Journal of Wetlands Research
Vol. 20, No. 2, May 2018, pp. 131-135

ISSN 1229-6031 (Print) / ISSN 2384-0056 (Online)
DOI https://doi.org/10.17663/JWR.2018.20.2.131

봉선화 꽃외화밀 생산에 곤충 초식이 미치는 영향

남기정

경상대학교 생물교육과·경상대학교 농업생명과학연구원

Effects of insect herbivory on extrafloral nectar production of *Impatiens balsamina*

Ki-Jung Nam†

Department of Biology Education, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Republic of Korea.
Institute of Agriculture & Life Science, Gyeongsang National University, Jinju 52828, Republic of Korea.
(Received : 27 April 2018, Revised: 03 May 2018, Accepted: 03 May 2018)

요 약

식물이 생산하는 꽃외화밀(extrafloral nectar)은 주로 단당류, 이당류로 구성되어 있는 액체로서, 개미나 기생벌 등 초식곤충의 천적을 유인하는 식물의 간접 방어 수단으로 알려져 있다. 본 연구는 봉선화를 이용하여 봉선화 꽃외화밀의 생산이 곤충의 초식에 의해 어떻게 영향을 받는지 알아보고자 시도하였다. 실험은 곤충 초식 방식 두 가지 (잎을 씹어먹는 타입과 체관 액체를 빨아먹는 타입)를 인위적으로 처리하기 위해, 1) 봉선화 잎을 기계적으로 손상시키는 방법 (simulated herbivory), 2) 봉선화 잎을 기계적으로 손상시킨 후 자스몬산 그리고 나방 애벌레 타액이 섞인 토사물(regurgitate)의 두가지 유도물질(elicitor)을 잎에 처리하는 방법 (simulated herbivory + elicitor application), 3) 초식곤충인 진딧물을 봉선화 잎에 인위적으로 감염시키는 방법 (aphid feeding) 등 총 3가지 방법으로 식물을 처리하고, 이후 나타나는 봉선화의 꽃외화밀 생산량의 변화를 관찰하였다. 실험 결과, 봉선화 꽃외화밀의 생산은 기계적 손상, 기계적 손상+유도물질 처리에 영향을 받지 않았다. 이는 봉선화 꽃외화밀의 생산이 나비나 나방 애벌레 등 잎을 씹어먹는 방식으로 섭식하는 곤충의 초식에 의해서는 영향을 받지 않음을 시사한다. 반면에 진딧물 섭식에 의해서 봉선화 꽃외화밀의 생산량이 감소하였는데, 이는 진딧물 등의 체관 내용물을 빨아먹는 방식으로 섭식하는 곤충의 초식에는 봉선화 꽃외화밀의 생산이 부정적인 영향을 받음을 시사한다. 진딧물의 밀도와 꽃외화밀의 생산량 감소와는 상관성을 발견하지 못했는데, 이는 봉선화 잎의 꽃외화밀 생산에 미치는 진딧물의 영향이 광합성 산물의 일부가 진딧물에 의해 소모되기 때문에 생기는 결과라는 증거는 없다는 것을 시사한다.

핵심용어 : 꽃외화밀, 간접방어, 봉선화, 곤충 초식

Abstract

Plants produce extrafloral nectar (EFN), liquid of carbohydrates to protect themselves against various insect herbivores through attracting natural enemy, ants, wasp and parasitoids, so EFN production is well known as one of indirect defense mechanisms. In many plants, EFN production is increased or induced when plants are attacked and damaged by insect feeding, whereas there are some plants whose EFN production is not altered or even decreased upon insect attack. The feeding types (chewing or sap feeding) of insects attacking plants also affect EFN production. The objective of this study was to examine how insect herbivore alters production of extrafloral nectar of *Impatiens balsamina*. Two different types of herbivores, leaf chewing and sap feeding insects, *Spodoptera litura* and *Impatientinum impatiens* respectively, are utilized. Plants were mechanically damaged by making holes on leaves with Jasmonic acid (JA) and regurgitate of *S. litura* added on. Two different densities of aphids were confined on leaves. The results of the study was that mechanical damage and JA or regurgitate addition did not affect EFN production in *I. balsamina*. Aphid feeding, regardless of density treated, decreased EFN production. The results of the study suggest that production of extrafloral nectar of *Impatiens balsamina* can be changed by insect feeding, and the effects of insect feeding can depend on the type of insects.

