

# 敲除 *OsLRR-RLK18* 基因提高水稻对褐飞虱的抗性

唐璎瑛 蒯 鹏 邱 晨 吕 静 娄永根\*

(浙江大学农业与生物技术学院, 昆虫科学研究所, 水稻生物学国家重点实验室,  
农业农村部作物病虫分子生物学重点实验室, 杭州 310058)

**摘要:** 为明确富亮氨酸重复类受体蛋白激酶(leucine-rich repeat receptor-like kinase, LRR-RLK)编码基因 *OsLRR-RLK18* 在调控水稻对褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 防御中的作用及机理, 以野生型水稻品系、*OsLRR-RLK18* 基因敲除纯合水稻品系为研究对象, 测定不同水稻品系的株高和根长、不同水稻品系对褐飞虱生物学参数的影响及褐飞虱为害后不同水稻品系中防御信号分子含量和防御化合物含量。结果显示, 敲除 *OsLRR-RLK18* 基因后水稻株高和根长降低, 褐飞虱为害后期诱导的茉莉酸、茉莉酸-异亮氨酸和脱落酸含量显著增加, 但水稻组成型(未受褐飞虱为害)和为害早期的水杨酸和过氧化氢含量降低, 引起水稻多种挥发物组分释放量增加, 木质素、对香豆酰腐胺及樱桃苷、刺芭菊苷和大波斯菊苷3种类黄酮含量下降, 最终导致褐飞虱卵孵化率和产卵量显著降低。表明 *OsLRR-RLK18* 基因参与了水稻对褐飞虱为害的防御反应, 在调控水稻对褐飞虱的抗性中发挥着一定作用。

**关键词:** 水稻; 褐飞虱; 诱导防御反应; 抗虫性; 基因

## Knocking out *OsLRR-RLK18* in rice enhances the resistance to brown planthopper *Nilaparvata lugens*

Tang Yingying Kuai Peng Qiu Chen Lü Jing Lou Yonggen\*

(Key Laboratory of Molecular Biology of Crop Pathogens and Insects, Ministry of Agriculture and Rural Affairs;  
State Key Laboratory of Rice Biology, Institute of Insect Sciences, College of Agriculture and Biotechnology,  
Zhejiang University, Hangzhou 310058, Zhejiang Province, China)

**Abstract:** To elucidate the role of the leucine-rich repeat receptor-like kinase (LRR-RLK) gene *OsLRR-RLK18* in regulating rice defense responses against the brown planthopper *Nilaparvata lugens* and its underlying mechanisms, we utilized both the wild-type rice line and *OsLRR-RLK18* knockout rice lines as research materials to assess the shoot height and root length of different rice plants, examine the effect on *N. lugens* biological parameters across different rice lines, and analyze the levels of defense-related signal molecules and defensive compounds in different rice plants before and after infestation by *N. lugens* females. The results showed that knocking out *OsLRR-RLK18* significantly increased the levels of jasmonic acid, jasmonic acid-isoleucine, and abscisic acid in rice at late stage of *N. lugens* infestation, but decreased the basal (non-infested) and *N. lugens*-induced (earlier stage of infestation) levels of salicylic acid and hydrogen peroxide. Moreover, knocking out *OsLRR-RLK18* enhanced the emission of multiple volatile compounds from rice plants while reducing the levels of lignin, *p*-coumaroyl putrescine, and three flavonoids (carlinoside, cosmoisin and prunin). These changes finally led to a significant decrease in the number and hatchability of *N. lugens* eggs. These results indicate that *OsLRR-RLK18* is

基金项目: 国家重点研发计划(2021YFD1401100), 农业农村部现代农业产业技术体系(CARS-01-43)

\* 通信作者 (Author for correspondence), E-mail: yglou@zju.edu.cn

收稿日期: 2023-05-19

involved in the defense responses in rice induced by *N. lugens* infestation, and plays a role in regulating rice the resistance to *N. lugens*.

**Key words:** rice; brown planthopper; inducible defense response; insect resistance; gene

在遭受植食性昆虫为害时,植物会利用位于细胞膜的模式识别受体(pattern recognition receptor, PRR)特异性地识别植食性昆虫激发子,导致植物细胞外钙离子内流、活性氧(reactive oxygen species, ROS)暴发和丝裂原活化蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MPK)级联的活化等早期信号事件的发生(Berens et al., 2017; Erb & Reymind, 2019; Arimura, 2021)。这些早期信号事件进一步激活茉莉酸(jasmonic acid, JA)、水杨酸(salicylic acid, SA)、脱落酸(abscisic acid, ABA)以及乙烯(ethylene, ET)等植物激素介导的信号途径,最终改变植物转录组、蛋白组以及代谢组,并对植食性昆虫产生直接和间接抗性(Tzin et al., 2015; Erb & Reymind, 2019; Stahl et al., 2019)。

富亮氨酸重复序列类受体蛋白激酶(leucine-rich repeat receptor-like protein kinase, LRR-RLK)是植物体内数量最多的一类类受体蛋白激酶(receptor-like protein kinase, RLK),例如拟南芥 *Arabidopsis thaliana*、水稻 *Oryza sativa* 和大豆 *Glycine max* 基因组中分别有 242、309 和 467 个 LRR-RLK 基因(Gou et al., 2010; Sun & Wang, 2011; Zhou et al., 2016)。这些 LRR-RLK 除了能调控植物细胞顶端分生组织分化(Bommert et al., 2005)、气孔发育(Liu et al., 2020)、花器官发育(Cui et al., 2018)、维管组织建成(Hu et al., 2022)等生长发育过程外,其中一部分已经被证实是植物识别病原菌或植食性昆虫为害信号的模式识别受体。例如,拟南芥中的鞭毛蛋白感知 2(flagellin-sensing 2, FLS2)(Gomez et al., 2001)、延伸因子 Tu(thermos unstable)受体(elongation factor-Tu receptor, EFR)(Santos et al., 2010)和植物激发子肽 1 受体(plant elicitor peptide 1 receptor, PEPR1)/植物激发子肽 2 受体(plant elicitor peptide 2 receptor, PEPR2)(Yamaguchi et al., 2010)以及水稻 *Oryza sativa* 白叶枯病抗性 21(Xanthomonas resistance 21, Xa21)蛋白(Pruitt et al., 2015; Luu et al., 2019)等是植物启动抗病防御的关键受体(Hu et al., 2015),但关于 LRR-RLK 调控植物对植食性昆虫的报道仍很少。如 Wang et al.(2018)发现,番茄 *Solanum lycopersicum* 植株对灰翅夜蛾 *Spodoptera littoralis* 取食为害诱导植株产生的系统

素(一种植物受损伤而产生的内源性激发子)的感知依赖于一种 LRR-RLK,即系统素受体 SYR1(systemin receptor 1);SYR1 在识别系统素后迅速激活乙烯信号途径,提高胰蛋白酶抑制剂的含量以增强植株对灰翅夜蛾的防御能力。灰翅夜蛾幼虫取食可诱导拟南芥 LRR-RLK 基因 *PEPRI/PEPR2* 转录水平显著上调,在拟南芥中沉默 *PEPRI/PEPR2* 基因则能显著提高植株对灰翅夜蛾幼虫的敏感性。类似地,褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 若虫取食为害后水稻 LRR-RLK 基因 *OsPEPRI/OsPEPR2* 的转录水平也显著上调,在水稻中敲除 *OsPEPRI/OsPEPR2* 基因会显著降低植株中 JA 水平,进而削弱水稻对褐飞虱若虫的抗性(Shen et al., 2022)。此外,二化螟 *Chilo suppressalis* 幼虫取食为害水稻叶鞘也能强烈诱导 *OsLRR-RLK1* 转录水平的上调,在水稻中沉默该基因会显著降低二化螟幼虫取食为害诱导的 *OsMPK3/OsMPK6* 活性,降低 JA、ET 和胰蛋白酶抑制剂含量以及水稻对二化螟幼虫的抗性(Hu et al., 2018)。利用多种正向遗传学方法,Poretsky et al. (2021)在玉米 *Zea mays* 中鉴定出的 1 个与 *OsLRR-RLK1* 高度同源的并且特异性响应鳞翅目昆虫幼虫口腔分泌物中脂肪酸氨基酸类激发子的 LRR-RLK 蛋白,命名为 ZmFACS。ZmFACS 与 *OsLRR-RLK1* 所介导的植物抗虫防御反应极其相似,推测它们可能都是特异性感知鳞翅目昆虫脂肪酸氨基酸类激发子的潜在受体。因此,鉴定虫害诱导的 LRR-RLK 基因并解析其在植物诱导抗虫防御中的功能对全面认识植物抗虫性具有重要理论意义。

