

DOI: 10.13376/j.cblls/2018129

文章编号: 1004-0374(2018)10-1072-11



何光存, 武汉大学生命科学院教授。长期从事水稻抗虫遗传学基础研究和应用基础研究, 在水稻资源利用和抗虫基因的发掘、鉴定与功能研究等方面取得了一系列重要进展。鉴定和定位了多个抗褐飞虱基因和抗白背飞虱基因, 为水稻育种提供了优异的抗虫基因资源。应用图位克隆法在国际上成功克隆了首个抗褐飞虱基因 *Bph14*。其后克隆了 *Bph15*、*Bph6*、*Bph9* 及其等位基因 *Bph1*、*Bph7*、*Bph10* 和 *Bph21*; 揭示了水稻抗褐飞虱分子机理。在 *Nat Genet*、*PNAS*、*Plant Cell* 等国际学术刊物上发表论文 70 多篇, 获国家发明专利授权 6 项, 国际专利授权 3 项。获 2008 年湖北省自然科学奖一等奖、2011 年大北农业科技奖特等奖、2017 年湖北省技术发明奖一等奖。

抗褐飞虱基因的发掘、鉴定与利用

杜 波, 陈荣智, 何光存*

(武汉大学杂交水稻国家重点实验室, 武汉 430072)

摘 要: 水稻是我国最重要的粮食作物, 而褐飞虱是水稻生产中的主要害虫, 培育与利用抗褐飞虱的水稻品种是综合防治褐飞虱的基础。现从水稻抗褐飞虱种质资源、水稻抗褐飞虱基因的定位与克隆、水稻抗褐飞虱的分子机理, 以及抗褐飞虱水稻的培育等方面, 综述水稻抗褐飞虱基因研究的最新成果。

关键词: 水稻; 抗褐飞虱基因; 抗虫机理

中图分类号: Q812; S511 **文献标志码:** A

Exploitation, identification and utilization of brown planthopper resistance genes in rice

DU Bo, CHEN Rong-Zhi, HE Guang-Cun*

(State Key Laboratory of Hybrid Rice, College of Life Sciences, Wuhan University, Wuhan 430072, China)

Abstract: Brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål, BPH) is one of the most destructive pests in rice production worldwide. The most economical and environment-friendly strategy to control this insect is to grow BPH-resistant rice varieties. Here, we reviewed the recent progresses in BPH-resistant germplasm, mapping and cloning of BPH-resistance genes, molecular mechanisms of rice resistance to BPH, and breeding methods for BPH-resistant variety. These studies have contributed to development of new rice varieties, offering an effective means for long-lasting control of BPH.

Key words: rice; BPH resistance gene; resistance mechanism

水稻是我国最重要的粮食作物, 水稻生产直接关系到我国粮食安全、农民增收和农村稳定。褐飞

虱是水稻生产中为害最严重的害虫。我国褐飞虱发生面积在 2 500 万 hm^2 以上, 造成的直接产量损失

收稿日期: 2018-09-19

基金项目: 国家重点研发计划“水稻功能基因组研究与应用”(2016YFD0100900)

*通信作者: E-mail: gche@whu.edu.cn

百万吨以上^[1-2]。褐飞虱还在泰国、越南、印度尼西亚等水稻主产国大面积发生,造成水稻减产,成为2003年以来稻米价格上升的重要原因之一^[3]。此外,褐飞虱还是一些水稻病毒病,如草状丛矮病和齿叶矮缩病等的传播媒介^[4]。目前种植的大多数水稻品种对褐飞虱抗性较差,水稻生产中主要依靠化学杀虫剂来防治褐飞虱。然而,化学杀虫剂的过度使用会污染环境,杀死褐飞虱的天敌,并诱发褐飞虱产生抗药性,从而导致褐飞虱的“再猖獗”^[5]。农药长期使用导致防治效果下降,使得依靠特效农药已不能实现褐飞虱可持续治理的目标^[6-7]。

种植抗褐飞虱水稻品种是褐飞虱综合防治的基础,品种抗性与健康栽培、生物防治、农药防治等措施有很好的相容性,生态安全,并且不会增加农民的负担而易于推广普及。因此,提高水稻品种抗虫性是国际发展趋势,也是我国防治褐飞虱为害的重要策略^[8]。

1 水稻抗褐飞虱种质资源

水稻种质资源库包含野生稻和栽培稻等。从水稻资源中鉴定出的抗褐飞虱种质,是定位和克隆水稻抗褐飞虱基因、培育抗褐飞虱水稻品种的基础。

为了筛选抗褐飞虱的水稻种质资源,研究人员开发出了多种有效的鉴定方法,可以在温室或田间开展不同生长发育时期水稻抗虫性的鉴定与筛选。这些鉴定方法主要是通过评价水稻植株被褐飞虱取食后的受害程度,来确定水稻种质的抗虫水平。苗期团集法是国际水稻研究所开发的一种快速鉴定大量筛选种质的方法,当感虫对照台中本地1号(TN1)植株死亡时(9级),待鉴定品种的每株水稻根据其受害程度评为0~9级,而水稻品种的抗性水平用每株水稻抗性数值的加权平均值来表示^[9-10]。该方法筛选出来的抗虫材料可通过田间鉴定作进一步的评估。

国际水稻研究所于1969年首次发现了水稻抗褐飞虱种质资源Mudgo^[11],1971年,又找到了抗褐飞虱种质ASD7等^[12]。目前为止,研究人员已经在栽培稻和野生稻中筛选出一大批抗虫种质资源。野生稻在与昆虫长期共存的过程中,进化出了不受昆虫为害的保护机制,表现为野生稻种质具有对褐飞虱抗性的比例较高^[13],而且比栽培稻具有更广谱的抗性。总体来看,野生稻资源中抗褐飞虱资源丰富,热带地区农家种中抗源较多。这些种质为水稻抗褐飞虱的遗传改良提供了多样性的基因资源^[14]。

2 水稻抗褐飞虱基因的定位

国际水稻研究所最早开展了水稻抗褐飞虱基因的遗传定位研究。到目前为止,在水稻中已报道了30多个抗褐飞虱主效基因。从已经发现的抗褐飞虱基因来源来看,有16个抗褐飞虱基因来源于栽培稻(*Bph1-Bph9*、*bph19(t)*、*Bph25*、*Bph26*、*Bph28*、*Bph30-Bph32*),另外20个基因来源于野生稻。除*bph5*、*bph8*、*Bph22(T)*、*Bph23(T)*和*bph24(T)*之外^[15-18],大多数抗褐飞虱基因已定位在染色体上(表1)。