Key words : Extrafloral nectar, Indirect defense, *Impatiens balsamina*, Insect herbivory

† To whom correspondence should be addressed.
Department of Biology Education, Gyeongsang National University
E-mail: Prin225@gnu.ac.kr

1. 서 론

식물은 곤충들의 섭식으로부터 자신을 보호하기 위한 다양한 방어체계를 가지고 있다. 식물 표면의 왁스층이나 가시 같은 물리적 수단, 혹은 탄닌이나 안토시아닌 같은 화학적 수단을 이용하여 곤충이 자신을 선호하지 않도록 유도하거나, 공격하는 곤충의 생존, 번식의 성공도를 낮추는 방법은 직접적인 방어수단에 해당한다 (War et al. 2012). 반면 휘발물질을 이용하여 자신을 공격하는 곤충의 천적을 불러 모으거나, 천적들에게 음식이나 서식처 등을 일종의 대가로 제공하여 반대 급부로 자신을 보호하도록 유도하는 것은 간접적인 방어 수단에 해당한다 (Aljbory and Chen 2016).

식물의 화밀 (nectar)은 주로 단당류나 이당류로 구성된 액체로 식물체 지상부 어디에서든 발견될 수 있다. 꽃의 화밀 (floral nectar)은 수분자와의 상리공생의 관점에서 식물-곤충간의 이로운 상호작용을 촉진시키는 역할을 하는 것으로 여겨진다 (Pyke 1991). 반면 꽃 이외의 장소에서 생산되는 화밀 (extrafloral nectar)는 개미나 기생벌 등을 유인하는 유인책으로 식물의 간접 방어에 있어서 중요한 역할을 하는 것으로 파악되고 있다 (Marazzi et al. 2013)

많은 식물 종, 예로 콩과, 버드나무과, 장미과 식물 등,에서 꽃외화밀이 곤충의 섭식에 의해 유도되는 것으로 알려져 있는데, 유도되는 양상이 다양한 요인들 (가령 물리적 손상인가 혹은 곤충이 가지고 있는 유도물질에 의한 것인가나, 또는 어떤곤충이 공격했는가와 같은) 에 의해 영향받는다는 것이 최근 들어 증명되고 있다 (Heil 2015). 그러나 일부 종에서는 꽃외화밀의 생산이 곤충의 공격에 영향을 받지 않는다는 것 역시 보고되어 있다 (Escalante-Perez et al. 2012).

봉선화 속 (Impatiens)은 850~1000개의 종을 포함하는 큰 그룹으로, 열대 및 북반구 전역에 걸쳐 분포하고 있다. 봉선화 속 식물의 꽃외화밀선 (extrafloral nectaries)은 잎자루와 잎 가장자리에 존재하는데, 많은 종을 포함하는 큰 그룹임에도 불구하고 꽃외화밀 생산 패턴 및 곤충과의 상호작용에 관해서는 많이 알려져 있지 않다. 일부 종, 예로 *Impatiens sultani*의 경우, 꽃외화밀 생산이 초식을 가정한 인위적 손상에 영향을 받지 않음이 알려져 있다 (Smith at al. 1991).

그리하여, 본 연구는 다음의 질문의 답을 찾기 위해 수행되었다.

1) 봉선화의 꽃외화밀 생산은 유도 (induced)되는가. 즉 잎이 기계적으로 손상을 입거나 곤충에 의해 기계적으로 섭식될 때 꽃외화밀의 생산량이 변화하는가. 만일 변화한다면, 기계적인 손상 만으로 충분한가 아니면 기타 유도물질 (elicitor)가 필요한가.

2) 봉선화의 꽃외화밀 생산은 식물체에 기계적인 손상을 거의 주지 않는 섭식습성을 가진 곤충 (진딧물류)의 섭식에도 반응하는가.