水稻是世界上最重要的粮食作物之一,而稻飞虱尤其是褐飞虱是亚太地区最具破坏性的水稻害虫之一。水稻对褐飞虱的防御涉及到 MPK、信号分子 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 以及植物激素(JA、SA、ABA、ET)介导的信号途径之间的相互作用,导致包括木质素、酚胺、类黄酮以及挥发物等水稻防御化合物的重组,最终对褐飞虱产生直接和间接的防御作用(蒯鹏和娄永根,2022)。然而水稻基因组中众多的 LRR-RLK 基因是否参与调控水稻对褐飞虱的防御反应仍知之甚少。本研究以野生型水稻品系、*OsLRR-RLK18* 基因敲除纯合水稻品系为研究对象,测定不用水稻品系的株高和根长及褐飞虱为害后不同水稻品系中防御

信号分子含量和防御化合物含量,明确 *OsLRR-RLK18* 对水稻生长的影响、对褐飞虱生物学参数的影响及对水稻中防御信号分子含量和防御化合物含量的影响,以期为解析水稻中基因 *OsLRR-RLK18* 在诱导抗虫性中的功能提供参考。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

供试植物:野生型水稻品系秀水 11(Xiushui 11, XS11)和台中本地 1 号,由中国水稻研究所提供;参照 Lu et al. (2017) 方法以 XS11 为受体构建水稻 *OsLRR-RLK18* 基因敲除纯合品系 18-1-1 和 18-1-6,由本实验室研制。

供试昆虫:自浙江大学紫金港校区农场水稻田采集褐飞虱原始种群,置于温度(26±2)℃、光周期 14 L:10 D、相对湿度 50%~65% 的人工气候室中,用水稻感虫品种台中本地 1 号连续饲养 10 年以上;取初羽化褐飞虱雌、雄成虫(雌雄比为 2:1)用催芽 7 d 左右的台中本地 1 号水稻苗在人工气候室中单独饲养,取饲养 3 d 后处于产卵期的褐飞虱雌成虫供试。

试剂:TaKaRa MiniBEST 植物 RNA 提取试剂盒、PrimeScript™ RT Master Mix 试剂盒、TB Green™ Premix Ex Taq 定量 PCR 试剂盒,宝生物工程(大连)有限公司;Amplex® Red Hydrogen Peroxide/Peroxidase Assay Kit 试剂盒,美国 Invitrogen 公司;JA、JA-Ile、ABA、SA 内标,即<sup>2</sup>D<sub>2</sub>-JA、<sup>2</sup>D<sub>6</sub>-JA-Ile、<sup>2</sup>D<sub>4</sub>-SA 和<sup>2</sup>D<sub>6</sub>-ABA,由德国马普化学生态学研究所合成;甲醇、乙酸乙酯,德国 Merck 公司;其他试剂均为国产分析纯或者进口分析纯。

仪器:SMZ460 型体视显微镜,日本 Nikon 公司; $\mu$ Lite+超微量蛋白核酸分光光度计,美国 BioDrop 公司;DTX880 型多功能酶标仪,美国 Beckman Coulter 公司;6460 高效液相色谱-质谱/质谱联用仪、6890 气相色谱-火焰离子化检测器,日本 Agilent 公司;CFX96™ 实时荧光定量 PCR 检测系统,美国 Bio-Rad 公司;5301 真空浓缩仪,德国 Eppendorf 公司;SCIENTZ-12N/A 冷冻干燥仪,宁波市新芝生物公司;Vortex-Genie2 涡旋振荡仪,美国 Scientific Industries 公司;圆筒型玻璃罩,直径 40 mm,高度 80 mm,壁上均匀分布 24 个直径为 0.8 mm 的小孔,订制;植物挥发物抽提装置,由本实验室自主设计。

### 1.2 方法

#### 1.2.1 水稻中 *OsLRR-RLK18* 基因序列分析

将水稻基因组数据库 RGAP (<http://rice.plantbiology.msu.edu/>) 中提供的 *OsLRR-RLK18* 基因(RGAP 登录号为 LOC\_Os02g01800)的核苷酸序列提交至 DNAMAN 9 软件中翻译获得氨基酸序列;将氨基酸序列提交至 SMART (<https://smart.embl.de/>) 在线分析软件预测 *OsLRR-RLK18* 编码蛋白的保守结构域。

1.2.2 不同水稻品系的培养

将野生型水稻品系、2 个 *OsLRR-RLK18* 基因敲除水稻品系的种子分别置于直径 8 cm、高 10 cm 的组培瓶中用清水催芽,待苗长至 4~6 cm 后转移至长 51 cm、宽 35 cm、高 16.5 cm 的塑料筐中,置于温度(26±2)℃、光周期 14 L:10 D、相对湿度 50%~65% 的温室用水稻培养液(1.43 mmol/L NH<sub>4</sub>NO<sub>3</sub>、1 mmol/L CaCl<sub>2</sub>、0.32 mmol/L NaH<sub>2</sub>PO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O、0.51 mmol/L K<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>、1.64 mmol/L MgSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、7.58 μmol/L MnCl<sub>2</sub>·4H<sub>2</sub>O、15.11 μmol/L H<sub>3</sub>BO<sub>3</sub>、0.12 μmol/L CuSO<sub>4</sub>·5H<sub>2</sub>O、0.06 μmol/L (NH<sub>4</sub>)<sub>6</sub>Mo<sub>7</sub>O<sub>24</sub>·4H<sub>2</sub>O、0.12 μmol/L ZnSO<sub>4</sub>·7H<sub>2</sub>O、28.49 μmol/L FeCl<sub>3</sub>·6H<sub>2</sub>O、56.63 μmol/L C<sub>6</sub>H<sub>8</sub>O<sub>7</sub>·H<sub>2</sub>O, pH 4.5)继续培养,每 1~2 周更换 1 次培养液;待生长 22~24 d 后,选取生长状态良好且长势一致的水稻,去除分蘖单株种植于盛满水稻培养液的 300 mL 不透光塑料杯中,叶鞘基部用海绵固定在不透光、边长为 9 cm 的正方形塑料板(中间有一个直径 2 cm 的圆孔)中,恢复生长 3~4 d,用订制圆筒型玻璃罩罩住水稻叶鞘,玻璃罩底部固定在正方形塑料板上,玻璃罩顶部用海绵密封。

