苗期水稻响应褐飞虱取食的基因差异表达分析*

曹征鸿[1**] 贺 康[1] 徐 乐[1] 汤沈杨[1] 王亚琴[2,3] 李 飞[1***]

（1. 浙江大学昆虫科学研究所，杭州 310058；2. 水稻生物学国家重点实验室，杭州 310058；
3. 浙江大学生物技术研究所，杭州 310058）

摘 要 **【目的】** 褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Stål) 是水稻的重要害虫之一，主要刺吸水稻韧皮部汁液为害，对水稻生产造成严重的产量和经济损失。为研究水稻响应褐飞虱取食的分子机制，对褐飞虱取食 6 h 后的苗期水稻进行转录组测序及基因差异表达分析。**【方法】** 采用 illumina 二代测序技术获得褐飞虱取食前后水稻组织的转录组数据，利用 RSEM 软件进行基因表达定量和 DEseq2 进行差异表达分析；从差异表达基因中随机选取 20 个基因采用荧光定量 PCR 技术进行验证；采用 GeneMerge 软件对差异表达基因进行 KEGG 和 GO 富集分析。**【结果】** 褐飞虱取食后，水稻转录组中的 1 104 个基因出现了差异表达，其中 435 个基因表达上调，669 个基因表达下调。荧光定量 PCR 结果显示，20 个差异表达基因中 18 个基因的表达变化趋势和测序结果一致，证明了转录组分析结果可靠。GO 和 KEGG 富集分析表明，表达上调基因主要与水稻氧化应激、海藻糖合成及次生化合物代谢有关，显著富集在 14 个 KEGG 通路和 30 个 GO 功能分类中；而表达下调基因主要参与水稻纤维素、蛋白质及脂肪酸合成过程，显著富集在 29 个 KEGG 通路和 26 个 GO 功能分类。在差异表达基因中，分别有 61 个转录因子和 13 个水杨酸和茉莉酸信号通路相关基因。**【结论】** 褐飞虱取食激发了水稻的应激反应和保护机制，同时还降低了营养合成的过程，是飞虱为害造成水稻减产的原因之一。本研究初步揭示了苗期水稻响应褐飞虱取食的差异表达基因，为研究水稻-褐飞虱互作机制以及褐飞虱抗性水稻品种培育提供了参考和依据。

关键词 水稻；飞虱；转录组；分子响应

Change in the gene expression of seedling stage rice in response to feeding by the brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål)(Hemiptera: Delphacidae)

CAO Zheng-Hong[1**] HE Kang[1] XU Le[1] TANG Shen-Yang[1] WANG Ya-Qin[2,3] LI Fei[1***]

(1. Institute of Insect Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China; 2. State Key Laboratory of Rice Biology, Hangzhou 310058, China; 3. Institute of Biotechnology, Zhejiang University, Hangzhou 310058, China)

Abstract **[Objectives]** To investigate the molecular mechanisms used by plants in response to attack by the brown planthopper BPH; [*Nilaparvata lugens* (Stål)], a piercing-sucking insect that is now one of the most globally important rice pests. **[Methods]** Transcriptome data of seedling stage rice, with, or without, BPH were obtained using Illumina next-generation sequencing technology. Gene expression levels were obtained using RSEM software and DEseq2 used to analyze differential gene expression. Twenty differentially expressed genes were randomly selected for verification with fluorescent quantitative real-time PCR (qPCR) and GeneMerge software was used to analyze KEGG and GO enrichment of differentially expressed genes. **[Results]** A total of 1 104 differentially expressed genes were identified in rice plants infested by BPH, of which 435 were up-regulated and 669 were down-regulated. Twenty differentially expressed genes were selected for validation with qPCR, among which 18 were consistent with RNA-Seq estimation thereby confirming the reliability of transcriptome analysis. GO and KEGG enrichment analysis show that the up-regulated genes were enriched into 14 KEGG

*资助项目 Supported projects：国家自然科学基金项目（31972354，31701785）

**第一作者 First author，E-mail：3130100574@zju.edu.cn

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：lifei18@zju.edu.cn

收稿日期 Received：2020-05-06；接受日期 Accepted：2020-06-04

pathways and 30 GO terms, that are mainly involved in oxidative stress, trehalose synthesis and secondary metabolism, whereas the down-regulated genes were enriched into 29 KEGG pathways and 26 GO terms that are mainly involved in the synthesis of cellulose, protein and fatty acids. In addition, 61 transcription factors and 13 genes related to the salicylic acid and jasmonic acid pathways were enriched in the differentially expressed genes. **[Conclusion]** Feeding by the BPH stimulates the stress and defense responses of rice plants, and also reduces nutrient synthesis, which suggests a possible impact of BPH on rice yield. These results reveal changes in gene expression in rice plants in response to feeding by BPH, the possible impact of BPH on rice yield, and also provide theorical support for developing rice cultivars resistant to BPH.

Key words rice; *Nilaparvata lugens*; rranscriptome analysis; molecular response

水稻是我国主要粮食作物之一。据国家统计局数据，2018 年全国水稻耕种面积约 3 020 万 hm^2，占我国总耕地面积的 25.8%。长期以来，水稻生产受害虫为害严重，引起了水稻减产和经济损失。其中，褐飞虱是我国和东南亚水稻种植区的主要害虫，通过刺吸水稻取食汁液、产卵破坏水稻组织为害，受害水稻轻则生长发育受损、产量下降，重则稻株死亡形成“火烧苗”（刁跃珲等，2019）。褐飞虱的防治对水稻生产至关重要，研究水稻对褐飞虱取食的分子响应机制对防治褐飞虱如培育褐飞虱抗性水稻品种具有重要的指导意义。