在栽培稻品种中,Athwal等^[12]最先从Mudgo中鉴定出抗褐飞虱显性基因*Bph1*,并发现了品种ASD7中的抗褐飞虱基因*bph2*,*Bph1*与*bph2*紧密连锁。其后,*Bph1*被定位到第12染色体上分子标记pBPH4和pBPH14之间^[19],*bph2*被定位到第12染色体的RM463与RM7102之间^[20]。2014年,Tamura等^[21]研究表明,*bph2*与*Bph26*是等位基因,定位在第12染色体分子标记DS72B4与DS173B之间。栽培稻品种Rathu Heenati的抗褐飞虱基因定位到第4染色体短臂,并命名为*Bph17*^[22],后来该位点被克隆并重新命名为*Bph3*^[23]。2010年,Jairin等^[24]将*bph4*定位在第6染色体RM589与RM586之间,与*Bph3*紧密连锁。Qiu等^[25]利用分子标记将*Bph6*精细定位于第4染色体上Y19与Y9之间大约25 kb的区间内,*Bph7*定位在第12染色体RM3448和RM313之间^[26]。Zhao等^[27]利用InDel和CAPS标记将*Bph9*定位于第12染色体的InD2和RsaI之间。*bph19(t)*来源于水稻品种AS20-1,被定位在水稻第3染色体的RM6308和RM3134之间^[28]。水稻品种ADR52有两个抗褐飞虱基因*Bph25*和*Bph26*,其中*Bph25*被定位在第6染色体S00310和RM8101之间^[29],*Bph26*则被定位于第12染色体DS72B4和DS173B之间^[21]。*Bph28*来源于水稻品种DV85,其被定位在第11染色体的两个InDel标记InDel155和InDel166之间^[30]。2018年,Wang等^[31]在水稻品种AC-1613中定位了一个新的显性抗褐飞虱基因,命名为*Bph30*,定位在第4染色体RM16294和RM16299之间。*Bph31*来源于印度的品种CR2711-76,对菲律宾的褐飞虱生物型和生物型4有很好的抗性,其被定位于第3染色体长臂的PA26和RM2334之间^[32]。*Bph32*来源于水稻品种Ptb33,被定位在第6染色体短臂RM19291和RM8072之间^[33]。

在野生稻资源中, *bph11*、*Bph12*、*Bph13*、*Bph14* 和 *Bph15* 这 5 个抗褐飞虱基因均是从药用野生稻 (*Oryza officinalis*) 杂交后代中鉴定出的抗性基因。Hirabayashi 等^[34] 将 *bph11* 定位于第 3 染色体长臂上, 与 G1318 相距 12.4 cM。*Bph12* 定位于第 4 染色体的 RM8213 与 RM261 之间^[35]。Renganayaki 等^[36] 利用重组自交系和 RAPD 标记将 *Bph13* 定位到第 3 染色体上, 与 AJ09b 相距 1.3 cM。*Bph14* 最初定位于第 3 染色体的 R1925 和 G1318 之间^[10], 最后精

细定位在 SM1-G1318 之间约 34 kb 的区段上^[37]。2004 年, Yang 等^[38] 将 *Bph15* 定位于第 4 染色体分子标记 RG1 和 RG2 之间。其他来自于野生稻的抗褐飞虱基因, 如 *bph18(t)*、*bph19(t)*、*bph22(t)*、*bph23(t)*、*bph24(t)*、*Bph27*、*bph29*、*bph30*、*Bph34* 被定位在水稻不同染色体上^[39-47]。

在已定位的水稻抗褐飞虱基因中, 一个显著特点是这些抗虫基因在水稻染色体上成簇分布^[48]。例如, 有 8 个抗褐飞虱基因 (*Bph1*、*bph2*、*bph7*、*Bph9*、

表1 水稻抗虫基因的定位

基因	水稻种质	染色体	连锁分子标记	参考文献
<i>Bph1</i>	Mudgo	12	pBPH4-pBPH14	[19]
<i>bph2</i>	ASD7	12	DS72B4-DS173B	[21]
<i>Bph3</i>	Rathu Heenati	4	RHD9-RHC10	[23]
<i>bph4</i>	Babawee	6	RM589-RM586	[24]
<i>bph5</i>	ARC 10550			[15]
<i>Bph6</i>	Swarnalata	4	Y19-Y9	[25]
<i>bph7</i>	T12	12	RM3448-RM313	[26]
<i>bph8</i>	Chin Saba			[16]
<i>Bph9</i>	Pokkali	12	InD2-RsaI	[27]
<i>Bph10</i>	<i>O. australiensis</i>	12	RG457	[39]
<i>bph11</i>	<i>O. officinalis</i>	3	G1318	[34]
<i>Bph12</i>	B14 (<i>O. officinalis</i>)	4	RM8213-RM261	[35]
<i>Bph13</i>	<i>O. officinalis</i>	3	AJ09 ₂₃₀ b	[36]
<i>Bph14</i>	B5 (<i>O. officinalis</i>)	3	SM1-G1318	[10, 37]
<i>Bph15</i>	B5 (<i>O. officinalis</i>)	4	RG1-RG2	[10, 38]
<i>Bph17</i>	Rathu Heenati	4	RM8213-RM5953	[22]
<i>Bph18</i>	<i>O. australiensis</i>	12	BIM3-BN162	[40]
<i>bph19(t)</i>	AS20-1	3	RM6308-RM3134	[28]
<i>bph18(t)</i>	<i>O. rufipogon</i>	4	RM273-RM6506	[41]
<i>bph19(t)</i>	<i>O. rufipogon</i>	12	RM17	[41]
<i>Bph20(T)</i>	IR71033-121-15 (<i>O. minuta</i>)	4	B42-B44	[42]
<i>Bph21(T)</i>	IR71033-121-15 (<i>O. minuta</i>)	12	S12094A-B122	[42]
<i>Bph22(T)</i>	<i>O. glaberrima</i>			[17]
<i>Bph23(T)</i>	<i>O. minuta</i>			[17]
<i>bph22(t)</i>	<i>O. rufipogon</i>	4	RM8212-RM261	[44]
<i>bph23(t)</i>	<i>O. rufipogon</i>	8	RM2655- RM3572	[44]
<i>bph24(t)</i>	IR 73678-6-9-B (<i>O. rufipogon</i>)			[18]
<i>Bph25</i>	ADR52	6	S00310-RM8101	[29]
<i>Bph26</i>	ADR52	12	DS72B4-DS173B	[21]
<i>Bph27</i>	<i>O. rufipogon</i>	4	RM16846-RM16853	[45]
<i>Bph28</i>	DV85	11	InDel55-InDel66	[30]
<i>bph29</i>	RBPH54 (<i>O. rufipogon</i>)	6	BYL8-BID2	[46]
<i>bph30</i>	RBPH54 (<i>O. rufipogon</i>)	10	RM222-RM244	[43]
<i>Bph30</i>	AC-1613	4	RM16294-RM16299	[31]
<i>Bph31</i>	CR2711-76	3	PA26-RM2334	[32]
<i>Bph32</i>	Ptb33	6	RM19291-RM8072	[33]
<i>Bph34</i>	IRGC104646 (<i>O. nivara</i>)	4	RM17007-RM16994	[47]