2. 재료 및 방법

봉선화 종자 (㈜다농)는 페트리디쉬 속 젖은 필터페이퍼 (Watman No. 22) 위에서 발아시킨 뒤 (24℃에서 보통 4-5일 후에는 뿌리가 2-3cm 정도 자란다), 원예용 상토 (㈜농우바이오)를 채운 화분(지름 10cm)에 옮겨 심었다. 옮겨 심은 화분은 실내 (온도 23±1℃, 습도 32±5%, 빛 FFPD 132.5 umol/m^2/s, 16시간 형광등이 켜지고, 8시간 꺼지게 셋팅하였음)에 설치된 생장상에 두고, 봉선화 어린 식물이 마디가 2-3개가 될 때까지 (약 4주) 키웠다. 키우는 동안에는 식물이 건조해지지 않도록 매일 충분히 물을 주었다.

실험에 사용한 봉선화수염진딧물 (*Impatientinum impatiens*)은 2017년 가을 창원 내정병산 처진물봉선 (Impatiens koreana)군락에서 채집한 개체들로부터 계대 사육한 것으로, 여러 클론이 섞인 그대로 유지하였다. 계대 사육은 온도 24±1℃ 인 실내공간에서 곤충 케이지 안에서 사육하였다. 실험에 쓰인 나방의 토사물 (regurgitate)을 얻기 위해, 국립농업과학원 (전북 완주)에서 분양 받은 담배거세미나방 (*Spodoptera litura*) 4령 유충 30마리를 실내에서 페트리 디쉬에 두고 봉선화 잎을 먹이로 키웠다. 애벌레 머리부분을 부드럽게 누르면 녹색의 토사물을 페트리 디쉬에 쏘거나 입에 가볍게 토해내므로, 미리 준비한 5ul 미세유리관 (microcapillary)을 이용하여 토사물을 채취하여 1.7 ml e-tube에 옮겨넣었다. 채취는 애벌레가 번데기가 되기 직전 더 이상 먹이를 먹지 않을 때까지 실시하였다. 채취기간 동안 매일 오후에 채취하였고, 애벌레 30마리의 토사물을 섞어 하나의 튜브에 넣은 후 -40℃ 냉동고에 보관하였다. 채취 후에는 새로운 잎으로 갈아주었다.

봉선화 식물의 마디가 2-3개가 되었을 때 실험을 실시하였다. 처리구를 (1) 기계적손상 (mechanical damage), (2) 기계적 손상 + 자스몬산 처리 (mechanical damage + Jamonic acid), (3) 기계적 손상 + 나방의 침토사물 처리 (mechanical damage+ regurgitate), (4) 저밀도 상태의 진딧물 처리 (aphids in low density), 5) 고밀도 상태의 진딧물 처리 (aphid in high density)로 하였고, 아무처리도 하지 않는 것을 대조구로 하였다. 처리구 (1)은 잎 3개를 임의로 선택하여 1홀 손 펀칭 머신을 이용하여 잎 기저부에서부터 잎 끝까지 일정한 간격으로 9개의 구멍을 뚫었다. 처리구 (2)는 처리구 (1)처럼 구멍을 뚫은 후 1mM 자스몬산을 뚫어진 구멍 언저리 겉으로 들어난 잎 안쪽 부분을 파이펫으로 골고루 묻혀주었다. 처리구 (3)은 처리구 (1)과 같이 한 후 미리 준비한 담배거세미나방 토사물 100ul를 처리구 (2)처럼 뚫어진 구멍 언저리에 묻혀 주었다. 처리구 (4)는 잎 3개를 임의로 선택하여 봉선화수염진딧물 3령 유충 5마리를 잎 뒷면에 두고 클립케이지를 덮어 달아나지 않게 하였다. 처리구 (5)는 잎 3개를 임의로 선택하여 봉선화수염진딧물 3령 유충 25마리를 잎 뒷면에 두고 클립케이지를 덮어 달아나지 않게 하였다. 진딧물 성체는 매일 7-8마리의 새끼를 낳기 때문에 진딧물 처리 개체수가 실험 기간 동안 변하지 않게 하기 위해 3령 유충

어린 개체를 이용하였다.