#### 1.2.3 *OsLRR-RLK18* 基因诱导表达模式分析

为明确 *OsLRR-RLK18* 是否参与水稻对褐飞虱为害的防御应答,测定了接入褐飞虱雌成虫不同时间后水稻叶鞘中 *OsLRR-RLK18* 的转录水平。

水稻品系的培养同 1.2.2,每个玻璃罩中接入处于产卵期的 10 头褐飞虱雌成虫,自接虫开始计时,每个水稻品系分别于接虫 3、8、24 和 48 h 时剪取水稻外叶鞘置于 2 mL 离心管中,于液氮中速冻,取出后于 -80 ℃ 冰箱保存,以未接入褐飞虱的水稻外叶鞘作为对照。每个水稻品系每个时间分别取 0.1 g 水稻外叶鞘样品,置于液氮中研磨,用 TaKaRa MiniBEST 植物 RNA 提取试剂盒提取样品的总 RNA,用超微量蛋白核酸分光光度计检测与评估所得 RNA 的浓度、纯度与质量。按照 PrimeScript™ RT Master Mix 试剂盒说明书将总 RNA 反转录成 cDNA。以水稻 *OsACTIN* 基因(RGAP 登录号为 LOC\_Os03g50885)为内参基因,以合成的 cDNA 为模板利用实时荧光定量 PCR (real-time fluorescent quantitative PCR,

qPCR)检测各样品中 *OsLRR-RLK18* 基因的相对表达量。委托南京金斯瑞生物科技有限公司设计和合成 *OsACTIN* 引物 (F: 5'-TGGACAGGTTATCACC-ATTGGT-3'/R: 5'-CCGCAGCTTCCATTCTATG-3') 和 *OsLRR-RLK18* 引物 (F: 5'-AAGAGAAAGCCAC-AGCATGAAC-3'/R: 5'-CAGGAAGCGTTCCAAT-CTGGTG-3')。20 μL 反应体系:cDNA 1 μL、10 μmol/L 正反向引物各 0.7 μL、TB Green<sup>TM</sup> Premix Ex Taq 酶 10 μL、双蒸水 7.6 μL; 反应程序: 95 ℃ 预变性 30 s; 95 ℃ 变性 5 s, 60 ℃ 扩增 30 s, 循环 40 次。根据采集到的阈值循环数,采用标准曲线法计算待测基因的相对表达量(Hu et al., 2018)。

#### 1.2.4 *OsLRR-RLK18* 对水稻生长影响的测定

不同水稻品系的培养同 1.2.2,待苗龄 10 d 和 30 d 时,分别测量植株的根长和株高。从叶鞘基部开始长根的部位至根尖端的长度为根长,从叶鞘基部开始长根的部位至叶片尖端的长度为株高,每个处理每次测量 20 株植株。

#### 1.2.5 *OsLRR-RLK18* 对褐飞虱生物学参数影响的测定

不同水稻品系的培养同 1.2.2,每个玻璃罩中接入处于产卵期的 10 头褐飞虱雌成虫,自接虫开始计时,24 h 后移去所有成虫并继续保持玻璃罩封闭。待第 1 头若虫孵出起每天定时观察并记录每日新孵若虫的数量,直至连续 3 d 不再有若虫孵出为止。随后剪取玻璃罩中全部叶鞘,在显微镜下检查并记录未孵化的卵量,统计总产卵量,计算卵孵化率和卵发育历期。卵发育历期=Σ( $N_i \times i$ )/N,式中, $N_i$  为第  $i$  天所孵化出的若虫数量,N 为试验期间孵化出的若虫总数。每个品系设 12 个生物学重复。

#### 1.2.6 *OsLRR-RLK18* 对防御信号分子含量影响的测定

不同水稻品系的培养同 1.2.2,每个玻璃罩中接入处于产卵期的 10 头褐飞虱雌成虫,自接虫开始计时,分别于接虫 0、6、12、24 和 48 h 时,每个水稻品系剪取外部 3 层叶鞘,迅速放入 2 mL 离心管中,于液氮中速冻,取出后于 -80 ℃ 冰箱中保存备用。

每个水稻品系每个时间称取 0.12 g 样品,参照 Li et al. (2017) 方法分别测定 SA、JA、JA-Ile 和 ABA 含量。向每个样品中加入 1 mL 乙酸乙酯提取液(分别含有<sup>2</sup>D<sub>2</sub>-JA、<sup>2</sup>D<sub>6</sub>-JA-Ile、<sup>2</sup>D<sub>4</sub>-SA 和<sup>2</sup>D<sub>6</sub>-ABA 内标),充分振荡混匀,于 4 ℃、14 000 r/min 条件下离心 20 min,吸取 800 μL 上清液转移至 2 mL 新离心管中,并在真空浓缩仪内浓缩至干燥;随后经 70% 甲醇振荡溶解 5 min,并于 4 ℃、14 000 r/min 条件下离心 10 min,吸取 150 μL 上清液,利用高效液相色谱-质谱/质谱联用仪测定样品中酚胺和类黄酮含量,具体含量测定参考 Xu et al. (2021) 方法。每个品系每个时间设 5 个生物学重复。

质谱/质谱联用仪测定样品中 SA、JA、JA-Ile 以及 ABA 的含量。每个品系每个时间设 5 个生物学重复。

每个水稻品系每个时间称取 0.12 g 样品,参照 Wang et al. (2020) 方法测定 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量。向每个样品中加入 1 mL 遇冷的蒸馏水,充分振荡混匀,于 4 ℃、14 000 r/min 条件下离心 20 min,吸取 800 μL 上清液转移至新 2 mL 离心管中。按照 Amplex<sup>®</sup> Red Hydrogen Peroxide/Peroxidase Assay Kit 说明书测定各样品中 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量。每个品系每个时间设 5 个生物学重复。

#### 1.2.7 *OsLRR-RLK18* 对防御化合物含量影响的测定

水稻挥发物、酚胺化合物、类黄酮以及木质素在水稻抵御褐飞虱为害中发挥着重要作用(Chen et al., 2019; Xu et al., 2021)。因此,测定褐飞虱雌成虫为害 24 h 后不同水稻品系的挥发物释放量以及褐飞虱雌成虫为害前和为害 72 h 后酚胺化合物和类黄酮的含量。

不同水稻品系的培养同 1.2.2,每个玻璃罩中接入 10 头处于产卵期的褐飞虱雌成虫,24 h 后移去所有褐飞虱,并将单株水稻转移到一个密封的水稻挥发物玻璃收集装置中。采用顶空法连续捕集褐飞虱为害后 8 h 内的水稻植株所释放的挥发物,用 200 μL 甲醇(内含有 500 μL/L 癸酸乙酯 4 μL 作为内标)淋洗吸附柱上的挥发物,并将它们收集至进样瓶中,最后利用气相色谱-火焰离子化检测器分离和定量各挥发物组分,具体挥发物捕集和含量测量参考 Lou et al. (2005) 方法。挥发物含量用相对于内标峰面积的百分比表示。每个品系每个时间设 5 个生物学重复。

不同水稻品系的培养同 1.2.2,每个玻璃罩中接入处于产卵期的 10 头褐飞虱雌成虫,自接虫开始计时,分别于接虫 0 h 和 72 h 时,每个水稻品系剪取外部 3 层叶鞘,迅速放入 2 mL 离心管中于液氮中速冻,取出后于 -80 ℃ 冰箱中保存备用。酚胺和类黄酮的提取方法参照 Xu et al. (2021) 方法。向每个样品中加入 70% 甲醇 1 mL,充分振荡混匀,于 4 ℃、14 000 r/min 条件下离心 20 min,吸取 800 μL 上清液转移至 2 mL 离心管中,并在冷冻干燥仪浓缩至干燥;随后经 70% 甲醇振荡溶解 5 min,并于 4 ℃、14 000 r/min 条件下离心 10 min,吸取 150 μL 上清液,利用高效液相色谱-质谱/质谱联用仪测定样品中酚胺和类黄酮含量,具体含量测定参考 Xu et al. (2021) 方法。每个品系每个时间设 5 个生物学重复。