Bph10、*Bph18*、*Bph21* 和 *Bph26*) 成簇排列在水稻 12 号染色体上分子标记 RM7102 和 RM17 之间约 13.7 Mb 的区间; 4 号染色体分子标记 RM8213 和 RM5953 之间包含了 6 个水稻抗褐飞虱基因 (*Bph3*、*Bph12*、*Bph15*、*Bph17*、*Bph20* 和 *bph22*); 有 4 个基因 (*bph11*、*Bph13*、*Bph14* 和 *bph19*) 定位于 3 号染色体。由于研究者和所用材料均不相同, 这些成簇的基因可能是紧密连锁的基因, 也可能是同一位点的不同等位形式, 还可能是同一个等位基因对不同生物型褐飞虱的不同反应。

3 水稻抗褐飞虱基因的克隆

应用图位克隆法, 我国科学家已经成功克隆多个水稻抗褐飞虱基因。*Bph14* 是水稻中第一个克隆的抗褐飞虱基因^[37]。抗褐飞虱基因 *Bph14* 最初定位于水稻第 3 染色体长臂^[10]。用只含 *Bph14* 的重组自交系 RI35 与感虫水稻杂交, 构建定位群体, 通过高密度的定位图谱, 最终将 *Bph14* 定位在分子标记 SM1 和 G1318 之间 34 kb 的区段。通过预测基因的转基因功能分析, 成功克隆到 *Bph14*。*Bph14* 基因编码一个 1 323 个氨基酸的蛋白质, 其具有螺旋-螺旋 (coiled-coil, CC)、核苷酸结合位点 (nucleotide-binding site, NBS) 和富含亮氨酸重复序列 (leucine-rich repeat, LRR) 的结构域, 是一个典型的 NBS-LRR (NLR) 家族蛋白, 揭示了植物抗虫与抗病的共性。*Bph14* 基因主要在根、叶鞘和叶片维管束周围的薄壁细胞中表达。褐飞虱取食后, *Bph14* 基因激活了水杨酸依赖的抗性途径, 诱导筛管中胼胝质沉积, 减少了褐飞虱在水稻韧皮部的取食时间。*Bph14* 的转基因植株和近等基因系对褐飞虱呈抗生性, 抑制褐飞虱的取食、生长和发育。

Bph15 也是一个对褐飞虱具有高抗性的基因, 定位于第 4 染色体短臂的 C820-S11182 之间, 遗传分析表明 *Bph15* 比 *Bph14* 抗性更稳定^[10]。将只含有 *Bph15* 的重组自交系 RI93 与感性品种台中 1 号杂交构建分离群体, 应用 RM261 和 MS1 标记从 9 472 个 F₂ 单株中筛选到 48 个重组植株, 并开发新的 SSR 标记和 RFLP 标记, 构建高密度遗传图谱, 最终将 *Bph15* 定位于分子标记 RG1 和 RG2 之间, 通过筛选抗虫亲本 B5 基因组文库得到 BAC 克隆测序, 确认该区段为 47 kb^[38]。经过预测分析, 从该区段克隆了编码一种新型的凝集素受体激酶基因 *OsLecRK*^[49]。通过转基因功能分析, 证实了 *OsLecRK* 在水稻抗褐飞虱反应中起重要作用。进一步研究表

明, *OsLecRK* 与 *OsADF* 互作, 调控防卫基因的表达。*OsLecRK* 基因还调控 α -淀粉酶基因表达, 在水稻种子萌发过程中起作用。

Bph3 是水稻品种 Rathu Heenati (RH) 中的抗褐飞虱主效基因。利用 RH/02428 F₂ 群体将最主效的 QTL 定位在 4 号染色体短臂上^[22]。分析 RH/02428 的 F₂、BC₂F₂ 和 BC₃F₂ 群体, 最终将 *Bph3* 定位于 InDel 标记 RHD9 和 RHC10 之间约 79 kb 的区间。序列分析发现该区段有 3 个编码凝集素受体激酶的基因 (*OsLecRK1~3*), 并且在定位区间下游还存在另外一个 *OsLecRK4*, 这 4 个基因组成了一个受体激酶基因簇。将这 4 个基因作为候选基因进行进一步的转基因验证, 发现 *OsLecRK4* 对抗性无影响, 而 *OsLecRK1~3* 中, 转 3 个基因的植株对褐飞虱抗性比转 2 个基因的抗性增强, 认为 3 个 *OsLecRK* 基因对褐飞虱抗性具有累加作用; 将 *OsLecRK1~3* 干扰之后, 转基因植株对褐飞虱抗性水平的减弱和 3 个基因表达水平减弱的程度几乎一致。这些结果表明, *Bph3* 的抗性是 *OsLecRK1~3* 累加作用的结果^[23]。

bph29 是一个隐性抗褐飞虱基因, 来源于普通野生稻, 定位于 6 号染色体短臂分子标记 BID2 和 BYL8 之间 24 kb 的区段^[46]。*bph29* 编码一个 203 个氨基酸的蛋白, 具有保守的 B3 核酸结合域, 其定位于细胞核中, 可能作为一个转录因子参与水稻防御相关基因的调节。*bph29* 在维管束组织中特异表达。褐飞虱取食后, *bph29* 可激活水杨酸信号通路而抑制茉莉酸/乙烯信号通路。

Bph32 克隆自水稻品种 Ptb33, 也位于 6 号染色体短臂上, 该基因编码的是一种包含短共有重复序列 (short consensus repeat, SCR) 结构域的蛋白^[33]。在宽叶野生稻中存在与其核酸序列 100% 一致的等位基因, 说明该基因源于野生稻。