植物对害虫取食的分子响应机制主要涉及钙离子信号、丝裂原活化蛋白激酶、氧化应激、植物激素和次生代谢等通路（Vivek *et al.*，2016）。目前，在水稻中鉴定得到 31 个褐飞虱抗性位点，但是只有 13 个褐飞虱抗性位点的分子功能得到解析，这 13 个褐飞虱抗性位点编码的蛋白及其分子功能多种多样，如 BPH14 编码的是螺旋线圈、核苷酸结合、亮氨酸富集（Coiled-coil，nucleotide-binding，and leucine-rich repeat，CC-NB-LRR）蛋白，而 *BPH15* 基因编码的是凝集素受体激酶（Lectin-like receptor kinases，LecRK）（Jing *et al.*，2017）。此外，植物激素水杨酸（Salicylic acid，SA）途径和茉莉酸（Jasmonic acid，JA）途径也参与了水稻对褐飞虱的防御反应（Guo *et al.*，2014；Lu *et al.*，2018）。水稻的多个转录因子如 WRKY 和 bHLH 类转录因子能通过激活防御相关信号通路响应褐飞虱取食（Yang *et al.*，2019）。有些抗性位点已经应用于抗性水稻的育种中，但由于褐飞虱种群密度大，具有遗传多样性，帮助其快速适应进化以抵抗水稻的防御机制。因此，需要更多更有效的褐飞虱抗性相关基因被发掘，以辅助抗性水稻育种（Hu *et al.*，2016）。

随着转录组测序技术的迅速发展，可以高通量地检测组织中所有基因的表达情况。本研究利用转录组学分析比较了水稻茎杆在褐飞虱取食前后的转录组变化，以期解析褐飞虱取食对水稻基因表达的影响，以及水稻响应褐飞虱取食的免疫防御分子机制，从而挖掘水稻防御褐飞虱的关键基因，为防治褐飞虱提供基因资源。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫与植物

供试褐飞虱采集于湖北省武汉田间，在人工气候室饲养多代。供试水稻品种为 *Taichuang Native* 1（TN1），在温室培育。温室条件：温度（26±2）℃，光暗比 16 L∶8 D，湿度 75%±5%。

1.2 样品准备

褐飞虱取食处理组（BFR）和对照组（CK）各取 10 株 3 叶期水稻苗，处理组加入 300 头 4 龄褐飞虱若虫，对照组不做任何处理，各设置 3 组生物重复。将处理组和对照组水稻置于人工气候室中培育，待褐飞虱取食 6 h 后，取出水稻，剪取苗期水稻的褐飞虱取食部位组织（2 cm）作为转录组测序样品，共计 6 个。

1.3 RNA 提取及转录组测序

采用 Trizol 法提取水稻样品总 RNA，经电泳检测合格后用于 cDNA 文库构建，采用 Illumina 二代测序平台完成转录组测序。建库和测序均由安诺优达基因科技公司（北京）完成。

1.4　基因差异表达分析

经过数据质量评估后去接头、过滤冗余序列等得到高质量的 clean data，以蜀恢 498 籼稻基因组 R498-IGDBv3（Du *et al.*，2017）作为参考基因组，采用软件 RSEM（Li and Colin，2011）进行转录组定量分析，得到转录组各基因的表达量。采用 R 语言包 DEseq2（Michael *et al.*, 2013）对转录组表达量数据进行差异表达分析，筛选褐飞虱取食后水稻的差异表达基因，差异表达标准设置为差异倍数大于 2 且经过 FDR 校正的 *P* 值（Adjusted *P*-value，padj）小于 0.05。

1.5　实时荧光定量 PCR 验证

采用 Trizol 法提取褐飞虱取食前后的水稻样品总 RNA，采用 HIScript® Ⅲ RT SuperMix for qPCR（Vazyme）反转录试剂盒合成 cDNA 模板。随机选取 20 个差异表达基因，使用 Primer6 设计特异性引物，选取水稻 Ubiquitin 5（UBQ5）基因作为内参基因（李冉等，2013）。采用 ChamQTM SYBR® qPCR Master（Vazyme）试剂盒进行荧光定量 PCR，反应体系及操作步骤均按照试剂盒进行，在 QuantStudio 3（Applied Biosystems）定量 PCR 仪上完成反应。采用比较阈值法，用 $2^{-\triangle\triangle Ct}$ 法计算相对表达量，差异显著性分析采用 Student's *T*-test 方法检验（纪冬和辛绍杰，2019）。

1.6　KEGG 和 GO 通路富集分析

采用软件 GeneMerge1.4（Castillo-Davis and Hartl，2003）对差异表达基因进行 KEGG 和 GO 富集分析，根据 *P*-value < 0.05，筛选得到差异表达基因显著性富集的功能通路。