실험에 사용할 봉선화 식물을 실험 시작 약 2시간 전 분무기를 이용하여 물을 뿌려 식물체에 존재하는 꽃외화밀을 모두 제거하였다. 그런 후 잎에 뿌린 물기가 마른 것을 확인한 뒤, 앞에서 기술한 처리를 하였다. 처리 후, 식물은 봉선화 식물을 키운 같은 공간에 두었고, 매일 위치를 무작위로 이동시켜 미환경조건의 영향을 줄이도록 노력하였다.

72시간 후 식물체의 꽃외화밀의 양을 측정하였다. 처리시간 72시간은 *Impatiens*속 식물을 실험재료로 사용한 Smith et al. (1991) 실험을 참고로 하여 정하였다. 봉선화의 꽃외화밀을 100ul 미세유리관을 이용하여 채취하였다. 봉선화 꽃외화밀은 끈적끈적해서 미세유리관으로 채집이 불가능하여, 먼저 미세유리관에 살균한 증류수 6ul을 넣은 후, 꽃외화밀을 6ul에 녹여 넣는 방법으로 채취하였다. 봉선화 꽃외화밀선의 크기가 100ul 미세유리관의 직경보다 작기 때문에 미세유리관 속 6ul 액체 속에 봉선화 꽃외화밀선을 담그는 것이 가능하여, nectary를 손상시키지 않고 꽃외화밀을 액체 속에 녹여 넣는 것이 가능하였다. 식물체 전체를 천천히 꼼꼼히 살펴가면서 가능한 모든 꽃외화밀을 채취하였다. 채취한 꽃외화밀은 1.7 ml e-tube에 넣은 후 -20℃ 냉동고에 보관하였다. 꽃외화밀을 측정한 후, 식물체 잎의 무게를 측정하였다. 진딧물 처리구의 경우, 잎 무게를 측정하기 전 모든 진딧물을 제거하였다.

채취한 꽃외화밀의 양을 측정하기 위해 휴대용굴절계 (Hand-held refractometer for small sample, Bellingham+Stanley, UK)를 이용하였다. 냉동고에 보관한 꽃외화밀을 녹인 후 5ul 미세유리관을 이용하여 2ul를 취한 후 휴대용굴절계를 이용하여 샘플의 브릭스 (Brix) 값 (mass fraction. Gram sugar / 100g solution)을 구하였다. 튜브에 남아있는 샘플은 100ul 미세유리관으로 부피를 측정하여 기록하였다. 부피는 전체 미세유리관 길이와 샘플의 길이의 비율로 계산하였다. 굴절계로 구한 값은 Bolton et al. (1979)와 Burquez and Corbet (1991)에서 사용한 방법을 이용하여 gram sugar/ml solution 값으로 변환하였다. 변환한 값과 샘플 전체 부피를 이용하여 샘플 속 총 설탕(sugar)의 양을 구한 후, 식물체 잎 무게 당 값으로 최종 환산하였다.

처리구 간 꽃외화밀 값은 분산분석 (ANOVA) 방법으로 비교하였다. 분산분석 (ANOVA)을 수행하기 전, 모든 값들이 정규분포를 이루는지 샤피로-윌크 (shapiro-wilk) 테스트를 이용하여, 처리구들의 분산값에 차이가 없는지는 라빈 (Levene) 테스트를 이용하여 확인하였다. 로그 변환시킨 값이 다변량분석의 가정 (정규분포, 등분산)을 만족하였으므로 로그변환한 값을 이용하여 통계분석하였다. 모든 통계분석은 R 3.5.0을 이용하였다.