Bph9 克隆自籼稻品种 Pokkali^[27]。该基因编码一个罕见的含有两个 NBS 结构域的 NLR 蛋白, 定位于细胞内膜系统。*Bph9* 位于水稻 12 号染色体长臂上最大的一个抗褐飞虱基因簇中。该基因簇包含 *Bph9* 和另外 7 个抗褐飞虱基因 *Bph1*、*Bph2*、*Bph7*、*Bph10*、*Bph18*、*Bph21*、*Bph26*。研究表明, 这 8 个抗褐飞虱基因实际上是等位变异, 并分为 4 种等位型。具体为: *Bph1*、*Bph10*、*Bph18*、*Bph21* 序列一致性为 100%, 属于等位型 *Bph9-1*; *Bph2* 与 *Bph26* 序列相同, 为等位型 *Bph9-2*; *Bph7* 和 *Bph9* 分别代表另外两种等位型, 即等位型 *Bph9-7* 和 *Bph9-9*。进一步的实验表明, 4 种等位型对不同生物型褐飞

虱具有不同程度的抗性。其中 *Bph9-1* 抗褐飞虱生物型 1, *Bph9-2* 抗生物型 2, 等位型 *Bph9-7* 和 *Bph9-9* 则对 3 种生物型都有较强抗性。因此, *Bph9* 的等位变异使水稻得以应对褐飞虱生物型变异。

Bph6 是从水稻品种 Swarnalata 中克隆的抗褐飞虱主效基因。*Bph6* 定位于第 4 染色体长臂上^[25]。进一步分析 4 300 份 BC₃F₂ 植株, 将 *Bph6* 定位在 18.1 kb 的区段。通过候选基因的遗传转化和功能分析成功克隆了 *Bph6*^[50]。*Bph6* 是一种新类型的抗虫基因, 编码的蛋白定位于胞泌复合体 (exocyst) 中, 促进水稻细胞内蛋白向外分泌。*Bph6* 可以维持褐飞虱取食水稻植株中细胞壁的稳定, 并激活了水杨酸、茉莉酸和细胞分裂素信号途径, 降低了褐飞虱取食量、生长发育和存活率。*Bph6* 具有广谱抗性, 高抗多种生物型褐飞虱和白背飞虱。*Bph6* 是一个显性基因, 且不影响水稻产量和品质, 因而在杂交水稻抗虫育种中具有特别重要的应用价值。

4 水稻抗褐飞虱的分子机理

随着多个水稻抗褐飞虱基因的克隆, 其功能也日益清晰。目前已经克隆的水稻抗褐飞虱基因多种多样, 但主要有两类。一类是编码定位于细胞膜上的受体类激酶, 如 *Bph3* 和 *Bph15* 编码凝集素类受体激酶, 可能作为受体识别位于水稻细胞外的褐飞虱相关分子, 感受褐飞虱取食并启动抗性反应, 从而构成了水稻防御褐飞虱的第一道屏障。第二类是 *Bph14* 和 *Bph9* 及其等位基因编码定位于细胞内的 NB-LRR 蛋白, 可能识别褐飞虱分泌进入水稻细胞内的效应子, 产生更强的抗性反应, 作为水稻抗褐飞虱的第二道屏障 (图 1)^[51]。

突变体、转录组学、蛋白质组学、代谢组学等方法也相继应用于水稻抗虫研究, 积累了大量数据, 从而在抗虫机理方面有了愈来愈清晰的认识。研究表明, 水稻被褐飞虱取食时, 抗褐飞虱基因编码的受体识别了褐飞虱的效应子, 启动一系列的防卫反应相关的信号通路, 如细胞质钙离子浓度升高、MAPK 通路的激活和蛋白质磷酸化、植物激素的调控, 以及防御基因表达等。上述事件最终形成了抗虫机制。

4.1 褐飞虱的效应子

褐飞虱取食水稻的过程中分泌唾液进入水稻组织, 唾液中的成分可能会抑制寄主水稻的防御反应, 有利于褐飞虱对水稻的取食; 有的唾液成分则可能被水稻免疫系统识别, 激活寄主植物的抗虫反应。

目前, 已有多篇关于褐飞虱唾液腺转录组和唾液蛋白质组的报道。近年来, 研究人员分离得到了多个唾液鞘或唾液蛋白, 研究其在褐飞虱与水稻互动中的功能。褐飞虱唾液中含有 β -葡萄糖苷酶, 用 β -葡萄糖苷酶处理水稻能明显提高植株中水杨酸、乙烯和过氧化氢的浓度, 但降低了茉莉酸的含量。该结果表明 β -葡萄糖苷酶处理与褐飞虱为害类似, 能激活水稻信号转导途径^[52]。Huang 等^[53] 鉴定了褐飞虱唾液鞘蛋白 NIShp, 应用 dsRNA 技术抑制该基因表达后, 会影响褐飞虱在水稻上的正常生存, 说明该蛋白在褐飞虱取食中起重要作用。2017 年, Ji 等^[54] 在唾液腺中鉴定出内源的 β -1,4-葡聚糖酶 NIEG1, 其能促使褐飞虱的口针到达水稻韧皮部, 并降解细胞壁的纤维素。Ye 等^[55] 也在褐飞虱唾液中分离了一种 EF 类 Ca²⁺ 结合蛋白 NISEF1, 抑制 NISEF1 表达的褐飞虱可以引起水稻 Ca²⁺ 和 H₂O₂ 的升高, 导致取食和存活率的下降。Shangguan 等^[56] 鉴定出了另一种褐飞虱分泌的黏蛋白样蛋白质 NIMLP。NIMLP 在唾液腺中高表达, 并在取食期间被分泌到水稻组织中。NIMLP 诱导植物细胞死亡, 上调防御相关基因的表达和胼胝质沉积。这些研究为理解植物与植食性昆虫的互作机制提供了实验依据, 但目前为止仍未发现被水稻受体识别的褐飞虱效应子。

