

沉默水稻 *OsJMJ715* 基因对白背飞虱卵发育的影响Influence of silencing *OsJMJ715* in rice on egg development of the white-back planthopper  
*Sogatella furcifera*

张月白 邓 易 娄永根 吕 静\*

(浙江大学昆虫科学研究所, 杭州 310058)

Zhang Yuebai Deng Yi Lou Yonggen Lü Jing\*

(Institute of Insect Sciences, Zhejiang University, Hangzhou 310058, Zhejiang Province, China)

E3 泛素连接酶已被广泛证实参与调控植物应答外界非生物及生物胁迫 (Kelley & Estella, 2012)。本课题组已证实水稻 *OsJMJ715* 蛋白具有体外 E3 连接酶活性, 通过影响脱落酸 (abscisic acid, ABA)、茉莉酸 (jasmonic acid, JA) 信号途径及胍胍质积累负调控水稻对褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 的抗性 (Zhang et al., 2021), 但 *OsJMJ715* 是否参与水稻与其他害虫的互作尚不清楚。因此, 本研究以水稻害虫白背飞虱 *Sogatella furcifera* 为对象, 分析水稻 *OsJMJ715* 基因对白背飞虱卵发育的影响, 以期为抗虫水稻种质资源的发掘提供理论依据。

## 1 材料与方法

## 1.1 材料

供试水稻及昆虫: 水稻为沉默 *OsJMJ715* 基因的品系 R9 和 R10 (*OsJMJ715*-RNAi 转基因 T3 代纯合品系) 及其亲本秀水 110 (XS110) (Zhang et al., 2021), 种子由本课题组保存并提供。将种子用清水浸泡后, 于温度 (28±2) °C、光周期 L14 h:D 10 h 条件下进行催芽, 1 周后将幼苗移栽至营养液 (Yoshida et al., 1971) 中, 于温度 (28±2) °C、光周期 L14 h:D 10 h、相对湿度 60% 条件下进行培养。生长 3 周后, 单株水稻转移至小塑料杯中, 恢复 1 周后供试。白背飞虱种群采自浙江大学紫金港校区试验田, 于温度 (28±2) °C、光周期 L14 h:D 10 h、相对湿度 60% 条件下培养继代, 取初羽化的雌成虫和雄成虫按 2:1 的比例挑选至新的养虫笼中继续饲养, 选取交配 3 d 后的怀卵雌成虫供试。

试剂及仪器: 乙酸乙酯, 德国 MERCK 有限公司; JA、茉莉酸-异亮氨酸 (jasmonic acid-isoleucine, JA-Ile)、ABA 内标, 德国马普化学生态研究所; 其余

试剂均为国产分析纯。Triple Quad LC/MS 三重四级杆质谱联用仪, 美国 Agilent 公司; SMZ460 体视镜, 日本 Nikon 公司。

## 1.2 方法

选取生长一致的水稻品系 XS110、R9 和 R10, 在水稻叶鞘基部套入 1 个直径 4 cm、高 10 cm 的圆筒形玻璃罩, 筒壁密布直径 0.5 mm 的透气小孔, 玻璃罩内接入 10 头白背飞虱怀卵雌成虫, 顶部以海绵密封, 于接虫后 0、4、12、24 h 剪取玻璃罩内的水稻叶鞘, 于 -80 °C 保存备用。

选取生长一致的水稻品系 XS110、R9 和 R10 各 10 株, 每株水稻接入 10 头白背飞虱怀卵雌成虫, 方法同上, 24 h 后去除白背飞虱, 继续培养至若虫孵出。每天记录新孵化的若虫数并将其去除, 直至连续 3 d 未有若虫孵出为止。剪取玻璃罩内的水稻叶鞘, 于体视显微镜下统计未孵化的卵数。计算平均产卵量、卵的平均发育历期和孵化率。试验设 10 次生物学重复。

本试验对水稻内源激素 JA、JA-Ile 和 ABA 的含量进行测定。称取 150 mg 液氮研磨后的水稻叶鞘组织, 加入 1 mL 含有内标 (10 ng/mL <sup>2</sup>D<sub>2</sub> JA、8 ng/mL <sup>2</sup>D<sub>6</sub> JA-Ile 和 40 mg/mL <sup>2</sup>D<sub>6</sub> ABA) 的乙酸乙酯, 振荡混匀 10 min 后, 13 000 r/min、4 °C 下离心 20 min; 将上清液转移至新的离心管中, 30 °C 浓缩至干后, 加入 200 μL 70% 甲醇充分振荡混匀, 13 000 r/min 离心 10 min。参照 Vadassery et al. (2012) 方法使用质谱联用仪测定样品中 3 种激素的含量。试验设 6 次生物学重复。

以上试验均在温度 (28±2) °C、光周期 L14 h:D 10 h、相对湿度 60% 的温室中进行。

### 1.3 数据分析

采用SPSS 20.0软件对试验数据进行单因素方差分析,用Kolmogorov-Smirnov test进行数据正态性检验,用Levene's test进行方差齐性检验,用Duncan氏新复极差法进行差异显著检验。

## 2 结果与分析

### 2.1 沉默 *OsJMJ715* 影响白背飞虱卵的发育

沉默 *OsJMJ715* 不影响白背飞虱雌成虫的产卵量,但显著降低了卵的孵化率,与水稻品系XS110相比,水稻品系R9和R10上白背飞虱卵的孵化率分别下降了45.2%和26.1%,且发育历期也有所延长,表明 *OsJMJ715* 负调控水稻对白背飞虱的抗性。