2　结果与分析

2.1　转录组数据分析

6 个样品转录组测序得到的原始数据经过滤，分别得到 60 034 869、58 905 381、57 745 824、

表 1　定量 PCR 所用引物
Table 1　qPCR primers

基因 ID Gene ID	上游引物 Forward primer (5′-3′)	下游引物 Reverse primer (5′-3′)
Ubiquitin 5 (UBQ5)	AACCACTTCGACCGCCACT	GTTCGATTTCCTCCTCCTTCC
OsR498G0100081600	CGACACCATGATCCGTCTCCC	CACTTCCACGGCCTCTTCG
OsR498G0100081800	ACCATCCTGCTCTTCCTCCTCG	GGCGGGTTCATCTTGTTGC
OsR498G0102334700	GAACGCAAGAATCCGCTCCC	TCCCAGCTTGTGCAGTCCC
OsR498G0203907000	CGTCATGTGGGAGATGGAGCAG	CTGGTGTTGGTGGTGGTGGC
OsR498G0306783600	AAACAACCATCCCGCTGCTA	TCATCCTTCCTCCGCCTC
OsR498G0408187800	CATTGCCTCCGTTTCCTC	TTTCCAGCAGCAGCGATT
OsR498G0408202600	ATGTCGGCGAGGATGAAC	CCCTAAGCAAGCGAAACC
OsR498G0408737000	ACCGGCGACGACAGGGACAA	CCAGTAGGGAGGCCAGTAGCAC
OsR498G1018988800	AGCGATACTGTGATTCGGTCAA	TGGCGGATGAGGATTTGG
OsR498G1019021500	ATGGCTGACGCAGAGGAC	CCCAACCATAACGCCTGT
OsR498G1019092700	GGTGATGTCCAGCCTCGGGTTC	GTTGGCGATGGCGAAGACG
OsR498G1120631700	CACCATCAATCCATTCCTCCAT	CTCGCCATCCTGAACTGC
OsR498G1120633300	GCACTTCTTCATGCACGACACG	GACCACCGACAGCTCCCTCA
OsR498G1221501200	GGAAAGTGCTGCTCGGATGA	ATGCCCTTGCTGTTGTGG
OsR498G0100558200	GCGGAGGCGAGGAACATCAAG	CATGGCTTCTTGGCCTGCTTGT
OsR498G0100612200	TCAGCCGCCTCTTCTCCA	GCAACACCGCATCCCTCA
OsR498G0101116900	GGGAGGAGTGGCGTGCTGAA	GGAAGGGACGAGGTTTACG
OsR498G0101439000	TGATGATGATGGTTACGCAGAC	CACGGTGATAGCACAAACTCTT
OsR498G0203527800	CACCGTCAACGTCACCACCG	TCTGCGGCTTCCCGTGCTTC
OsR498G0203880500	AACGGCTTCGGTTTACGC	CAACTCCAAAGCGAAATGTAA

53 269 890、56 389 786 和 63 845 983 条读长，其 Q30 碱基比率分别为 96.15%、96.06%、96.05%、96.31%、95.94%和 96.02%，均大于 95%，低质量读长比率均在 1%以下。将 6 个样品过滤得到的高质量测序数据和水稻参考基因比对，比对率分别为 93.6%、92.8%、93.4%、93.4%、92.4%和 92.1%，比对率均在 90%以上（表 2）。上述结果表明 6 个样品的转录组测序数据质量高，可靠性好，和水稻参考基因组匹配程度高，可以用于进一步的转录组分析。

表 2 转录组测序数据质量评估

Table 2 Transcriptome sequencing data quality assessment

样品名称 Sample ID	Q30 碱基比率 Q30 base ratio	低质量读长比率 Low quality read ratio	高质量 reads High quality reads	参考基因组比对率 Reference genome alignment rate (%)
CK1	96.15	0.81	60 034 869	93.6
CK2	96.06	0.86	58 905 381	92.8
CK3	96.05	0.77	57 745 824	92.6
BFR1	96.31	0.62	53 269 890	93.4
BFR2	95.94	0.85	56 389 786	92.4
BFR3	96.02	0.75	63 845 983	92.1

CK1、CK2、CK3 为对照组水稻样品；BFR1、BFR2、BFR3 为褐飞虱取食 6 h 后水稻样品。

CK1, CK2 and CK3 are rice samples of control; BFR1, BFR2 and BFR3 are rice samples after feeding by brown planthopper for 6 h.

采用 RSEM 软件对 6 个样品的转录组数据进行基因表达定量，得到 38 339 个基因在 6 个样品中的表达水平。以未取食的水稻转录组为对照，利用 DEseq2 软件对褐飞虱取食后水稻基因表达进行差异分析，共筛选得到 1 104 个差异表达基因，其中包括 435 个表达上调基因和 669 个表达下调基因（图 1）。

2.2 差异表达基因的定量 PCR 验证

为验证转录组测序结果的可靠性，从 1 104 差异表达基因中随机选取 20 个差异表基因进行验证，其中包括 8 个表达上调基因，12 个表达下调基因。定量 PCR 结果显示，8 个表达上调基因在褐飞虱取食后的水稻中表达量升高，其中 4 个基因的表达具有显著差异；12 个表达下调基因中 10 个基因在被褐飞虱取食后的水稻中表达量降低，其中 3 个基因的表达具有显著差异。因此，在选取的 20 个基因中有 18 个基因的表达变化趋势和转录组测序结果一致，一致率达到 90%，说明转录组分析结果可靠（图 2）。

2.3 差异表达基因的 GO 和 KEGG 通路富集分析

在 1 104 个差异表达基因中，327 个基因在

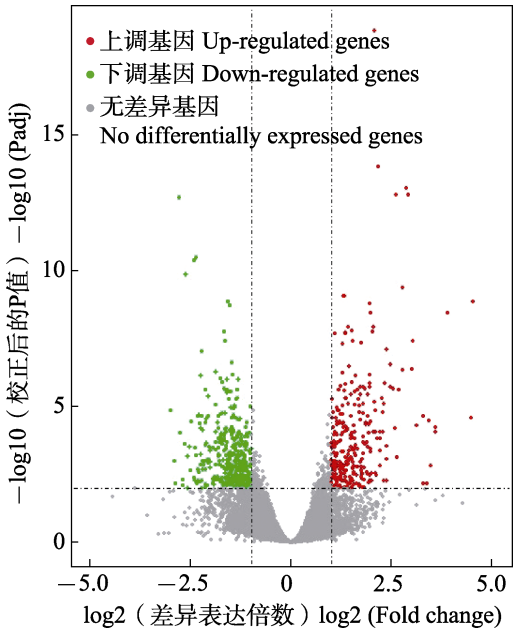

图 1 差异表达基因火山图

Fig. 1 Volcano map of differential expressed genes

Padj：校正后的 *P* 值。Padj: Adjusted *P*-value.