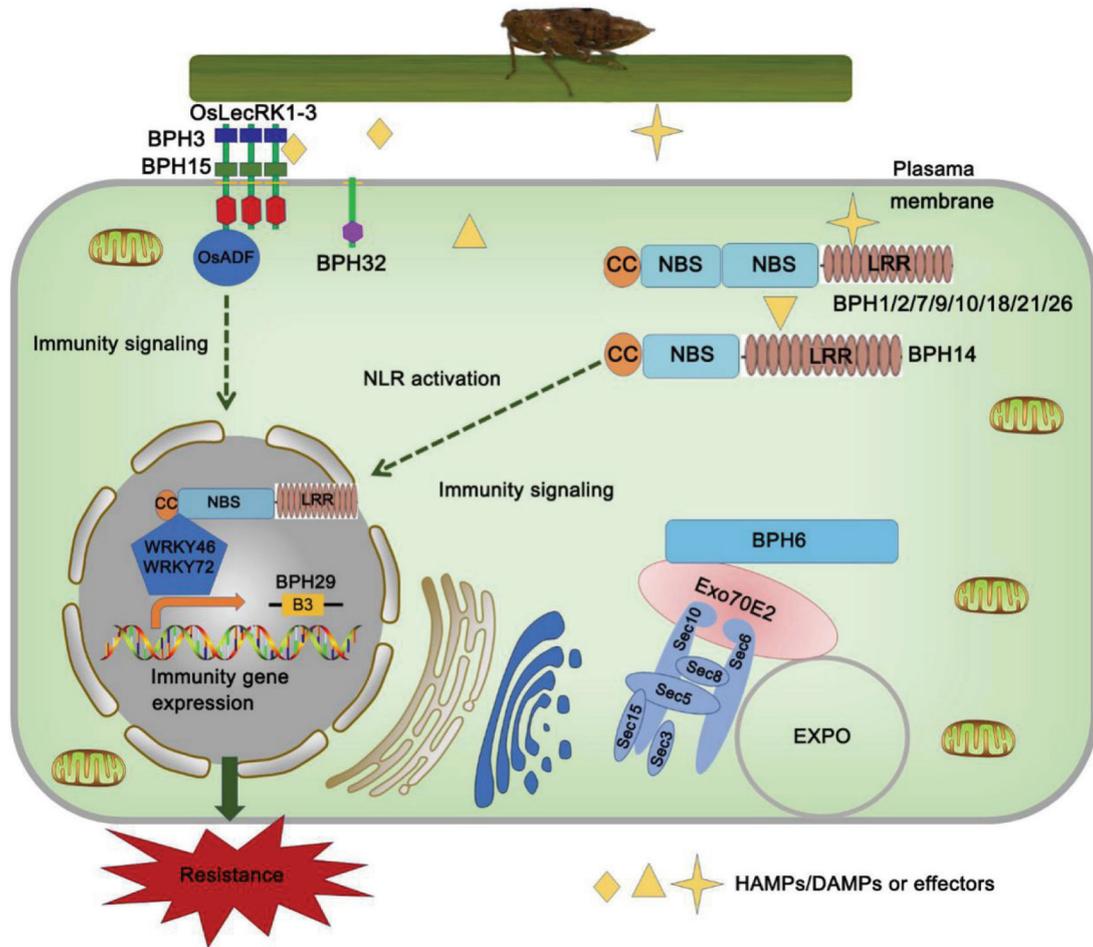
国际水稻研究所曾于 19 世纪 70 年代大面积推广带有 *Bph1* 和 *Bph2* 的水稻品种, 这些品种在水稻生产中发挥了巨大的作用。然而, 单一抗虫品种大面积种植几年后, 褐飞虱发生致害性变异, 形成了能克服 *Bph1* 或 *Bph2* 抗性的新生物型^[10]。褐飞虱有 30 条染色体。为了定位致害性基因, 研究人员构建了褐飞虱的遗传图谱。Kobayashi 等^[57] 定位了一个隐性的致害性基因 *vBPH1*, 可以克服水稻 *Bph1* 基因的抗性。Jing 等^[58] 构建的褐飞虱高密度的分子遗传图谱, 包含了 1 000 个分子标记, 定位了 3 个可以克服 *Bph1* 抗性致害性的遗传位点。褐飞虱全基因组测序以及唾液腺转录组、蛋白质组的数据积累, 将有助于鉴定褐飞虱效应子, 解析致害因子^[59-61]。

4.2 水稻抗虫信号的传递

植物识别昆虫的取食信号以后, 会通过多种信号途径来启动相应的抗虫反应。

4.2.1 钙离子信号

在真核生物的信号途径中, Ca²⁺ 是众所周知的二级信号^[62]。褐飞虱取食后可引起水稻细胞中 Ca²⁺



在取食过程中, 褐飞虱用口针刺穿水稻表皮细胞, 穿透细胞壁, 进而分泌唾液到水稻细胞中。水稻抗褐飞虱基因的组成与植物抗病系统类似, 同样是双层防御机制: 在第一层中, BPH3、BPH15和BPH32可以作为模式识别受体被褐飞虱相关分子模式激活从而诱发PTI (pathogen-associated molecular patterns triggered immunity); 第二层是由抗性蛋白(如BPH14、BPH9及其等位型、BPH29和BPH6等)组成的, 被特定效应子激发从而诱发ETI (effector-triggered immunity), 最终产生抗性。

图1 水稻抗褐飞虱基因功能模式图^[51]

的流入^[55, 63]。昆虫激发子诱导的水稻防御反应中, Ca^{2+} 浓度的变化作为信号分子, 最终引起植株中活性氧和胍胍质的变化^[55, 63]。 Ca^{2+} 引起的胍胍质的沉积是植物防御刺吸式口器昆虫取食的普遍现象^[62-63]。

4.2.2 促分裂原活化的蛋白激酶(mitogen-activated protein kinase, MAPK)级联反应

在植物-病原菌互作过程中, 植物细胞膜上的激酶受体感知病原菌的分子, 然后通过 MAPK 信号级联途径将信号传导至核内并最终开启防御基因应答。有研究表明, MAPK 信号级联可能在水稻抗褐飞虱反应中起重要作用, 并调控水杨酸 (salicylic acid, SA)、茉莉酸 (jasmonic acid, JA) 和乙烯 (ethylene, Et) 信号通路^[64-67]。通过对水稻 Bphi008a 蛋白的研究揭示了水稻被褐飞虱取食后, 通过调控一系列 *OsMPKs* 基因的表达, *OsMPK5/12* 直接磷酸化转录

因子 *OsERF1* 和 *OsEREBP1*, 并上调其表达水平, 最终导致抗性^[67]。

4.2.3 转录因子

转录因子结合特定 DNA、调控特定基因的表达, 从而参与一系列生物学过程。最近对 BPH14 蛋白进行机理研究, 发现 BPH14 蛋白及其 CC、NB 结构域能够形成同源复合体, 进而与转录因子 WRKY46 和 WRKY72 作用, 增强了转录因子的稳定性, 从而调控下游防御基因的转录, 产生对褐飞虱的抗性^[68]。其他转录因子也在水稻与褐飞虱互作中发挥作用。Lv 等^[69] 对抗、感水稻近等基因系的 RNA 测序结果表明, 更多的转录因子在褐飞虱取食后的感虫品种中上调表达。Wang 等^[70] 对水稻品种 TN1 和 RH 被褐飞虱取食后的芯片数据进行挖掘, 发现有 442 个转录因子与褐飞虱取食相关, 其中大