3. 결과 및 고찰

그간의 연구결과들에 의하면 많은 식물들에서 꽃외화밀은 잎의 기계적 손상 만으로도 충분히 유도되는 경우도 많으며 (Wacker and Wunderlin 1999; Holland et al. 2009), 기계적 손상과 함께 자스몬산과 같은 유도물질이 필요하거나 실지 곤충의 섭식이 필요하여 곤충 섭식시 식물에 유입되는 유도물질 (보통 침에 섞여 있는 것으로 생각된다)이 필요한 경우도 있다 (Heil 2001; Heil et al. 2004). 본 연구의 결과, 봉선화의 꽃외화밀의 생산은 다른 많은 식물들에서 관찰된 사실과는 달리, 기계적인 손상에 의해 영향을 받지 않았다. 또한 식물의 방어 체계가 가동되도록 유도하는 유도물질 (elicitor)로 알려져 있는 자스몬산이나, 나방 유충의 침(saliva) 속에 존재하는 것으로 생각되는 유도물질에 의해서도 영향을 받지 않았다. 아카시아나 포플러의 경우 식물 꽃외화밀의 생산이 기계적 손상이나 자스몬산 처리, 그리고 곤충 섭식에 영향을 받지 않음이 알려져 있다 (Heil et al. 2004; Bixenmann et al. 2011; Escalante-Perez et al. 2012). 또한 봉선화 속 식물인 *Impatiens sultani*에서 관찰한 결과와도 유사하여, Smith et al. (1991)에서 인위적인 기계적 손상 처리는 식물의 꽃외화밀 생산량에는 영향을 미치지 않은 반면, 꽃외화밀의 아미노산의 농도를 변화시킴을 관찰하였다.

꽃외화밀의 조성의 변화, 특히 아미노산의 조성 변화가 어떤 생태적인 결과를 미치게 되는지는 아직 연구가 많이 되어 있지 않은데, 주로 분석과 관련된 현실적이 어려움 때문이다. 꽃외화밀에 포함된 아미노산의 양은 아주 적어서 일반적인 HPLC 방법이나 LC-MS/MS 방법으로도 분석이

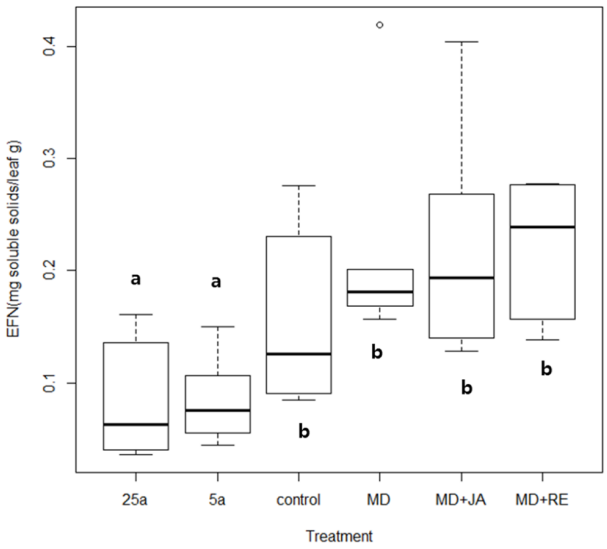

Fig.1. Extrafloral nectar(EFN)(mg soluble solids/leaf g) secreted from *Impatiens balsamina* plants at 72 h after experimental manipulations. 25a: 25 aphid(*Impatientinum impatiens*) individuals in a clip cage on each of three leaves; 5a; 5 aphid individuals in a clip cage on each of three leaves; control: no manipulation; MD: mechanical damage (9 holes on each of three leaves); MD+JA; mechanical damage (9 holes on each of three leaves) plus 1mM Jasmonic acid solution(in water) treated around the wholes; MD+RE; mechanical damage (9 holes on each of three leaves) plus regurgitate of *Spodoptera litura* caterpillars.

쉽지 않다. 본 연구에서도 두 가지 방법 모두 시도하였으나 의미 있는 결과를 얻어내지 못하였다. 봉선화 꽃외화밀의 당류의 조성은 단순하여 설탕이 전체의 99% 이상으로 다른 당류, 포도당이나 과당은 분석 한계 이하로 분석되지 않았다.