木质素提取方法参照 Xu et al. (2014) 方法。向 0.1 g 样品中加入 80% 甲醇溶液 1 mL 振荡混匀, 在 80 ℃ 金属浴中孵育 2 h 后离心, 弃上清液, 加入 2 mol/L 盐酸 1 mL 和纯度 98% 硫基乙酸 0.1 mL 煮沸 8 h, 冰上冷却 5 min 后离心, 去上清液, 随后加入 1 mol/L NaOH 2 mL, 于室温下轻轻搅拌 18 h 重新溶解沉淀后离心, 取 500 μL 上清液到 2 mL 离心管中并加入 100 μL 浓盐酸, 于 4 ℃ 静置 4 h, 使木质素自然沉降, 离心去上清液后将离心管底部的木质素沉淀重新溶解于 1 mL 1 mol/L NaOH 溶液中, 在 280 nm 处测定吸光度。每个品系每个时间设 5 个生物学重复。

### 1.3 数据分析

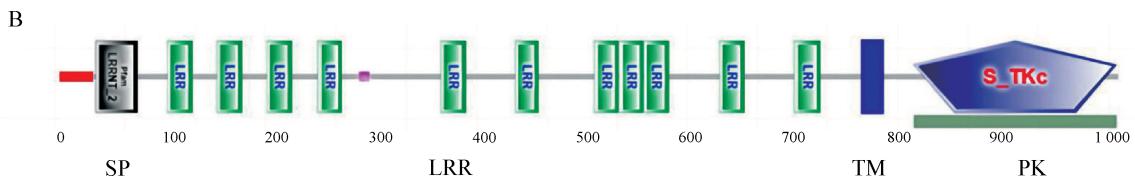
采用 DPS 9.50 软件对数据进行处理。两组数据均采用 Student's *t* 检验法进行差异显著性检验; 3 组

及以上数据先进行单因素方差分析, 然后采用 Tukey's HSD 法进行多重比较。用 Levene's test 进行方差齐性检验, 对于方差不齐的数据需进行数据转换。

## 2 结果与分析

### 2.1 水稻中 OsLRR-RLK18 基因序列分析

水稻中 OsLRR-RLK18 基因序列 (RGAP 登录号 LOC\_Os02g01800) 编码区核苷酸长度为 3 549 bp, 编码 1 182 个氨基酸 (图 1-A)。保守结构域分析结果显示, 水稻中 OsLRR-RLK18 蛋白具有 RLK 家族典型特征, 含有胞外富亮氨酸重复序列 (leucine-rich repeat, LRR) 结构域、一个跨膜结构域和胞内激酶结构域 (图 1-B)。



\*: 终止密码子; SP: 信号肽; LRR: 富亮氨酸重复序列; TM: 跨膜结构域; PK: 蛋白激酶。\*: Termination codon; SP: signal peptide; LRR: leucine-rich repeat; TM: transmembrane domain; PK: protein kinase.

图 1 水稻中 OsLRR-RLK18 的氨基酸序列 (A) 与保守结构域 (B)

Fig. 1 Amino acid sequence (A) and conserved domain (B) of OsLRR-RLK18 in rice

### 2.2 OsLRR-RLK18 基因的诱导表达模式

褐飞虱为害 24 h 和 48 h 后, 水稻中 OsLRR-RLK18 基因的相对表达量被显著抑制 ( $P < 0.05$  或  $P < 0.01$ ), 分别为未受害水稻的 40.58% 和 58.71%, 但

褐飞虱为害 3 h 和 8 h 后, 水稻中 OsLRR-RLK18 基因的相对表达量与未受害水稻的无显著差异 (图 2)。表明在被褐飞虱为害的后期 OsLRR-RLK18 基因可能参与调控水稻对褐飞虱的防御反应。

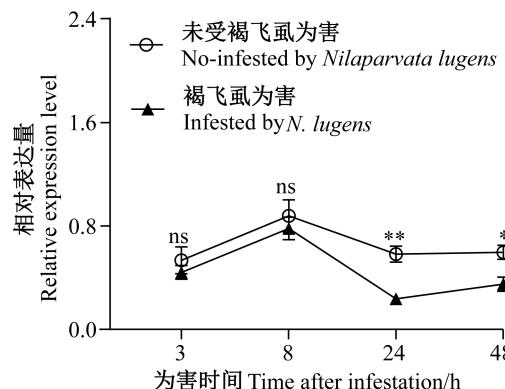
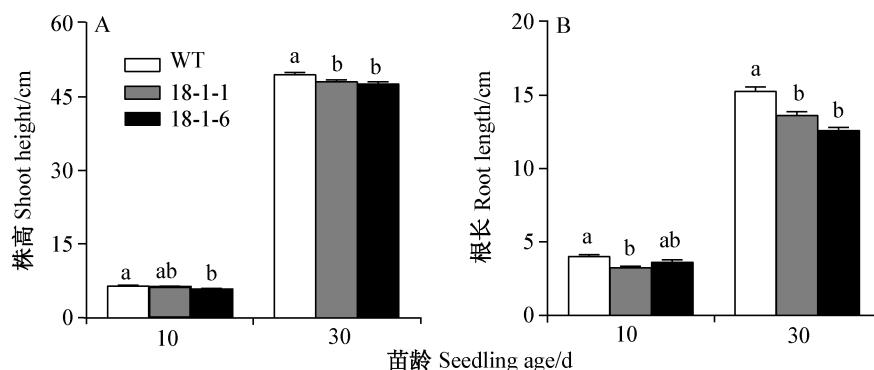


图2 褐飞虱为害后水稻中 *OsLRR-RLK18* 的相对表达量  
Fig. 2 Relative expression levels of *OsLRR-RLK18* in rice infested by *Nilaparvata lugens*

图中数据为平均数±标准误。\*, \*\*表示处理和对照经 Student's *t* 检验法检验差异显著( $P<0.05$  或  $P<0.01$ )；ns 表示处理和对照之间无显著差异。Data are mean±SE. \* or \*\* indicates significant difference between treatment and control by Student's *t* test ( $P<0.05$  or  $P<0.01$ ); ns indicates no significant difference between treatment and control.

### 2.3 *OsLRR-RLK18*基因对水稻生长的影响

与野生型水稻品系相比, *OsLRR-RLK18*基因敲除水稻品系 18-1-1 和 18-1-6 的株高变矮, 根长变短(图3), 在苗龄 10 d 时其株高分别较野生型植株降低了 10.23% 和 23.36%, 在苗龄 30 d 时其株高分别较野生型植株显著降低了 3.41% 和 3.92%( $P<0.05$ );



WT: 野生型水稻品系; 18-1-1 和 18-1-6: *OsLRR-RLK18* 基因敲除水稻品系。WT: Wide-type rice line; 18-1-1 and 18-1-6: *OsLRR-RLK18* gene-knockout rice line.

图3 *OsLRR-RLK18*基因对水稻株高(A)和根长(B)的影响

Fig. 3 Effects of *OsLRR-RLK18* gene on the shoot height (A) and root length (B) of rice

图中数据为平均数±标准误。不同小写字母表示同时间不同水稻品系之间经 Tukey's HSD 检验法检验差异显著( $P<0.05$ )。Data are mean±SE. Different lowercase letters indicate significant difference among different rice lines at the same time by Tukey's HSD test ( $P<0.05$ ).

