOX en tricomas glandulares.

El descubrimiento de nuevas proteínas defensivas se ha facilitado por el análisis proteómico del contenido de intestinos y heces de insectos herbívoros. Este enfoque está basado en la premisa que las proteínas defensivas de la planta, son relativamente resistentes a las proteasas del intestino. La aplicación de la proteómica a las larvas

Manduca sexta de tomate, llevaron a la identificación de isoformas de las enzimas arginasa y treonina desaminasa (TD), las cuales degradan a los aminoácidos esenciales arginina y treonina respectivamente, en el intestino de lepidópteros. Las enzimas arginasa y TD parecen ser componentes de un sistema defensivo que funciona para depletar la disponibilidad de aminoácidos en el ambiente alcalino del intestino de lepidópteros, el bajo contenido de proteína (es decir aminoácidos) del tejido de la planta es a menudo un factor limitante para el crecimiento de insectos herbívoros (Mathson, 1980). La habilidad de las isoformas de la treonina desaminasa para degradar treonina es activada durante el ataque del herbívoro por remoción proteolítica del dominio regulador C-terminal de la enzima. Un concepto emergente de éste y otros estudios recientes es que las proteínas de la planta en el intestino del insecto suministran un nivel de regulación en el control total de las defensas inducidas del hospedero. En resumen, las defensas posteriores a la ingesta inducidas por la herida, probablemente involucran interacciones sinérgicas entre PIs, enzimas oxidativas, enzimas que degradan aminoácidos y, metabolitos que ejercen una combinación de efectos tóxicos y antialimenticios. El papel central de proteínas en este proceso amplía el punto de vista tradicional que los metabolitos secundarios son los determinantes principales de la utilización de la planta por insectos.