KEGG 数据库中有注释，注释率为 29.6%，包括 104 个表达上调基因和 223 个表达下调基因。524 个基因在 GO 数据库有注释，注释率为 47.5%，包括 211 个表达上调基因和 313 个表达下调基因。

表达上调基因的 KEGG 富集分析结果如图 3

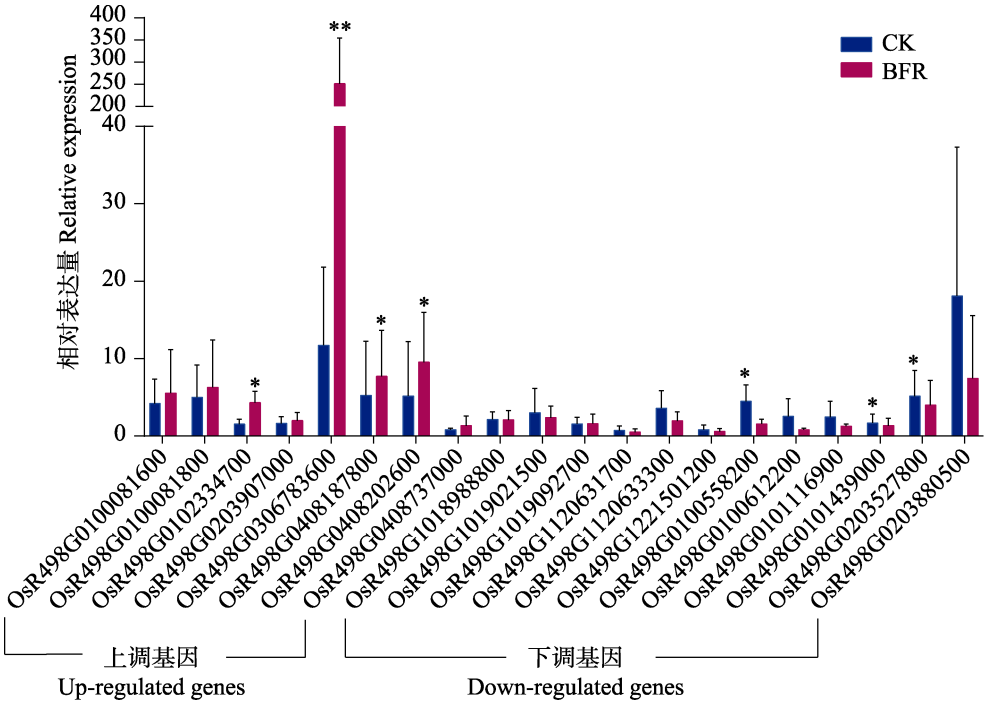

图 2　褐飞虱取食诱导的苗期水稻差异表达基因的荧光定量 PCR 验证

Fig. 2　The quantitative real-time PCR validation of 20 differentially expressed genes in rice seedling tissue induced by BPH feeding

BFR：褐飞虱取食后水稻；CK：对照组水稻。统计分析采用 Student's *T*- test，数据值为平均值 ± 标准误，*代表差异显著（$P < 0.05$），**代表差异极显著（$P < 0.01$）。

BFR: Rice samples after feeding by brown planthopper; CK: Rice samples in the control without feeding. Student's *T*-test is used for statistical analysis, and data are mean ± standard errors (SE). * stands for significant difference ($P < 0.05$), ** stands for extremely significant difference ($P < 0.01$).

所示。KEGG 富集分析得到过氧化物酶、海藻糖-6-磷酸合酶/磷酸酶（TPSP）、转录因子 WRKY33、几丁质酶、植物 G-box 结合因子等基因。表达上调基因的 GO 富集分析结果如图 4 所示，GO 富集结果包含三部分：生物过程、细胞组分和分子功能。其中生物过程富集到的 GO 功能分类包括氧化应激响应、海藻糖合成过程、碳代谢过程、应激响应等；细胞组分仅富集到 1 条 GO 功能分类：胞外区域；分子功能富集得到的 GO 功能分类有氧化还原、氧化应激、应激响应、