### 2.5 *OsLRR-RLK18*对水稻中防御信号分子含量的影响

褐飞虱为害 0、6、12 和 24 h 时, 不同水稻品系的 JA 含量之间无显著差异, 为害 48 h 时, 2 个 *OsLRR-*

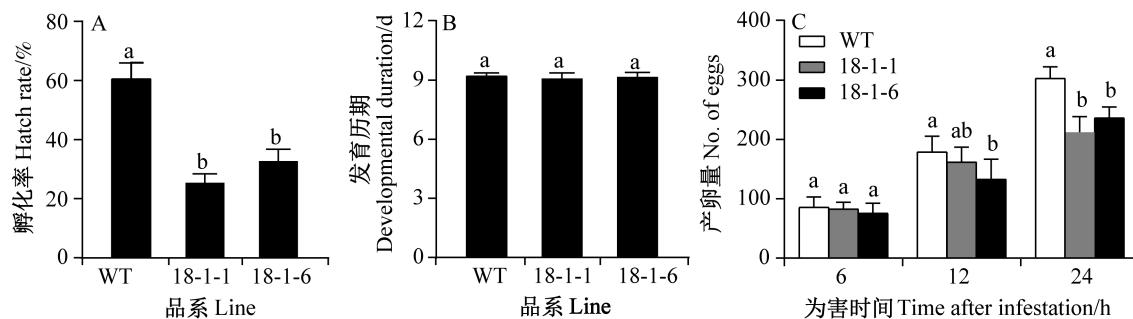
*RLK18* 基因敲除水稻品系 18-1-1 和 18-1-6 叶鞘中的 JA 含量均显著高于野生型水稻品系的( $P<0.05$ ), 分别是野生型水稻品系的 1.94 倍和 2.45 倍(图 5-A)。

### 2.4 *OsLRR-RLK18*基因对褐飞虱生物学参数的影响

在野生型水稻品系上褐飞虱卵的孵化率为 59.88%, 在 2 个 *OsLRR-RLK18* 基因敲除水稻品系 18-1-1 和 18-1-6 上褐飞虱卵的孵化率分别为 25.55% 和 32.87%, 分别较野生型水稻品系显著降低( $P<0.05$ , 图 4-A)。在不同水稻品系上褐飞虱卵的发育历期无差异, 均为 9 d 左右(图 4-B)。在野生型水稻品系上为害 6、12 和 24 h 时, 褐飞虱雌成虫产卵量分别为 85.9、179.1 和 293.5 粒, 在 *OsLRR-RLK18* 基因敲除水稻品系上为害 6 h 时, 产卵量与在野生型水稻品系上的差异不显著, 为害 12 h 时, 在基因敲除水稻品系 18-1-1 上的产卵量与在野生型水稻品系上的差异不显著, 在基因敲除水稻品系 18-1-6 上的产卵量却显著低于在野生型水稻品系上的产卵量( $P<0.05$ ), 但为害 24 h 时, 在 2 个 *OsLRR-RLK18* 基因敲除水稻品系上的产卵量均较在野生型水稻品系上的显著降低( $P<0.05$ , 图 4-C), 表明 *OsLRR-RLK18* 基因负调控水稻对褐飞虱的抗性。

褐飞虱为害 0 h 时, 仅基因敲除品系 18-1-1 叶鞘中的 JA-Ile 含量显著高于野生型水稻品系的 ( $P < 0.05$ ); 为害 48 h 时, 2 个基因敲除品系 18-1-1 和 18-1-6 叶鞘中的 JA-Ile 含量均显著高于野生型水稻品系的 ( $P < 0.05$ ), 分别是野生型水稻品系的 11.36 倍和 14.22 倍; 其他为害时间, 不同水稻品系的 JA-Ile 含量之间差异不显著(图 5-B)。褐飞虱为害 0、6 和 12 h 时, 不同水稻品系的 ABA 含量之间差异不显著, 但在为害 48 h 时, 2 个基因敲除水稻品系 18-1-1 和 18-1-6 叶鞘中的 ABA 含量均显著提高 ( $P < 0.05$ ), 分别为野生

型水稻品系的 2.05 倍和 2.61 倍(图 5-C)。褐飞虱为害 0、6 和 12 h 时, *OsLRR-RLK18* 基因敲除水稻品系叶鞘中的 SA 含量和  $H_2O_2$  含量均显著低于野生型水稻品系的 ( $P < 0.05$ ); 为害 24 h 和 48 h 时, 除基因敲除水稻品系 18-1-6 在 48 h 时叶鞘中的  $H_2O_2$  含量与野生型水稻品系的差异显著外 ( $P < 0.05$ ), 基因敲除水稻品系的 SA 和  $H_2O_2$  含量均与野生型水稻品系的差异不显著(图 5-D~E), 表明 *LRR-RLK18* 基因负调控水稻中 JA、JA-Ile 和 ABA 含量, 正调控水稻中 SA 和  $H_2O_2$  含量。

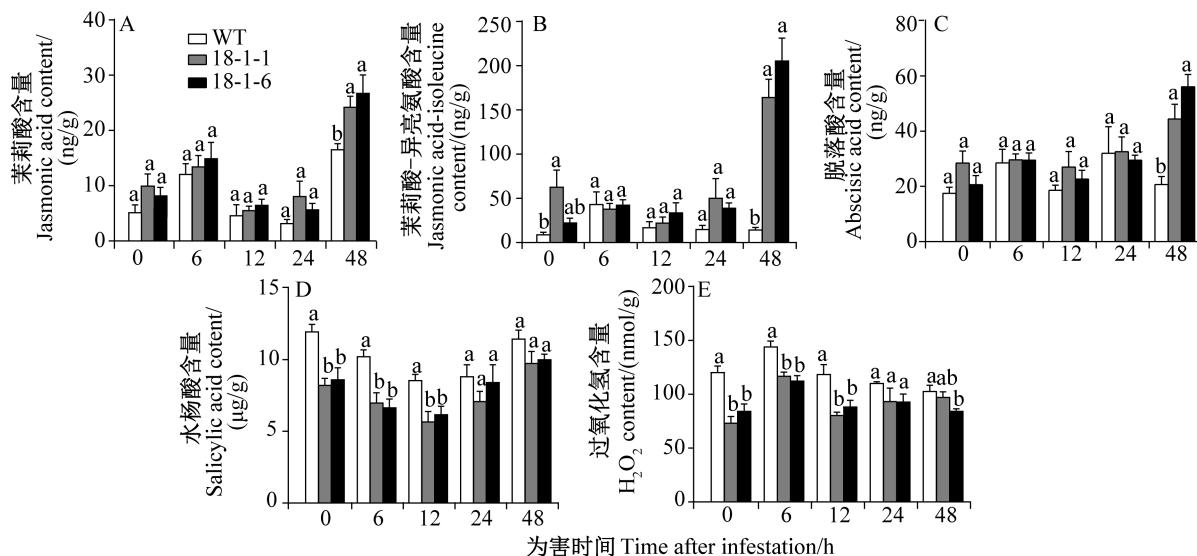


WT: 野生型水稻品系; 18-1-1 和 18-1-6: *OsLRR-RLK18* 基因敲除水稻品系。WT: Wide-type rice line; 18-1-1 and 18-1-6: *OsLRR-RLK18* gene-knockout rice line.

图 4 水稻中 *OsLRR-RLK18* 基因对褐飞虱卵孵化率(A)、卵发育历期(B)和产卵量(C)的影响

Fig. 4 Effects of *OsLRR-RLK18* gene in rice on the hatching rate (A), developmental duration (B), and number (C) of *Nilaparvata lugens* eggs

图中数据为平均数±标准误。不同小写字母表示经 Tukey's HSD 检验法检验差异显著 ( $P < 0.05$ )。Data are mean±SE. Different lowercase letters on the bars indicate significant difference by Tukey's HSD test ( $P < 0.05$ )。



WT: 野生型水稻品系; 18-1-1 和 18-1-6: *OsLRR-RLK18* 基因敲除水稻品系。WT: Wide-type rice line; 18-1-1 and 18-1-6: *OsLRR-RLK18* gene-knockout rice line.