본 연구에서, 봉선화의 꽃외화밀 생산은 체관 내용물을 빨아 먹는 섭식패턴을 가진 진딧물의 초식에 의해 감소하였다 (Fig.1). 진딧물의 초식이 꽃외화밀 생산에 어떻게 영향을 미치는지에 관해서는 변화가 없거나 (Carrillo et al. 2012), 증가하거나 (Wacker and Wunderlin 1999; Wacker et al. 2001; Pulice and Packer 2008), 감소하거나 (Samocha and Sternberg 2010; Yoshida et al. 2017) 하는 등 다양한 결과들이 보고되어, 식물 종 및 품종에 따라서, 그리고 상호작용하는 진딧물 종에 따라서 결과가 달라질 수 있는 것으로 생각되고 있다. Yoshida et al. (2017)는 실험에서 처리하는 진딧물의 밀도에 의해서도 결과가 달라질 수 있다고 추론하였는데, 본 실험에서는 봉선화수염 진딧물의 밀도가 꽃외화밀의 생산에 차이를 만들지 않았고 (저밀도와 고밀도 처리에서 꽃외화밀의 생산량이 유사하게 감소하였다) (Fig.1), 충분히 적은 밀도에서도 화밀 생산이 감소하였기 때문에 진딧물의 밀도가 어느 이상 되어야 한다는 일종의 역치값 같은 것은 존재하지 않는 것으로 생각된다. 식물의 꽃외화밀은 주로 잎의 광합성 산물로부터 유래하는 것으로 생각되며 (Cynthia et al. 2014), 진딧물의 경우 광합성 산물이 이동하는 체관을 주 먹이 섭취 장소로 이용하기 때문에, 진딧물 종에 따라 크기가 다르고 섭식하는 체관 내용물의 양에 차이가 있을 것으로 생각되어 식물 종이 같더라도 식물을 섭식하는 진딧물 종에 따라 꽃외화밀 생산에 미치는 영향이 달라질 가능성은 존재한다고 사료된다. 다음 연구에서는 이 부분을 좀더 세밀히 살펴볼 것이다.

많은 연구들에서 식물 꽃외화밀의 생태적 기능에 관한 많은 연구들은 꽃외화밀이 간접방어에 있어서 중요한 수단임을 증명하고 있다. 예로, 식물의 꽃외화밀 생산은 곤충의 직접적인 공격 뿐만 아니라 공격받은 식물에서부터 주변으로 흘러나오는 휘발물질에 의한 공격 경고 신호에조차 반응하여 변화됨이 관찰되었다 (Choh and Takabayashi 2006). 또한 꽃외화밀의 생산은 복잡한 생태학적 관계망에 의해 영향을 받음이 알려져 있다. 예로, 식물 지하부가 초식자에 의해 공격받는 경우 지상부의 꽃외화밀 생산이 감소함이 보고되었다 (Huang et al. 2015). 꽃외화밀의 생산과정 그 자체도 생각보다 다소 복잡한 과정이다. 가령, 초식자의 아이덴티티 보다는 섭식으로 인해 잃은 잎의 넓이에 의해 꽃외화밀의 생산이 결정되는 예도 있으며 (Xu et al. 2014), 곤충에 의해 공격을 받을 시 꽃외화밀선(nectary)의 수만 증가하고 꽃외화밀의 양은 변화가 없는 경우도 보고되었다 (Mondor et al. 2013).