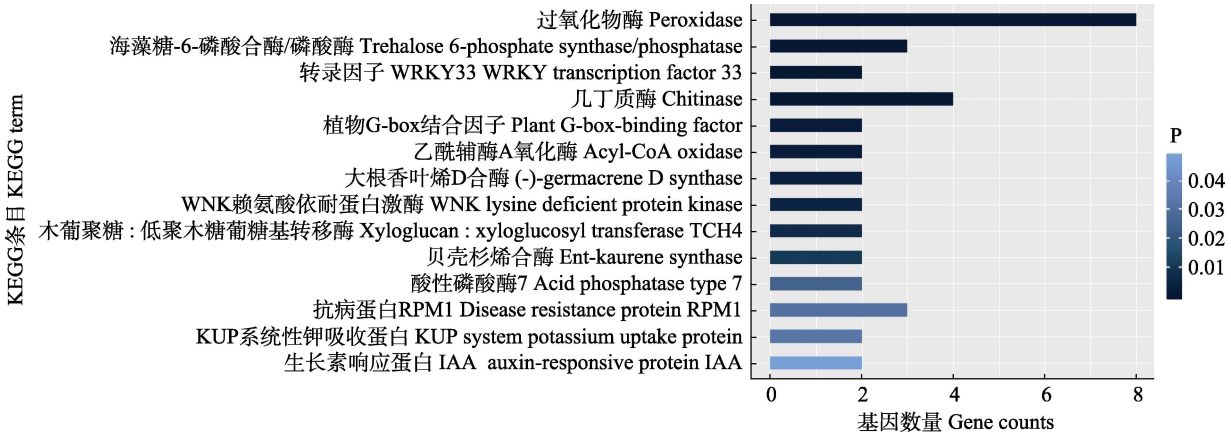

图 3　表达上调基因的 KEGG 富集分析

Fig. 3　KEGG enrichment analysis for up-regulated genes

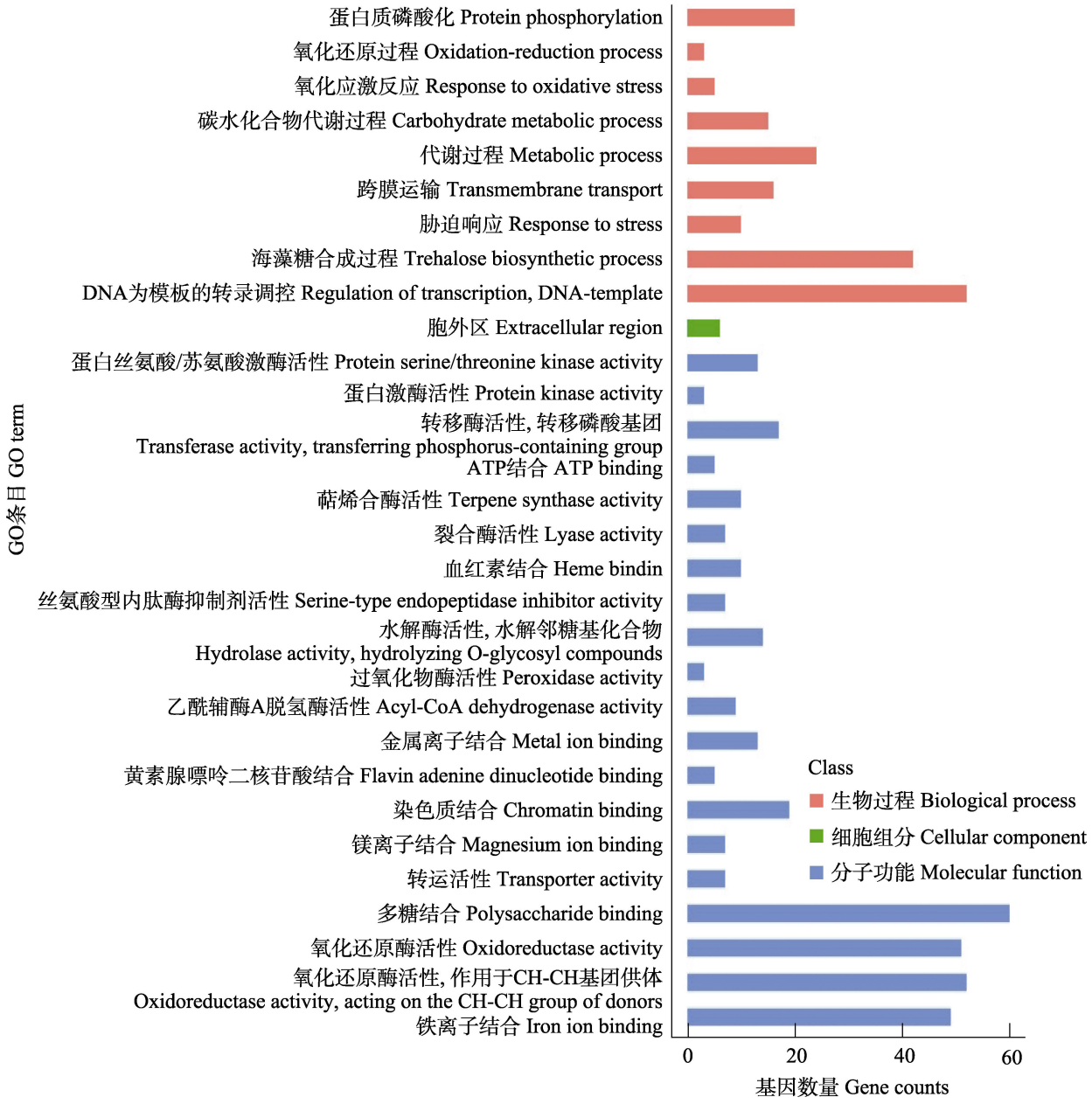

图 4　表达上调基因的 GO 富集分析

Fig. 4　GO enrichment analysis for up-regulated genes

萜烯化合物合成等。上述结果表明，褐飞虱取食后，水稻内氧化应激、海藻糖合成、萜烯化合物合成及一些转录因子相关的基因表达上调，与水稻对褐飞虱取食的免疫防御反应相关。

表达下调基因的KEGG富集分析结果如图5所示。KEGG 富集分析得到纤维素合酶 A、Rab-11A 蛋白、α 微管、C2/C3 激酶、UDP-葡萄糖-6 脱氢酶等基因。表达下调基因的 GO 分析结果如图 6 所示，生物过程部分富集的 GO 功能分类有氧化还原、小 GTP 酶介导的信号转导、细胞核质运输、碳水化合物代谢、纤维素合成等；细胞组分富集得到的 GO 功能分类有激酶复合体、胞内区、核糖体等；分子功能富集得到 UDP-葡萄糖-6 脱氢酶、水解酶、纤维素合酶等 GO 功能分类。KEGG 和 GO 富集分析结果显示，表达下调基因主要参与纤维素、蛋白质和脂肪酸等化合物合成反应，以及胞内物质运输、能量代谢等生理过程。