图 5 *OsLRR-RLK18* 基因对褐飞虱为害后水稻中防御信号分子含量的影响

Fig. 5 Effects of *OsLRR-RLK18* gene on the contents of signal molecules in rice infested by *Nilaparvata lugens*

图中数据为平均数±标准误。不同小写字母表示经 Tukey's HSD 检验法检验差异显著 ( $P < 0.05$ )。Data are mean±SE. Different lowercase letters on the bars indicate significant difference by Tukey's HSD test ( $P < 0.05$ )。

## 2.6 *OsLRR-RLK18*对水稻防御化合物含量的影响

### 2.6.1 对单一组分挥发物含量的影响

褐飞虱为害后,*OsLRR-RLK18*基因敲除水稻品系18-1-1和18-1-6释放的2-庚酮、2-庚醇、柠檬烯、

芳樟醇和水杨酸甲酯5个单一组分挥发物的含量均较野生型水稻品系的显著提高( $P<0.05$ ),含量分别为1.055%、0.901%、0.246%、3.265%、0.564%和0.929%、0.715%、0.209%、2.598%和0.399%(表1)。

表1 褐飞虱为害后野生型水稻品系和*OsLRR-RLK18*基因敲除水稻品系释放的挥发物

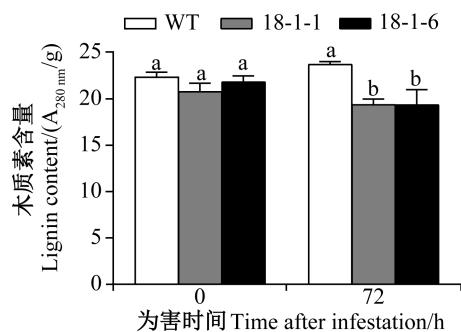
Table 1 Volatile matters emitted from wild-type and *OsLRR-RLK18* gene-knockout rice infested by *Nilaparvata lugens* %

挥发物 Volatile matter	野生型水稻品系 Wild-type rice line	基因敲除水稻品系 18-1-1 Gene-knockout rice line 18-1-1	基因敲除水稻品系 18-1-6 Gene-knockout rice line 18-1-6
2-庚酮 2-heptanone	0.421±0.034 b	1.055±0.080 a	0.929±0.044 a
2-庚醇 2-heptanol	0.355±0.030 b	0.901±0.064 a	0.715±0.020 a
α-蒎烯 α-pinene	0.140±0.003 a	0.089±0.017 a	0.098±0.014 a
柠檬烯 (+)-limonene	0.148±0.011 c	0.246±0.004 a	0.209±0.006 b
芳樟醇氧化物 (E)-linalool oxide	0.984±0.022 a	0.123±0.022 a	0.106±0.006 a
芳樟醇 Linalool	0.143±0.016 b	3.265±0.379 a	2.598±0.198 a
水杨酸甲酯 Methyl salicylate	0.268±0.007 b	0.564±0.039 a	0.399±0.031 a
α-姜烯 α-zingiberene	0.136±0.008 a	0.130±0.001 a	0.134±0.016 a
β-红没药烯 β-bisabolene	0.188±0.022 a	0.125±0.020 a	0.102±0.007 a

表中数据为平均数±标准误。同行不同小写字母表示经Tukey's HSD检验法检验差异显著( $P<0.05$ )。Data are mean±SE. Different lowercase letters in the same row indicate significant difference by Tukey's HSD test ( $P<0.05$ )。

### 2.6.2 对木质素含量的影响

褐飞虱未为害时,*OsLRR-RLK18*基因敲除水稻品系中木质素含量与野生型水稻品系无差别,但褐飞虱为害72 h后,*OsLRR-RLK18*基因敲除水稻品系中木质素含量均显著低于野生型水稻品系的( $P<0.05$ ,图6)。



WT: 野生型水稻品系; 18-1-1 和 18-1-6: *OsLRR-RLK18* 基因敲除水稻品系。WT: Wide-type rice line; 18-1-1 and 18-1-6: *OsLRR-RLK18* gene-knockout rice line.

图6 *OsLRR-RLK18*基因对褐飞虱为害后  
水稻叶鞘中木质素含量的影响

Fig. 6 Effects of *OsLRR-RLK18* on lignin content in rice infested by *Nilaparvata lugens*

图中数据为平均数±标准误。不同小写字母表示同时间不同水稻品系之间经Tukey's HSD检验法检验差异显著( $P<0.05$ )。Data are mean±SE. Different lowercase letters indicate significant difference among different rice lines at the same time by Tukey's HSD test ( $P<0.05$ )。

### 2.6.3 对酚胺和类黄酮含量的影响

褐飞虱为害72 h后,野生型水稻品系中对香豆酰腐胺含量较为害前显著增加( $P<0.05$ ),樱桃苷、大波斯菊苷和刺苞菊苷3种类黄酮含量较为害前显著降低( $P<0.05$ ,图7)。褐飞虱为害前,2个*OsLRR-RLK18*基因敲除水稻品系中对香豆酰腐胺、樱桃苷和大波斯菊苷含量与野生型水稻品系的无显著差异,刺苞菊苷含量较野生型水稻品系的显著降低( $P<0.05$ );褐飞虱为害72 h后,2个*OsLRR-RLK18*基因敲除水稻品系中对香豆酰腐胺及樱桃苷、刺苞菊苷和大波斯菊苷3种类黄酮含量均较野生型水稻品系的显著降低( $P<0.05$ ,图7)。

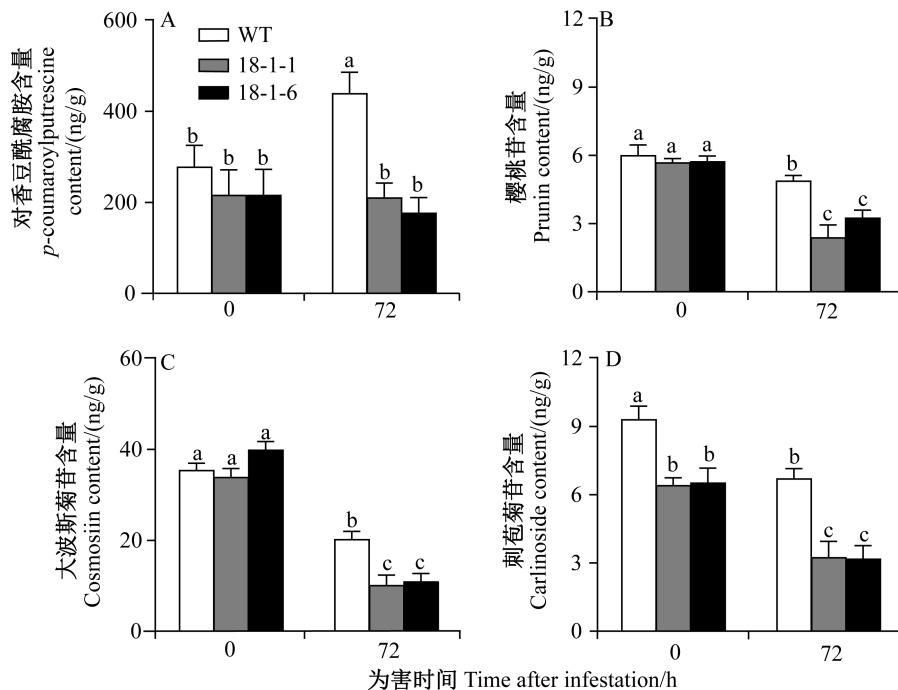
综上所述,敲除*OsLRR-RLK18*基因能提高褐飞虱为害后水稻挥发物的释放,降低褐飞虱为害后水稻中木质素、对香豆酰腐胺、樱桃苷、刺苞菊苷和大波斯菊苷的含量。

## 3 讨论

LRR-RLK已被证明参与调控植物生长发育、应对非生物胁迫及生物胁迫等生物学过程,包括应对植食性昆虫为害(Bommert et al., 2005; Mithoe & Menke, 2018; Erb & Reymond, 2019)。如在烟草 *Nicotiana attenuata* 中 *NaBAK1* 基因被沉默后,植株体内被机械损伤与烟草天蛾 *Manduca sexta* 口腔分泌物诱导产生的JA和JA-Ile含量均较正常植株显著

降低(Yang et al., 2011);在水稻中 *OsLRR-RLK1* 和 *OsLRR-RLK2* 均作用于 MPK 级联上游,正调控 *OsMPK3/OsMPK6* 的磷酸化活性以及转录因子 WRKY 的转录水平,进而正调控害虫诱导产生的 JA 和 ET 含量,负调控 SA 与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 的生物合成,最终影响水稻对二化螟和褐飞虱的抗性(Hu et al., 2018; Ye et al., 2020)。本研究结果发现在 *OsLRR-RLK18* 基因敲除水稻品系中褐飞虱为害后期(48 h)诱导的

JA、JA-Ile 和 ABA 含量较野生型水稻品系的显著增加,水稻组成型(未受褐飞虱为害)和褐飞虱为害前(6 h 和 12 h)诱导的 SA 与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 含量较野生型水稻品系的显著下降,表明水稻中 *OsLRR-RLK18* 负调控 JA 与 ABA 信号通路,正调控 SA 与 H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> 信号通路,但 *OsLRR-RLK18* 究竟如何影响这些信号分子还需要进一步解析。



WT: 野生型水稻品系; 18-1-1 和 18-1-6: *OsLRR-RLK18* 基因敲除水稻品系。WT: Wide type rice; 18-1-1 and 18-1-6: *OsLRR-RLK18* gene-knockout rice.