LITERATURA CITADA

- ALBORN, H. T.; HANSEN, T. V.; JONES, T. H.; BENNETT, D. C.; TUMLINSON, J. H. 2007. Novel disulfoxy fatty acids from the American bird grasshopper *Shistocerca americana* elicitors of plant volatiles. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 104: 12976-81.
- ARIMURA, G.; HUBER, D. P.; BOHLMANN, J. 2004. Forest tent caterpillars (*Malacosoma disstria*) induce local and systemic diurnal emissions of terpenoid volatiles in hybrid poplar (*Populus trichocarpa x deltoides*): cDNA cloning, functional characterization, and patterns of gene expression of (-)-germacrene D synthase, PtdTPS1. *Plant J.* 37: 603-616.
- ARIMURA, G.; OZAWA, R.; KUGIMIYA, S.; TAKABAYASHI, J.; BOHLMANN, J. 2004 a. Herbivore-induced defense response in a model legume. Two-spotted spidermites induce emission of (E)- β -ocimene and transcript accumulation of (E)- β -ocimene synthase in *Lotus japonicus*. *Plant Physiol.* 135: 1976-1983.
- BALDWIN, I. T.; HALITSCHKE, R.; KESSLER, A.; SCHITTKO, U. 2001. Merging molecular and ecological approaches in plant-insect interactions. *Curr. Opin. Plant Biol.* 4: 351-358.
- BISHOP, P. D.; MAKUS, D. J.; PEARCE, G.; RYAN, C. A. 1981. Proteinase inhibitor-inducing factor activity in tomato leaves resides in oligosaccharides enzymically released from cell walls. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 78: 3536-3540.
- BOWLES, D. J. 1990 Defense-related proteins in higher-plants. *Annual review of biochemistry* 59: 873-907.
- CONSTABEL, C.P.; YIP, L.; RYAN C. A. 1998. Pro-systemin from potato, black nightshade and bell pepper: primary structure and biological activity of predicted systemin polypeptides. *Plant Molecular Biology* 36: 55-62.
- DE VOS, M.; VAN OOSTEN, V. R.; VAN POECKE, R. M. P.; VAN PELT, J. A.; POZO, M. J. 2005. Signal signature and transcriptome changes of *Arabidopsis* during pathogen and insect attack. *Mol. Plant-Microbe Interact.* 18: 923-937.
- FARMER, E. E.; RYAN, C. A. 1990. Interplant communication: airborne methyl jasmonate induces synthesis of proteinase inhibitors in plant leaves. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 87, 7713-7716.
- FREY, M.; CHOMET, P.; GLAWISCHNIG, E.; STETTNER, C.; GRUN, S. 1997. Analysis of a chemical plant defense mechanism in grasses. *Science* 277: 696-699.
- HALITSCHKE, R.; SCHITTKO, U.; POHNERT, G.; BOLAND, W.; BALDWIN, I. T. 2001. Molecular interactions between the specialist herbivore *Manduca sexta* (Lepidoptera, Sphingidae) and its natural host *Nicotiana attenuata*. III. Fatty acid-amino acid conjugates in herbivore oral secretions are necessary and sufficient for herbivore-specific plant responses. *Plant Physiol.* 125: 711-717.
- MAJOR, I. T.; CONSTABEL, C. P. 2006. Molecular analysis of poplar defense against herbivory: comparison of wound- and insect elicitor-induced gene expression. *New Phytologist* 172: 617-635.
- MATTSON, W. J. 1980. Herbivory in relation to plant nitrogen-content. *Annu. Rev. Ecol. System.* 11: 119-161.
- MITHOFER, A.; WANNER, G.; BOLAND, W. 2005. Effects of feeding *Spodoptera littoralis* on lima bean leaves. II. Continuous mechanical wounding resembling insect feeding is sufficient to elicit herbivory-related volatile emission. *Plant Physiol.* 137: 1160-1168.
- MUSSER, R. O.; FARMER, E.; PEIFFER, M.; WILLIAMS, S. A.; FELTON, G. W. 2006. Ablation of caterpillar labial salivary glands: technique for determining the role of saliva in insect-plant interactions. *J. Chem. Ecol.* 32:981-992.
- O'DONNELL, P. J.; CALVERT, C.; ATZORN, R.; WASTERNAK, C.; LEYSER, H. M. O.; BOWLES, D. J. 1996. Ethylene as a signal mediating the wound response of tomato plants. *Science* 274, 1914-1917.
- PEARCE, G. D.; STRYDOM, D.; JOHNSON S.; RYAN, C. 1991. A Polypeptide from Tomato Leaves Induces Wound-Inducible Proteinase Inhibitor proteins. *Science* 253: 895-897.
- PEÑA-CORTÉS, H.; SÁNCHEZ-SERRANO, J. J.; MERTENS, R.; WILLMITZER, L. 1989. Abscisic acid is involved in the wound-induced expression of the proteinase inhibitor II gene in potato and tomato. *Proceedings of the National Academy of Sciences, USA* 86, 9851-9855.
- SCHMELZ, E.A.; CARROLL, M. J.; LECLERE, S.; PHIPPS, S. M.; MEREDITH, J. 2006. Fragments of ATP synthase mediate plant perception of insect attack. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA* 103: 8894-8899.
- SCHMELZ, E. A.; LECLERE, S.; CARROLL, M. J.; ALBORN, H. T.; TEAL, P. E. A. 2007. Cowpea (*Vigna unguiculata*) chloroplastic ATP synthase is the source of multiple plant defense elicitors during insect herbivory. *Plant Physiol.* 144:793-805.
- TATTERSALL, D. B.; BAK, S.; JONES, P. R.; OLSEN, C. E.; NIELSEN, J. K. 2001. Resistance to an herbivore through engineered cyanogenic glucoside synthesis. *Science* 293:1826-1828.
- THIPYAPONG, P.; JOEL, D. M.; STEFFENS, J. C. 1997. Differential expression and turnover of the tomato polyphenol oxidase gene family during vegetative and reproductive development. *Plant Physiol.* 113: 707-718.
- VOELCKEL, C.; WEISSER, W. W.; BALDWIN, I. T. 2004. An analysis of plant-aphid interactions by different microarray hybridization strategies. *Mol. Ecol.* 13:3187-3195.