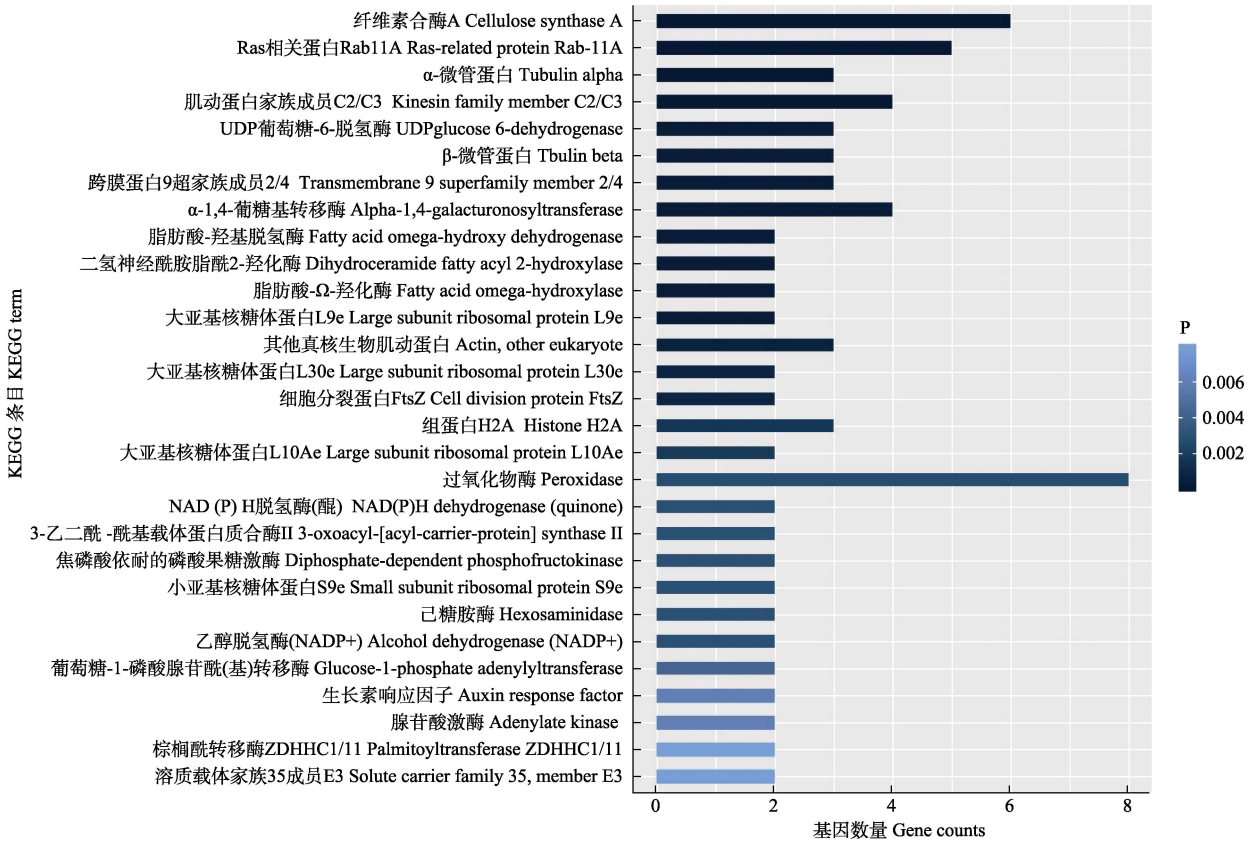

图 5　表达下调基因的 KEGG 富集分析

Fig. 5　KEGG enrichment analysis for down-regulated genes

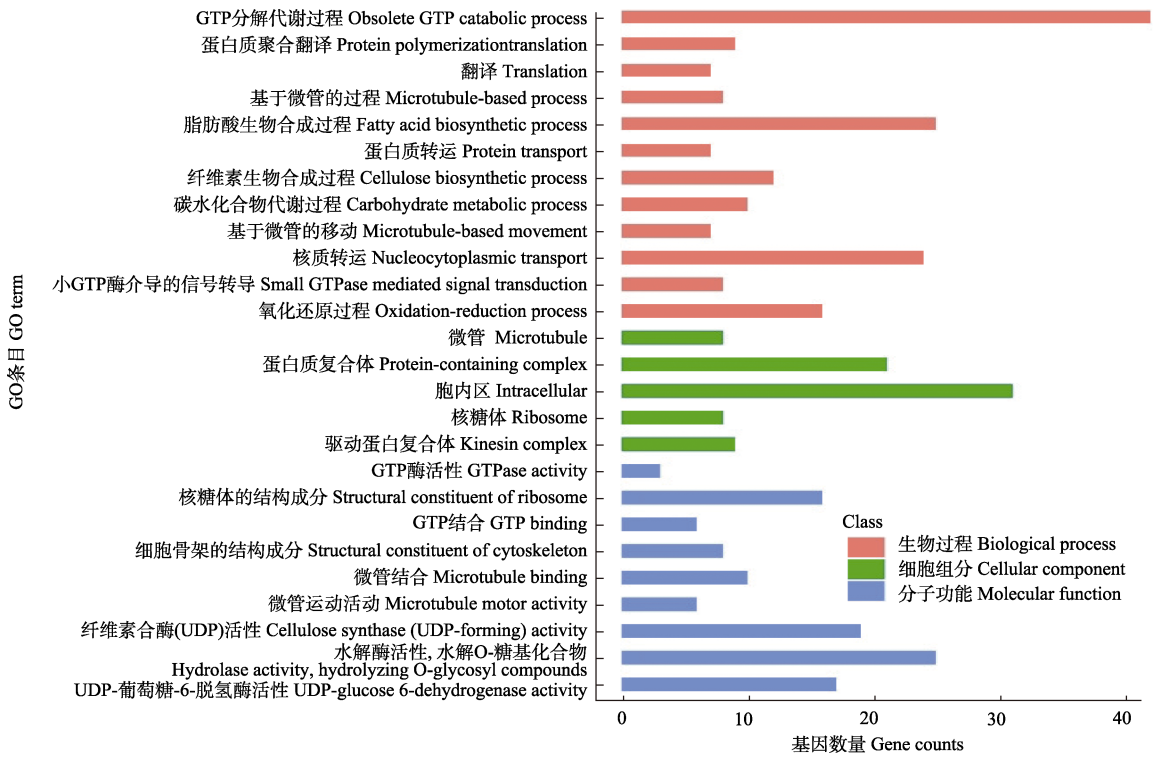

图 6　表达下调基因的 GO 富集分析

Fig. 6　GO enrichment analysis for down-regulated genes

2.4 差异表达的转录因子

褐飞虱取食后，61 个转录因子的表达有显著的变化（*T*-test，$P< 0.05$），其中 36 个转录因子基因表达显著上调，25 个转录因子基因表达显著下调。61 个差异表达的转录因子主要包含以下几类：MYB、ERF、ARF、NAC、HOX、WRKY、bHLH 等（表 3）。