4. 결 론

식물은 직 간접적인 다양한 방법으로 자신을 보호하고 있으며, 꽃외화밀 생산은 그 중 대표적인 간접방어전략으로 알려져 있다. 꽃외화밀 생산은 에너지가 소모되기 때문에 유도방어 수단으로 이용되는것으로 생각되며 많은 식물들에서 실지로 실험적으로 필요시에 유도됨이 보고되어 있다. 그러나 꽃외화밀의 생산은 여러 다른 요인들, 가령 공격받은 식물의 기관이나 발달 정도, 공격하는 곤충의 아이덴티티 등에 의해서도 영향을 받기 때문에 꽃외화밀 생산과정 및 생산의 결과는 좀더 복잡한 문맥에 의존하는 과정이 된다. 봉선화 속 식물은 꽃화밀과 (혹은) 꽃외화밀을 분비하며 수분과정과 적에 대한 방어과정을 화밀에 의존하고 있으므로, 식물의 화밀 생산에 관련된 생태학적 메커니즘을 이해하는 일은 식물의 적응도 및 생존전략을 이해하는 중요한 방법이 될 것이다. 본 실험의 결과는 봉선화 꽃외화밀 생산은 초식 곤충의 타입에 따라 다르게 영향을 받으며, 특히 진딧물과 같은 섭식패턴을 가진 곤충의 초식에 의해 꽃외화밀의 생산량이 감소할 수 있음을 시사한다. 이러한 생산량의 변화가 생태학적으로 의미하는 바는 더 자세히 연구가 되어야 할 부분이다. 일반적으로 꽃외화밀이 유혹의 대상이 개미이며, 개미는 진딧물과도 공생하는 관계를 형성하기 때문에, 꽃외화밀과 개미 그리고 진딧물과의 상호관계는 다소 복잡할 수 있다. 앞으로의 실험은 이 부분을 다룰 계획이다.

사 사

본 연구는 2014년도 경상대학교 신임교원 연구기반조성 연구비 지원으로 수행되었음 (2014-04-016).

References

Aljbory, Z and Chen, MS (2016). Indirect plant defense against insect herbivores: a review. *Insect Science*, 25(1), pp. 2-23. [DOI: 10.1111/1744-7917.12436]

Bixenmann, RJ, Coley, PD and Kursar, TA (2011). Is extrafloral nectar production induced by herbivores or ants in a tropical facultative ant-plant mutualism? *Oecologia*, 165(2), pp. 417-425. [DOI: 10.1007/s00442-010-1787-x]

Bolton, AB, Bolten, AB, Feinsinger, P, Baker, HG, Baker, I and Freisinger, P (1979). On the calculation of sugar concentration in flower nectar. *Oecologia*, 41(3), pp. 301-304. [DOI: 10.1007/bf00377434]

Burquez, A and Corbet, SA (1991). Do Flowers Reabsorb Nectar? *Functional Ecology*, 5(3), pp. 369-379. [DOI: 10.2307/2389808]

Carrillo, J, Wang, Y, Ding, J and Siemann, E (2012). Induction of extrafloral nectar depends on herbivore type in invasive and native Chinese tallow seedlings. *Basic and Applied Ecology*, 13(5), pp. 449-457. [DOI: 10.1016/j.baae.2012.

07.006]

Choh, Y and Takabayashi, J (2006). Herbivore-induced extrafloral nectar production in Lima Bean plants enhanced by previous exposure to volatiles from infested conspecifics. *J. of Chemical Ecology*, 32(9), pp. 2073-2077. [DOI: 10.1007/s10886-006-9130-z]

Cynthia, MC, Domancar, OT and Heil, M (2014). Phloem Sugar Flux and Jasmonic Acid-Responsive Cell Wall Invertase Control Extrafloral Nectar Secretion in *Ricinus communis*. *J. of Chemical Ecology*, 40(7), pp. 760-769. [DOI: 10.1007/s10886-014-0476-3]

Escalante-Perez, M, Jaborsky, M, Lautner, S, Fromm, J, Muller, T (2012). Poplar extrafloral nectaries: two types, two strategies of indirect defenses against herbivores. *Plant Physiology*, 159(3), pp. 1176-1191. [DOI: 10.1104/pp.112.196014]

Heil, M (2001). Extrafloral nectar production of the ant-associated plant, *Macaranga tanarius*, is an induced, indirect, defensive response elicited by jasmonic acid. *Proceedings of the National Academy of Science*, 98(3), pp. 1083-1088. [DOI: 10.1073/pnas.031563398]

Heil, M, Greiner, S, Meimberg, H, Kruger, R and Noyer, JL, Heubl, G, Linsenmair, K and Boland, W (2004). Evolutionary change from induced to constitutive expression of an indirect plant resistance. *Nature*, 430(6996), pp. 205-208. [DOI: 10.1038/nature02703]