### 2.2 沉默 *OsJMJ715* 影响水稻激素合成

白背飞虱为害能够迅速而强烈地诱导水稻激素合成,其中,为害4 h时JA和JA-Ile含量达到峰值,ABA水平则持续升高(图1)。表明沉默 *OsJMJ715* 不影响JA、JA-Ile和ABA本底的积累。白背飞虱为害24 h时,沉默 *OsJMJ715* 水稻品系R10中JA和JA-Ile的含量显著高于XS110。从白背飞虱为害4 h开始,沉默水稻品系R9和R10中ABA的含量即显著高于XS110中的含量,且随着白背飞虱为害时间的延长而持续升高。综合来看,沉默 *OsJMJ715* 显著提高了白背飞虱诱导的3种激素积累(图1),表明 *OsJMJ715* 负调控白背飞虱诱导的JA、JA-Ile和ABA合成。

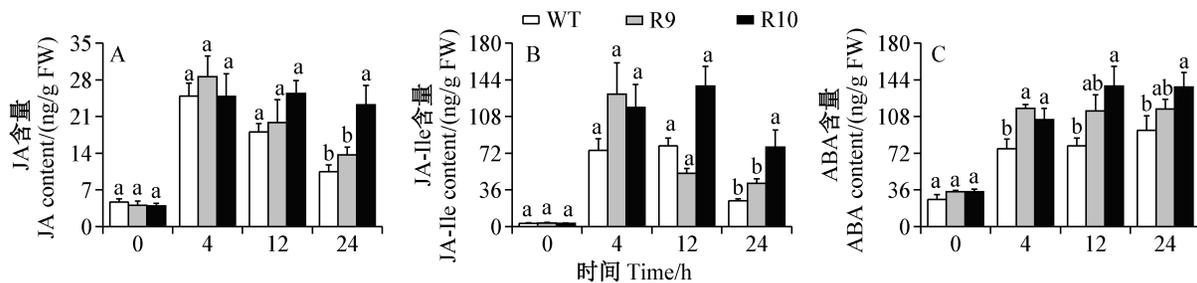


图1 白背飞虱怀卵雌成虫为害后沉默 *OsJMJ715* 水稻品系R9、R10及XS110叶鞘中JA(A)、JA-Ile(B)和ABA(C)的含量

Fig. 1 The levels of JA (A), JA-Ile (B) and ABA (C) in *OsJMJ715*-silenced lines R9 and R10 or XS110 sheath

infested with gravid *Sogatella furcifera* females

图中数据为平均数+标准误。不同字母表示经Duncan氏新复极差法检验差异显著( $P < 0.05$ )。Data are mean±SE. Different letters indicate significant difference by Duncan's new multiple range test ( $P < 0.05$ ).

## 3 讨论

*OsJMJ715* 蛋白已被证实负调控水稻对白背飞虱的抗性(Zhang et al., 2021),本研究也获得类似结论,发现取食沉默 *OsJMJ715* 水稻后也不利于白背飞虱卵的发育,表明水稻很可能采取了相同(相似)的防御机制应答2种飞虱为害。*OsJMJ715* 是否会影响白背飞虱取食、存活等其他生物学特性及水稻耐害性还有待进一步研究。JA信号途径是水稻诱导抗虫反应的核心调控者(刘晓丽和娄永根,2018),ABA在植物抵御植食性昆虫中的作用近年来也得到了逐步揭示(丁旭等,2019),本研究结果显示,沉默 *OsJMJ715* 水稻被白背飞虱为害后JA和ABA含量升高,据此推测 *OsJMJ715* 很可能通过JA和ABA信号途径来影响水稻对白背飞虱的抗性,其具体分子机制还有待进一步验证。

### 参考文献 (References)

Ding X, Huang Q, Deng QY, Wu JC, Liu JL. 2019. Research progress of abscisic acid in plant resistance to pest. *Journal of Environmental Entomology*, 41(4): 808-813 (in Chinese) [丁旭, 黄茜, 邓沁

宇, 吴进才, 刘井兰, 2019. 脱落酸在植物抗虫性中的作用研究进展. *环境昆虫学报*, 41(4): 808-813]  
Kelley DR, Estella M. 2012. Ubiquitin-mediated control of plant hormone signaling. *Plant Physiology*, 160(1): 47-55  
Liu XL, Lou YG. 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]  
Vadassery J, Reichelt M, Hause B, Gershenzon J, Boland W, Mithöfer A. 2012. CML42-mediated calcium signaling coordinates responses to *Spodoptera* herbivory and abiotic stresses in *Arabidopsis*. *Plant Physiology*, 159(3): 1159-1175  
Yoshida S, Forno DA, Cock JH, Gomez KA. 1976. Laboratory manual for physiological studies of rice. Manila, Philippines: The International Rice Research Institute, pp. 1-83  
Zhang YB, Chen MT, Zhou SX, Lou YG, Lu J. 2021. Silencing an E3 ubiquitin ligase gene *OsJMJ715* enhances the resistance of rice to a piercing-sucking herbivore by activating ABA and JA signaling pathways. *International Journal of Molecular Science*, 22(23): 13020

(责任编辑:王璇)