2.5 差异表达的水杨酸和茉莉酸通路相关基因

在褐飞虱取食后的水稻转录组中，共发现 13 个 SA 和 JA 相关基因差异表达，均显著上调（$P< 0.05$）（表 4），包括调控 SA 合成的转录因子 SARD1，调控 SA 信号下游 PR 基因的转录因子 WRKY33，响应 JA 信号的下游转录因子 JAMYB，以及同时参与 SA 信号和 JA 信号调控的 WRKY70 等；4 个直接参与 JA 合成的基因：脂氧合酶 *LOX1*、*LOX7* 和酰基辅酶 A 氧化酶 *ACX4*；参与负反馈调控 JA 活性水平的细胞色素 P450 氧化酶 *CYP94C1*，以及可能参与 SA 和 JA 代谢的甲酯酶 *MES11*；响应 SA 信号的下游基因 α-双加氧酶 *DOX*。这 13 个 SA 和 JA 相关基因可能通过 SA 和 JA 信号通路参与了水稻对褐飞虱取食的免疫防御反应。

3 讨论

本研究通过分析褐飞虱取食后苗期水稻转录组变化，筛选得到 1 104 个褐飞虱取食诱导的水稻差异表达基因，其中表达上调基因 435 个，

表 3 褐飞虱取食诱导的苗期水稻中差异表达的转录因子

Table 3 The differentially expressed transcription factors in rice seedling tissue induced by BPH feeding

转录因子类型 Transcription factor type	上调基因数目 Up-regulated gene number	下调基因数目 Down-regulated gene number
MYB	5	4
ERF	6	1
ARF	2	4
NAC	4	1
HOX	2	1
Zc3h	2	2
WRKY	6	0
bHLH	0	4
Bzip	1	1
AHL	2	0
其他 Others	6	7
总计 Total number	36	25

MYB 是含有 MYB 结构域的一类转录因子；ERF 是乙烯应答因子，含有 AP2/ERF 结构域；ARF 是生长素响应因子，含有 AUX/IAA 结构域；NAC 是含有 NAC 结构域的一类转录因子；HOX 是一类特殊的具有同源盒 DNA 依赖的结构域的转录因子；Zc3h 是含有 CCCH 锌指结构域的一类转录因子；WRKY 是含有 WRKYGQK7 个氨基酸组成的保守序列的一类转录因子；bHLH 是含有螺旋-环-螺旋结构的一类转录因子；Bzip 是具有碱性亮氨酸拉链结构的一类转录因子；AHL 是含有 AT-hook 基序核定位的转录因子。

MYB is the transcription factor with MYB domain; ERF is the ethylene response factor and contains AP2/ERF domain; ARF is auxin response factor, which contains AUX/IAA domain. NAC is the transcription factor containing NAC domain. HOX is the transcription factor with homologous box DNA-dependent domain. Zc3h is the transcription factor with CCCH zinc finger domain. WRKY is the transcription factor with conserved sequence consisting of 7 amino acids WRKYGQK. bHLH is the transcription factor with helical-ring-helical structure. Bzip is the transcription factor with basic region/leucine zipper motif. AHL is the nuclear localized transcription factor containing AT-HOOK motif.

表 4　褐飞虱取食诱导的苗期水稻 SA 和 JA 相关的差异表达基因

Table 4　The differently expressed genes associated with SA and JA in rice seedling tissue induced by BPH feeding

类型 Type	基因编号 Gene ID	基因注释 Gene annotation	差异倍数 Fold change
SA 相关基因 Genes associated with SA	OsR498G0815887900	Protein SAR DEFICIENT 1	3.76
	OsR498G0100620200	Transcription factor WRKY33	2.86
	OsR498G0511031400	Probable WRKY transcription factor 33	2.85
	OsR498G1221518200	Alpha-dioxygenase 1(DOX1)	2.13
JA 相关基因 Genes associated with JA	OsR498G1221890200	Transcription factor JAMYB	2.88
	OsR498G0204402500	Transcription factor MYB21	3.79
	OsR498G0100288900	Probable WRKY transcription factor 72	2.19
	OsR498G0816439800	Lipoxygenase 7, chloroplastic(LOX7)	3.39
	OsR498G0306871300	Lipoxygenase-1(LOX1)	4.27
	OsR498G0509800400	Acyl-coenzyme A oxidase 4, peroxisomal(ACX4)	2.14
	OsR498G0100209800	Acyl-coenzyme A oxidase 4, peroxisomal(ACX4)	2.00
	OsR498G0510943100	Cytochrome P450 94C1(CYP94C1)	2.28
SA 和 JA 相关基因 Genes associated with SA and JA	OsR498G1119325200	Probable WRKY transcription factor 70	2.27
	OsR498G0203096300	WRKY transcription factor WRKY71	2.46
	OsR498G0714720100	Putative methylesterase 11, chloroplast(MES11)	2.28

表达下调基因 669 个。通过 GO 和 KEGG 功能富集分析，发现表达上调基因主要涉及过氧物酶、转录因子 WRKY33、海藻糖合酶、萜烯化合物合成等基因，这些基因大部分和植物胁迫应激和免疫防御有关。研究发现水稻中转录因子 WRKY33 能够被外源 SA 诱导并激活 SA 信号通路下游的 PR1 基因表达（Koo *et al.*，2009）。海藻糖历来被认为参与植物胁迫应激，研究发现海藻糖合酶可能和植物活性氧积累有关（Zhang *et al.*，2016）。此外，在差异表达基因中筛选 SA 和 JA 相关基因，发现筛选得到的 13 个 SA 和 JA 相关的差异表达基因均受褐飞虱取食诱导表达上调，说明 SA 和 JA 信号参与水稻对褐飞虱取食的分子响应。SA 和 JA 信号广泛参与植物的抗虫反应，相关研究表明水稻中 SA 和 JA 信号都会受到褐飞虱取食诱导，但只有 SA 信号是水稻对褐飞虱的抗性反应所必需的（Guo *et al.*，2014；Li *et al.*，2017；Lu *et al.*，2018；Matthias and Philippe，2019）。而表达下调基因主要参与纤维素、蛋白质、脂肪酸的合成反应，以及胞内物质运输和能量代谢过程。