Heil, M (2015). Extrafloral Nectar at the Plant-Insect Interface: A Spotlight on Chemical Ecology, Phenotypic Plasticity, and Food Webs. *Annual Review of Entomology*, 60, pp. 213-32. [DOI: 10.1146/annurev-ento-010814-020753]

Holland, JN, Chamberlain, SA and Horn, KC (2009). Optimal defence theory predicts investment in extrafloral nectar resources in an ant-plant mutualism. *Journal of Ecology*, 97, pp. 89-96. [DOI: 10.1111/j.1365-2745.2008.01446.x]

Huang, W, Siemann, E, Carrillo, J and Ding, J (2015). Below-ground herbivory limits induction of extrafloral nectar by above-ground herbivores. *Annals of Botany*, 115(5), pp. 841-846. [DOI: 10.1093/aob/mcv011]

Marazzi, B, Bronstein, J and Koptur, S (2013). The diversity, ecology and evolution of extrafloral nectaries: current perspective and future challenges. *Annals of Botany*, 11(6), pp. 1243-1250. [DOI: 10.1093/aob/mct109]

Mondor, EB, Keiser, CN, Pendarvis, DE and Vaughn, MN (2013). Broad bean cultivars increase extrafloral nectary numbers, but not extrafloral nectar, in response to leaf damage. Open Journal of Ecology, 3(1), pp. 59-65. [DOI: 10.4236/oje.2013.31008]

Ness, J (2003). *Catalpa bignonioides* alters extrafloral nectar production after herbivory and attracts ant bodyguards. *Oecologia*, 134(2), pp. 210-218. [DOI: 10.1007/s00442-002-1110-6]

Pulice, CE and Packer, AA (2008). Simulated herbivory induces extrafloral nectary production in *Prunus avium*. *Functional Ecology*, 22(5), pp. 801-807. [DOI: 10.1111/j.1365-2435.2008.01440.x]

Pyke, GH (1991). What does it cost a plant to produce floral nectar? *Nature*, 350(6313), pp. 58-59. [DOI: 10.1038/350058a0]

Samocha, Y and Sternberg, M (2010). Herbivory by sucking mirid bugs can reduce nectar production in *Asphodelus aestivus Brot*. *Arthropod-Plant Interactions*, 4(3), pp. 153-158. [DOI: 10.1007/s11829-010-9091-6]

Smith, LL, Lanza, J and Smith, GC (1991). Amino acid concentration in extrafloral nectar of *Impatiens sultani* increase after simulated herbivory. *Ecology*, 71(1), pp. 107-115. [DOI: 10.2307/1940251]

Wacker, FL and Wunderlin, R (1999). Induction of cotton extrafloral nectar production in response to herbivory does not require a herbivore-specific elicitor. *Entomologia Experimentalis et Applicata*, 91, 149-154. [DOI: 10.1007/978-94-017-1890-5_18]

Wackers, FL, Zuber, D, Wunderlin, R and Keller, F (2001). The Effect of Herbivory on Temporal and Spatial Dynamics of Foliar Nectar Production in Cotton and Castor. *Annals of Botany*, 87(3), pp. 365-370. [DOI: 10.1006/anbo.2000.1342]

War, AR, Paulraj, MG, Ahmad, T, Buhroo, AA, Hussain, B, Ignacimuthu, S and Sharma, HC (2012). Mechanisms of Plant Defense against Insect Herbivores. *Plant Signaling & Behaviour*, 7(10), pp. 1306-1320. [DOI: 10.4161/psb.21663]

Xu, FF, Chen, J and Husson, J (2014). Leaf area lost, rather than herbivory type, determines the induction of extrafloral nectar secretion in a tropical plant (*Clerodendrum Pilippinum*). *Arthropod-Plant Interactions*, 8(6), pp. 513-518.

Yoshida, T, Kakuta, H and Choh, Y (2017). Pea aphids (*Acyrthosiphon pisum* Harris) reduce secretion of extrafloral nectar in broad bean (*Vicia faba*). *Ecological Entomology*, 43(1), pp. 134-136. [DOI: 10.1111/een.12476]