图 7 *OsLRR-RLK18* 基因对褐飞虱为害后水稻叶鞘中对香豆酰腐胺(A)、樱桃昔(B)、大波斯菊昔(C)和刺苞菊昔(D)含量的影响

Fig. 7 Effects of *OsLRR-RLK18* on *p*-coumaroyl putrescine (A), prunin (B), cosmoiin (C) and carlinoside (D) contents in rice infested by *Nilaparvata lugens*

图中数据为平均数±标准误。不同小写字母表示同时间不同水稻品系之间经 Tukey's HSD 检验法检验差异显著(*P*<0.05)。Data are mean±SE. Different lowercase letters indicate significant difference among different rice lines at the same time by Tukey's HSD test (*P*<0.05).

褐飞虱雌成虫为害不仅能诱导肉桂酰腐胺、对香豆酰腐胺和阿魏酰酷胺等多种酚胺,柚皮素、樱花素、芦丁和芹菜素-5-O-葡萄糖苷等黄酮类化合物以及木质素、胼胝质含量增加,而且还能诱导多种水稻挥发物的释放(刘晓丽和娄永根,2018; Chen et al., 2019; Xu et al., 2021)。樱花素、对香豆酰腐胺、肉桂酰腐胺和阿魏酰腐胺是影响稻飞虱生存和发育的重要防御化合物(Wang et al., 2020);木质素和胼胝质则分别通过改变水稻次生壁强度和阻塞水稻韧皮部等在一定程度上增加褐飞虱为害(取食和产卵)水稻

的难度(杨丽等,2013);2-庚酮、2-庚醇和芳樟醇对褐飞虱有驱避作用(Lu et al., 2014),而芳樟醇和水杨酸甲酯能吸引稻飞虱卵期寄生蜂稻虱缨小蜂 *Anagrus nilaparvatae*,进而提高天敌对稻飞虱的控害作用,即提高植株间接防御能力(Wang & Lou, 2013)。本研究结果发现,褐飞虱为害后 *OsLRR-RLK18* 基因敲除水稻品系中 2-庚酮、2-庚醇、柠檬烯、芳樟醇和水杨酸甲酯 5 种水稻挥发物的含量均较野生型水稻品系的增加,但褐飞虱为害后对香豆酰腐胺及樱桃昔、刺苞菊昔和大波斯菊昔 3 种类黄

酮的含量均较野生型水稻品系的显著降低。因为JA介导的信号途径正调控水稻中类黄酮、酚胺类化合物以及水稻挥发物的生物合成(Chen et al., 2019; Xu et al., 2021),而ABA介导的信号途径有利于胼胝质的沉积(Adie et al., 2007);此外苯丙氨酸解氨酶不仅是重要的防御酶(Gho et al., 2020),也是植物激素SA以及类黄酮、酚胺类和木质素等苯丙烷类化合物生物合成的关键前体(Zhang et al., 2021),所以初步推测敲除OsLRR-RLK18基因可能通过降低苯丙氨酸解氨酶含量来削弱水稻组成型和褐飞虱为害后的SA、酚胺、类黄酮和木质素含量,但也通过激活JA信号途径来促进害虫诱导的水稻挥发物的释放,释放的这些挥发物不易于褐飞虱产卵及卵孵化。后续试验需要进一步解析OsLRR-RLK18对水稻苯丙氨酸解氨酶、胼胝质以及酚胺、类黄酮等防御化合物的影响以及明确ABA信号通路在OsLRR-RLK18介导的水稻抗虫性中的作用。

### 参 考 文 献 (References)

- Adie B, Pérez-Pérez J, Pérez-Pérez MM, Godoy M, Sánchez-Serrano JJ, Schmelz EA, Solano R. 2007. ABA is an essential signal for plant resistance to pathogens affecting JA biosynthesis and the activation of defenses in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 19(5): 1665–1681
- Arimura GI. 2021. Making sense of the way plants sense herbivores. *Trends in Plant Science*, 26(3): 288–298
- Berens ML, Berry HM, Mine A, Argueso CT, Tsuda K. 2017. Evolution of hormone signaling networks in plant defense. *Annual Review of Phytopathology*, 55: 401–425
- Bommert P, Satoh-Nagasawa N, Jackson D, Hirano HY. 2005. Genetics and evolution of inflorescence and flower development in grasses. *Plant & Cell Physiology*, 46(1): 69–78
- Chen X, Wang DD, Fang X, Chen XY, Mao YB. 2019. Plant specialized metabolism regulated by jasmonate signaling. *Plant & Cell Physiology*, 60(12): 2638–2647
- Cui Y, Hu C, Zhu Y, Cheng K, Li X, Wei Z, Xue L, Lin F, Shi H, Yi J, et al. 2018. CIK receptor kinases determine cell fate specification during early anther development in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 30(10): 2383–2401
- Erb M, Reymond P. 2019. Molecular interactions between plants and insect herbivores. *Annual Review of Plant Biology*, 70: 527–557
- Gho YS, Kim SJ, Jung KH. 2020. Phenylalanine ammonia-lyase family is closely associated with response to phosphate deficiency in rice. *Genes Genomics*, 42(1): 67–76
- Gomez SM, Lo SH, Rzhetsky A. 2001. Probabilistic prediction of unknown metabolic and signal-transduction networks. *Genetics*, 159(3): 1291–1298
- Gou X, He K, Yang H, Yuan T, Lin H, Clouse SD, Li J. 2010. Genome-wide cloning and sequence analysis of leucine-rich repeat receptor-like protein kinase genes in *Arabidopsis thaliana*. *BMC Genomics*, 11: 19
- Hu C, Zhu Y, Cui Y, Zeng L, Li S, Meng F, Huang S, Wang W, Kui H, Yi J, et al. 2022. A CLE-BAM-CIK signaling module controls root protophloem differentiation in *Arabidopsis*. *New Phytologist*, 233(1): 282–296
- Hu H, Wang J, Shi C, Yuan C, Peng C, Yin J, Li W, He M, Wang J, Ma B, et al. 2015. A receptor like kinase gene with expressional responsiveness on *Xanthomonas oryzae* pv. *oryzae* is essential for Xa21-mediated disease resistance. *Rice*, 8(1): 34
- Hu L, Ye M, Kuai P, Ye M, Erb M, Lou Y. 2018. OsLRR-RLK1, an early responsive leucine-rich repeat receptor-like kinase, initiates rice defense responses against a chewing herbivore. *New Phytologist*, 219(3): 1097–1111
- Kuai P, Lou YG. 2022. Research advances in biology, ecology and management of rice planthoppers. *Journal of Zhejiang University (Agriculture and Life Sciences)*, 48(6): 692–700 (in Chinese) [蒯鹏, 娄永根. 2022. 稻飞虱生物学、生态学及其防控技术研究进展. 浙江大学学报(农业与生命科学版), 48(6): 692–700]
- Li R, Wang M, Wang Y, Schuman MC, Weinhold A, Schäfer M, Jiménez-Alemán GH, Barthel A, Baldwin IT. 2017. Flower-specific jasmonate signaling regulates constitutive floral defenses in wild tobacco. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 114(34): E7205–E7214
- Liu XL, Lou Y. 2018. Comparison of the defense responses in rice induced by brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål) and white-backed planthopper *Sogatella furcifera* (Horváth). *Journal of Plant Protection*, 45(5): 971–978 (in Chinese) [刘晓丽, 娄永根. 2018. 褐飞虱与白背飞虱为害诱导水稻防御反应的比较. 植物保护学报, 45(5): 971–978]
- Liu XS, Liang CC, Hou SG, Wang X, Chen DH, Shen JL, Zhang W, Wang M. 2020. The LRR-RLK protein HSL3 regulates stomatal closure and the drought stress response by modulating hydrogen peroxide homeostasis. *Frontiers in Plant Science*, 11: 548034
- Lou YG, Du MH, Turlings TC, Cheng JA, Shan WF. 2005. Exogenous application of jasmonic acid induces volatile emissions in rice and enhances parasitism of *Nilaparvata lugens* eggs by the parasitoid *Anagrus nilaparvatae*. *Journal of Chemical Ecology*, 31(9): 1985–2002
- Lu HP, Liu SM, Xu SL, Chen WY, Zhou X, Tan YY, Huang JZ, Shu QY. 2017. CRISPR-S: an active interference element for a rapid and inexpensive selection of genome-edited, transgene-free rice plants. *Plant Biotechnology Journal*, 15(11): 1371–1373
- Lu J, Li J, Ju H, Liu X, Erb M, Wang X, Lou Y. 2014. Contrasting effects of ethylene biosynthesis on induced plant resistance against a chewing and a piercing-sucking herbivore in rice. *Molecular Plant*, 7(11): 1670–1682
- Luu DD, Joe A, Chen Y, Parrys K, Bahar O, Pruitt R, Chan LJG, Petzold CJ, Long K, Adamchak C, et al. 2019. Biosynthesis and se-