综上所述，褐飞虱通过刺吸式口器取食水稻韧皮部汁液，诱导了水稻的应激反应和防御反应，导致水稻中大量氧化应激、SA 和 JA 信号、萜烯化合物合成等相关基因的表达上调。在褐飞虱取食过程中，许多转录因子也参与调控 SA 和 JA 通路基因等的表达调控。同时，褐飞虱取食严重影响水稻的营养代谢，包括蛋白质、脂肪酸和多糖的合成，尤其是涉及到细胞壁主要成分如纤维素、果胶等的减少，可能是飞虱为害导致水稻减产的原因之一。本研究结果对深入揭示水稻免疫防御反应，培育褐飞虱抗性水稻具有重要的参考价值。

致谢：感谢水稻生物学国家重点实验室对本研究的资助和支持。

参考文献 (References)

Castillo-Davis CI, Hartl DL, 2003. GeneMerge-post-genomic analysis, data mining, and hypothesis testing. *Bioinformatics*, 19(7): 891–892.

Diao YH, Sun KD, Zhang YY, Wang XK, 2019. Research progress

on drug resistance of brown planthopper and its control strategies. *Agricultural Development and Equipment*, (6): 28–29, 34. [刁跃珲, 孙凯迪, 张蕴邺, 王兴科, 2019. 水稻褐飞虱抗药性研究进展及其治理对策. 农业开发与装备, (6): 28–29, 34.]

Du HL, Yu Y, Ma YF, Gao Q, Cao YH, Chen Z, Ma B, Qi M, Li Y, Zhao XF, Wang J, Liu KF, Qin P, Yang X, Zhu LH, Li SG, Liang CZ, 2017. Sequencing and *de novo* assembly of a near complete indica rice genome. *Nature Communications*, 8: 15324.

Guo HM, Li HC, Zhou SR, Xue HW, Miao XX, 2014. Cis-12-oxo-phytodienoic acid stimulates rice defense response to a piercing-sucking insect. *Molecular Plant*, 7(11): 1683–1692.

Hu J, Xiao C, He YQ, 2016. Recent progress on the genetics and molecular breeding of brown planthopper resistance in rice. *Rice*, 9: 30.

Ji D, Xin SJ, 2009. Development and data analysis of real-time fluorescent quantitative PCR. *Letters in Biotechnology*, 20(4): 198–600. [纪冬, 辛绍杰, 2009. 实时荧光定量 PCR 的发展和数据分析. 生物技术通讯, 20(4): 598–600.]

Jing SL, Zhao Y, Du B, Chen RZ, Zhu LL, He GC, 2017. Genomics of interaction between the brown planthopper and rice. *Current Opinion in Insect Science*, 19(SI): 82–87.

Koo SC, Moon BC, Kim JK, Kim CY, Sung SJ, Kim MC, Cho MJ, Cheong YH, 2009. OsBWMK1 mediates SA-dependent defense responses by activating the transcription factor OsWRKY33. *Biochemical and Biophysical Research Communications*, 387(2): 365–370.

Li B, Colin ND, 2011. RSEM: Accurate transcript quantification from RNA-Seq data with or without a reference genome. *BMC Bioinformatics*, 12(1): 1–16.

Li CY, Luo C, Zhou ZH, Wang R, Ling F, Xiao LT, Lin YJ, Chen H, 2017. Gene expression and plant hormone levels in two contrasting rice genotypes responding to brown planthopper infestation. *BMC Plant Biology*, 17: 57.

Li R, Li JC, Zhou GX, Lou YG, 2013. Selection of internal reference genes in real-time quantitative PCR of rice pest-induced related genes. *Chinese Bulletin of Botany*, 48(2): 184–191. [李冉, 李建彩, 周国鑫, 娄永根, 2013. 水稻虫害诱导相关基因实时定量 PCR 中内参基因的选择. 植物学报, 48(2): 184–191.]

Lu HP, Luo T, Fu HW, Wang L, Tan YY, Huang JZ, Wang Q, Ye GY, Angharad MRG, Lou YG, Shu QY, 2018. Resistance of rice to insect pests mediated by suppression of serotonin biosynthesis. *Nature Plants*, 4(6): 338–344.

Matthias E, Philippe R, 2019. Molecular interactions between plants and insect herbivores. *Annual Review of Plant Biology*, 70(1): 527–557.

Michael IL, Simon A, Wolfgang H, 2013. Differential analysis of count data-the DESeq2 package. http://www.bioconductor.org/packages/2.13/bioc/vignettes/deseq2/inst/doc/des.pdf.

Vivek V, Pratibha R, Prakash PK, 2016. Plant hormone-mediated regulation of stress responses. *BMC Plant Biology*, 16: 86.

Yang L, Li A, Zhang WL, 2019. Current understanding of the molecular players involved in resistance to rice planthoppers. *Pest Management Science*, 75(10): 2566–2574.

Zhang HJ, Hong YB, Huang L, Liu SX, Tian LM, Dai Y, Cao ZY, Huang LH, Li DY, Song FM, 2016. Virus-induced gene silencing-based functional analyses revealed the involvement of several putative trehalose-6-phosphate synthase/phosphatase genes in disease resistance against *Botrytis cinerea* and *Pseudomonas syringae* pv. tomato DC3000 in tomato. *Frontiers in Plant Science*, 7: 1176.