部分在感性品种 TN1 中上调表达, 只有 31 个在抗性品种 RH 中上调表达。OsERF3 是水稻 AP2/EREBP 家族的一个转录因子, 负调控水稻对褐飞虱的抗性^[66]。超量表达 OsWRKY89 可以增强水稻对稻瘟病和白背飞虱的抗性^[71]。Huangfu 等^[72]研究表明, 正向调控水稻抗稻瘟病的 OsWRKY45 反向调控水稻对褐飞虱的抗性。当 OsWRKY45 被沉默表达后, 褐飞虱的存活率和蜜露量都降低。

4.2.4 植物激素

植物激素在水稻抗褐飞虱反应中具有关键的作用。含有抗褐飞虱基因 *Bph14* 的抗性水稻被褐飞虱取食后, SA 合成相关基因 (*EDSI*、*PAD*、*PAL* 和 *ICSI*) 的表达量升高, 而 JA、乙烯信号途径基因 (*LOX*、*AOS2* 和 *EIN2*) 的表达量明显比感虫水稻要低^[37]。这表明水稻抗褐飞虱基因 *Bph14* 激活了 SA 信号途径, 从而提高了水稻对褐飞虱的抗性; 而 JA 可能是在水稻的基础防御中发挥重要作用。在对 *Bph6* 和 *Bph9* 抗虫机理研究中, 本课题组以含 *Bph6* 和 *Bph9* 的 9311 背景的近等基因系 (NIL-*Bph6* 和 NIL-*Bph9*) 以及对照 9311 为材料进行了抗虫激素组学的研究^[27,50], 测定了褐飞虱取食前后 8 个不同时间段水稻植株中水杨酸 (SA)、茉莉酸 (JA)、赤霉素 (GAs)、生长素 (IAA)、脱落酸 (ABA)、细胞分裂素 (CKs) 和油菜素内酯 (BRs) 七大类总共 26 种植物激素的含量。结果显示, 在 NIL-*Bph9* 中, 褐飞虱取食显著上调的激素有 SA、JA 和 JA-Ile。在 NIL-*Bph6* 中, 含量上调非常显著的有 SA、JA、JA-Ile 和 CKs; 多种激素在含量上呈现高度正相关性, 尤其在抗性水稻品种中; 同时, 研究还发现抗性品种中的激素对褐飞虱取食反应速度快, 而感性品种 9311 不仅变化小, 变化发生时间也相对滞后。本课题组还用不同类型激素处理水稻, 发现 SA 和 JA 处理能提高抗性水稻和感性水稻的抗虫性, 而 CK 类型激素只能提高带有 *Bph6* 的水稻的抗虫性。研究结果说明, 不同的抗褐飞虱基因介导的抗性机制有所不同。

4.3 褐飞虱取食水稻的组学调控

转录组、蛋白质组和代谢组学研究是了解植物对昆虫取食反应的重要技术途径。抑制消减杂交 (suppression subtractive hybridization, SSH) 技术被用来筛选水稻中褐飞虱诱导基因^[64,73]。Wang 等^[74]用包含 1 920 个 SSH 克隆的 cDNA microarray 分析抗、感水稻品种 B5 和 MH63 在褐飞虱取食后的转录本表达模式的区别后发现, 在 B5 和 MH63 与褐飞虱

之间的不相容及相容反应中所表现出来的生理反应和转录本差异都有着显著的区别, 这反映了两个水稻品种间的基因型差异和损伤程度的显著不同。代表性差别分析技术 (representational difference analysis, RDA) 也被用来分析在褐飞虱抗虫基因近等基因系里受褐飞虱取食诱导特异表达的转录本, 鉴定出来的 RDA 克隆代表了褐飞虱抗性基因的候选基因^[75]。Wei 等^[76]利用同位素标记相对和绝对定量 (isobaric tag for relative and absolute quantitation, iTRAQ) 蛋白质组分析技术, 筛选水稻抗褐飞虱相关的蛋白质, 发现包括茉莉酸合成酶、氧化胁迫反应、 β -葡聚糖酶和蛋白激酶在内的许多蛋白都在褐飞虱取食后发生了显著变化。生物芯片技术也用来分析鉴定水稻四个染色体区域内可能潜在的褐飞虱抗性相关基因, 并发现褐飞虱抗性表型由一系列抗性相关基因控制^[77]。研究发现, 一些涉及光合成和代谢途径的持家 (house-keeping, HK) 基因的表达受到抑制, 而下游的防御基因和一些重要的次级代谢物合成基因被激活, 这其中包括病原体相关 (pathogen-related, PR) 基因、蛋白酶抑制剂、多酚类氧化酶和一些挥发性物质。

5 水稻抗褐飞虱基因的利用

种植抗虫的水稻品种是有效的、环境友好的控制害虫的方法。张启发院士提出了“绿色超级稻”的育种概念^[8], 抗虫性是“绿色超级稻”必须具备的性状。

传统的抗虫水稻育种的方法基于育种材料抗虫表型的鉴定和选择, 需要具备专门技术的人才, 并且效率较低。抗褐飞虱基因分子标记的应用对水稻抗虫育种产生了积极的促进作用。分子标记选择是针对水稻育种材料是否带有抗褐飞虱基因进行鉴定, 效率高, 准确性好。目前, 我国通过分子标记辅助选择成功培育了一批抗褐飞虱的水稻新品种。例如, 湖北省农科院选育出含 *Bph14* 的恢复系 R476, 组配出高产优质杂交中粳新组合广两优 476^[78], 被列为湖北省 2012 年水稻主导品种。武汉大学朱英国院士课题组选育出了具有 *Bph14* 和 *Bph15* 基因的抗褐飞虱光温敏核不育系 Bph68S 和红莲型细胞质雄性不育系珞红 4A, 进一步选育出了通过湖北省和安徽省品种审定的抗褐飞虱两系杂交稻两优 234^[79-80]。南京农业大学将 *Bph3* 导入感虫品种宁粳 3 号, 获得的新品系无论苗期还是成株期均高抗褐飞虱^[23]。