- cretion of the microbial sulfated peptide RaxX and binding to the rice XA21 immune receptor. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America*, 116(17): 8525–8534.
- Mithoe SC, Menke FL. 2018. Regulation of pattern recognition receptor signaling by phosphorylation and ubiquitination. *Current Opinion in Plant Biology*, 45(PtA): 162–170.
- Poretsky E, Ruiz M, Ahmadian N, Steinbrenner AD, Dressano K, Schmelz EA, Huffaker A. 2021. Comparative analyses of responses to exogenous and endogenous antiherbivore elicitors enable a forward genetics approach to identify maize gene candidates mediating sensitivity to herbivore-associated molecular patterns. *Plant Journal*, 108(5): 1295–1316.
- Pruitt RN, Schwessinger B, Joe A, Thomas N, Liu F, Albert M, Robinson MR, Chan L, Luu DD, Chen H, et al. 2015. The rice immune receptor XA21 recognizes a tyrosine-sulfated protein from a gram-negative bacterium. *Science Advances*, 1(6): e1500245.
- Santos SD, Lambertsen KL, Clausen BH, Akinc A, Alvarez R, Finsen B, Saraiva MJ. 2010. CSF transthyretin neuroprotection in a mouse model of brain ischemia. *Journal of Neurochemistry*, 115(6): 1434–1444.
- Shen WZ, Zhang X, Liu JE, Tao KH, Li C, Xiao S, Zhang WQ, Li JF. 2022. Plant elicitor peptide signaling confers rice resistance to piercing-sucking insect herbivores and pathogens. *Plant Biotechnology Journal*, 20(5): 991–1005.
- Stahl EA, Breen G, Forstner AJ, McQuillin A, Ripke S, Trubetskoy V, Mattheisen M, Wang Y, Coleman JRI, Gaspar HA, et al. 2019. Genome-wide association study identifies 30 loci associated with bipolar disorder. *Nature Genetics*, 51(5): 793–803.
- Sun X, Wang GL. 2011. Genome-wide identification, characterization and phylogenetic analysis of the rice LRR-kinases. *PLoS ONE*, 6(3): e16079.
- Tzin V, Fernandez-Pozo N, Richter A, Schmelz EA, Schoettner M, Schäfer M, Ahern KR, Meihls LN, Kaur H, Huffaker A, et al. 2015. Dynamic maize responses to aphid feeding are revealed by a time series of transcriptomic and metabolomic assays. *Plant Physiology*, 169(3): 1727–1743.
- Wang P, Lou YG. 2013. Screening and field evaluation of synthetic plant volatiles as attractants for *Anagrus nilaparvatae* Pang et Wang, an egg parasitoid of rice planthoppers. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 50(2): 431–440.
- Wang WW, Yu ZX, Meng JP, Zhou PY, Luo T, Zhang J, Wu J, Lou YG. 2020. Rice phenolamides reduce the survival of female adults of the white-backed planthopper *Sogatella furcifera*. *Scientific Reports*, 10(1): 5778.
- Wang X, Liu Q, Meissle M, Peng Y, Wu K, Romeis J, Li Y. 2018. Bt rice could provide ecological resistance against nontarget planthoppers. *Plant Biotechnology Journal*, 16(10): 1748–1755.
- Xu J, Wang X, Zu H, Zeng X, Baldwin IT, Lou Y, Li R. 2021. Molecular dissection of rice phytohormone signaling involved in resistance to a piercing-sucking herbivore. *New Phytologist*, 230(4): 1639–1652.
- Xu Q, Yin XR, Zeng JK, Ge H, Song M, Xu CJ, Li X, Ferguson IB, Chen KS. 2014. Activator- and repressor-type MYB transcription factors are involved in chilling injury induced flesh lignification in loquat via their interactions with the phenylpropanoid pathway. *Journal of Experimental Botany*, 65(15): 4349–4359.
- Yamaguchi Y, Huffaker A, Bryan AC, Tax FE, Ryan CA. 2010. PEPR2 is a second receptor for the Pep1 and Pep2 peptides and contributes to defense responses in *Arabidopsis*. *The Plant Cell*, 22(2): 508–522.
- Yang DH, Hettenhausen C, Baldwin IT, Wu J. 2011. BAK1 regulates the accumulation of jasmonic acid and the levels of trypsin proteinase inhibitors in *Nicotiana attenuata*'s responses to herbivory. *Journal of Experimental Botany*, 62(2): 641–652.
- Yang L, Chen JM, Zhang HQ, Zhang JF, He YP. 2013. Effects of brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) (Homoptera: Delphacidae), feeding on callose deposition in rice with different tolerance. *Chinese Journal of Rice Science*, 27(6): 624–632 (in Chinese) [杨丽, 陈建明, 张海强, 张珏峰, 何月平. 2013. 褐飞虱取食对不同耐虫性水稻胼胝质沉积的影响. 中国水稻科学, 27(6): 624–632].
- Ye M, Kuai P, Hu L, Ye M, Sun H, Erb M, Lou Y. 2020. Suppression of a leucine-rich repeat receptor-like kinase enhances host plant resistance to a specialist herbivore. *Plant, Cell & Environment*, 43(10): 2571–2585.
- Zhang H, Huang Q, Yi L, Song X, Li L, Deng G, Liang J, Chen F, Yu M, Long H. 2021. PAL-mediated SA biosynthesis pathway contributes to nematode resistance in wheat. *Plant Journal*, 107(3): 698–712.
- Zhou F, Guo Y, Qiu LJ. 2016. Genome-wide identification and evolutionary analysis of leucine-rich repeat receptor-like protein kinase genes in soybean. *BMC Plant Biology*, 16: 58.

(责任编辑:张俊芳)