抗褐飞虱基因的多样化是实现水稻品种稳定和持久抗虫的重要基础。不同的抗虫基因或者同一抗虫基因的不同等位变异对害虫种群的抗性水平有差异。因此,在育种中应用多样性的抗虫基因,避免抗虫基因单一化,可以实现害虫的持续控制。Qiu等^[81]利用分子标记辅助选择的方法将*Bph12*和*Bph6*聚合到日本晴中,抗性鉴定表明聚合系对褐飞虱表现出更高水平的抗性。李进波等^[82]利用分子标记辅助选择方法将抗性基因*Bph14*和*Bph15*导入优良的恢复系或杂交稻,抗性鉴定结果与上述研究一致,即聚合系抗性明显高于单基因系。Hu等^[83]利用分子标记辅助选择将*Bph14*、*Bph15*和*Bph18*导入9311,抗性鉴定的结果表明,聚合了三个抗褐飞虱基因(*Bph14/Bph15/Bph18*)的水稻抗性水平最高,其次是聚合了两个抗褐飞虱基因的水稻,然后是只有一个抗褐飞虱基因的水稻,且其抗性水平也明显高于不含抗褐飞虱基因的水稻。胡巍等^[84]将来源于栽培稻的抗褐飞虱基因*Bph3*、来源于野生稻的抗褐飞虱基因*Bph14*和*Bph15*分别转入华南高产水稻品种桂农占中,也证实了同时含*Bph14*和*Bph15*的株系抗性水平高于含单个基因的株系。

6 未来的挑战和展望

近年来,我国在抗褐飞虱种质资源的发掘、抗褐飞虱基因的定位和克隆、水稻抗褐飞虱的分子机理,以及抗褐飞虱育种方面取得了国际领先水平的进展,但是仍有许多问题需进一步研究和解决。

水稻的抗虫性与褐飞虱的致害性是协同进化的。在褐飞虱发生频繁的地区,抗褐飞虱基因出现的频率也高。因此,加强对特定种质资源的抗性筛选与鉴定,将可获得有研究和利用价值的水稻抗褐飞虱种质资源。目前,水稻已经完成了几千份资源材料的基因组重测序工作。高质量的基因组序列和SNP数据,为应用全基因组关联分析(GWAS)发掘抗褐飞虱基因提供了基础。全基因组关联分析可发现和挖掘种质资源群体中的抗虫基因,进而分析抗虫基因的等位变异和在种质群体中的分布,探索抗虫基因起源和演化过程。发掘抗虫效应显著的抗虫基因等位型(allelotype),如*Bph9*有利于人工设计和构建抗虫基因或材料。

近年来,以水稻与褐飞虱为代表的作物与害虫互作分子机理研究取得了显著进展。褐飞虱为害水稻后,使感虫植株体内发生一系列生理变化,如光合作用下降、根系活力降低,最终导致严重减产。

阐明这些感虫反应中的分子机制和关键基因,将会提供改良水稻抗虫性的遗传调控新靶点,为提高作物抗虫性提供了一条新途径。

目前水稻中已经克隆了多个抗褐飞虱基因,有些抗虫基因编码免疫受体蛋白。下一步的关键是研究抗褐飞虱基因编码的蛋白如何识别褐飞虱的取食信号,如何传递信号并启动抗虫反应的具体分子和细胞过程。

在水稻中已经克隆的抗褐飞虱基因均是经过长期自然选择和人工选择后保留下来的自然变异,尽管大多抗虫基因对水稻生长和产量无不良影响,但作物抗虫反应是一个能量消耗的过程,必然受到严格的调控。过强的抗虫反应会使产量受损。因此,必须研究作物抗虫基因、抗虫反应与作物生长发育、产量品质的关系及其调控网络,通过遗传调控优化抗虫性与产量、品质的关系,更好地培育出抗虫的优质高产水稻新品种。

[参 考 文 献]

- [1] 单绪南,朱恩林,杨普云. 2008年全国农作物病虫害发生概况、防治进展及2009年防控对策. 中国植保导刊, 2009, 29: 16-8
- [2] 刘万才,刘振东,黄冲,等. 近10年农作物主要病虫害发生危害情况的统计和分析. 植物保护, 2016, 42: 1-9
- [3] Normile D. Reinventing rice to feed the world. Science, 2008, 321: 330-3
- [4] Nakashima N, Noda H. Nonpathogenic *Nilaparvata lugens* reovirus is transmitted to the brown planthopper through rice plant. Virology, 1995, 207: 303-7
- [5] Tanaka K, Endo S, Kazano H. Toxicity of insecticides to predators of rice planthoppers: spiders, the mirid bug and the dryinid wasp. Appl Entomol Zool, 2000, 35: 177-87
- [6] 娄永根,程家安. 稻飞虱灾变机理及可持续治理的基础研究. 应用昆虫学报, 2011, 48: 231-8
- [7] Heong KL, Escalada MM, Huan NH, et al. Entertainment-education and rice pest management: A radio soap opera in vietnam. Crop Prot, 2008, 27: 1392-7
- [8] Zhang Q. Strategies for developing green super rice. Proc Natl Acad Sci USA, 2007, 104: 16402-9
- [9] Heinrichs EA, Medrano EG, Rapusas HR. Genetic evaluation for insect resistance in rice[M]. Manila: International Rice Research Institute, 1985: 172-7
- [10] Huang Z, He GC, Shu LH, et al. Identification and mapping of two brown planthopper resistance genes in rice. Theor Appl Gene, 2001, 102: 923-34
- [11] Pathak MD, Cheng CH, Fortuno ME. Resistance to *Nephotettix impicticeps* and *Nilaparvata lugens* in varieties of rice. Nature, 1969, 223: 502-4
- [12] Athwal DS, Pathak MD, Bacalangco EH, et al. Genetics of resistance to brown planthoppers and green leafhoppers in *Oryza sativa* L. Crop Sci, 1971, 11: 747-50

- [13] Ikeda R, Vaughan DA. The distribution of resistance genes to the brown planthopper in rice germplasm. *Rice Genet Newsl*, 1991, 8:122-3
- [14] 杜波, 陈荣智, 何光存. 水稻抗虫功能基因组研究进展. *生命科学*, 2016, 28: 1200-15
- [15] Kabir MA, Khush GS. Genetic analysis of resistance to brown planthopper resistance gene in rice. *Euphytica*, 1988, 107: 23-8
- [16] Nemoto H, Ikeda R, Kaneda C. New gene for resistance to brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stal, in rice. *Jpn J Breed*, 1989, 39: 23-8
- [17] Ram T, Deen R, Gautam SK, et al. Identification of new genes for brown planthopper resistance in rice introgressed from *O. glaberrima* and *O. minuta*. *Rice Genet Newsl*, 2010, 25: 67-9
- [18] Deen R, Ramesh K, Gautam SK, et al. Identification of new gene for BPH resistance introgressed from *O. rufipogon*. *Rice Genet Newsl*, 2010, 25: 70-1
- [19] Cha YS, Ji H, Yun DW, et al. Fine mapping of the rice *Bph1* gene, which confers resistance to the brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stal), and development of STS markers for marker-assisted selection. *Mol Cells*, 2008, 26: 146-51
- [20] Sun LH, Wang CM, Su CC, et al. Mapping and marker-assisted selection of a brown planthopper resistance gene *bph2* in rice (*Oryza sativa* L.). *Acta Genet Sin*, 2006, 33: 717-23
- [21] Tamura Y, Hattori M, Yoshioka H, et al. Map-based cloning and characterization of a brown planthopper resistance gene BPH26 from *Oryza sativa* L. ssp. *indica* cultivar ADR52. *Sci Rep*, 2014, 4: 5872
- [22] Sun L, Su C, Wang C, et al. Mapping of a major resistance gene to the brown planthopper in the rice cultivar Rathu Heenati. *Breeding Sci*, 2005, 55: 391-6
- [23] Liu Y, Wu H, Chen H, et al. A gene cluster encoding lectin receptor kinases confers broad-spectrum and durable insect resistance in rice. *Nat Biotechnol*, 2015, 33: 301-5
- [24] Jairin J, Sansen K, Wonboon W, et al. Detection of a brown planthopper resistance gene *bph4* at the same chromosomal position of *Bph3* using two different genetic backgrounds of rice. *Breeding Sci*, 2010, 60: 71-5
- [25] Qiu YF, Guo JP, Jing SL, et al. High-resolution mapping of the brown planthopper resistance gene *Bph6* in rice and characterizing its resistance in the 9311 and Nipponbare near isogenic backgrounds. *Theor Appl Genet*, 2010, 121: 1601-11
- [26] Qiu YF, Guo JP, Jing SL, et al. Fine mapping of the rice brown planthopper resistance gene *BPH7* and characterization of its resistance in the 93-11 background. *Euphytica*, 2014, 198: 369-79
- [27] Zhao Y, Huang J, Wang Z, et al. Allelic diversity in an NLR gene *BPH9* enables rice to combat planthopper variation. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2016, 113: 12850-5
- [28] Chen JW, Wang L, Pang XF, et al. Genetic analysis and fine mapping of a rice brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) resistance gene *bph19(t)*. *Mol Genet Genomics*, 2006, 275: 321-9
- [29] Myint KKM, Fujita D, Matsumura M, et al. Mapping and pyramiding of two major genes for resistance to the brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) in the rice cultivar ADR52. *Theor Appl Genet*, 2012, 124: 495-504
- [30] Wu H, Liu Y, He J, et al. Fine mapping of brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) resistance gene *Bph28(t)* in rice (*Oryza sativa* L.). *Mol Breeding*, 2014, 33: 909-18
- [31] Wang H, Shi S, Guo Q, et al. High-resolution mapping of a gene conferring strong antibiosis to brown planthopper and developing resistant near-isogenic lines in 9311 background. *Mol Breeding*, 2018, 38: 107
- [32] Prahalada GD, Shivakumar N, Lohithaswa HC, et al. Identification and fine mapping of a new gene, *BPH31* conferring resistance to brown planthopper biotype 4 of India to improve rice, *Oryza sativa* L. *Rice*, 2017, 10: 41
- [33] Ren J, Gao F, Wu X, et al. *Bph32*, a novel gene encoding an unknown SCR domain-containing protein, confers resistance against the brown planthopper in rice. *Sci Rep*, 2016, 6: 37645
- [34] Hirabayashi H, Angeles ER, Kaji R, et al. Identification of the brown planthopper resistance gene derived from *O. officinalis* using molecular markers in rice (abstract in Japanese). *Breeding Sci*, 1998, 48: 82
- [35] Yang HY, Ren X, Weng QM, et al. Molecular mapping and genetic analysis of a rice brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stal) resistance gene. *Hereditas*, 2002, 136: 39-43
- [36] Renganayaki K, Fritz AK, Sadasivam S, et al. Mapping and progress toward map-based cloning of brown planthopper biotype-4 resistance gene introgressed from *Oryza officinalis* into cultivated rice, *O. sativa*. *Crop Sci*, 2002, 42: 2112-7
- [37] Du B, Zhang WL, Liu B, et al. Identification and characterization of *Bph14*, a gene conferring resistance to brown planthopper in rice. *Proc Natl Acad Sci USA*, 2009, 106: 22163-8
- [38] Yang HY, You AQ, Yang ZF, et al. High-resolution genetic mapping at the *Bph15* locus for brown planthopper resistance in rice (*Oryza sativa* L.). *Theor Appl Genet*, 2004, 110: 182-91
- [39] Ishii T, Brar DS, Multani DS, et al. Molecular tagging of genes for brown planthopper resistance and earliness introgressed from *Oryza australiensis* into cultivated rice, *O. sativa*. *Genome*, 1994, 37: 217-21
- [40] Ji H, Kim SR, Kim YH, et al. Map-based cloning and characterization of the *BPH18* gene from wild rice conferring resistance to brown planthopper (BPH) insect pest. *Sci Rep*, 2016, 6: 34376
- [41] Li RB, Li LS, Wei SM, et al. The evaluation and utilization of new genes for brown planthopper resistance in common wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.). *Mol Plant Breed*, 2006, 4: 365-71
- [42] Rahman ML, Jiang W, Chu SH, et al. High-resolution mapping of two brown planthopper resistance genes, *Bph20(t)* and *Bph21(t)*, originating from *Oryza minuta*. *Theor Appl Genet*, 2009, 119: 1237-46

- [43] Yang L, Li RB, Li YR, et al. Genetic mapping of *bph20(t)* and *bph21(t)* loci conferring brown planthopper resistance to *Nilaparvata lugens* Stål in rice (*Oryza sativa* L.). *Euphytica*, 2011, 183: 161-71
- [44] Hou LY, Yu P, Xu Q, et al. Genetic analysis and preliminary mapping of two recessive resistance genes to brown planthopper, *Nilaparvata lugens* Stal in rice. *Rice Sci*, 2011, 18: 238-42
- [45] Huang D, Qiu Y, Zhang Y, et al. Fine mapping and characterization of *BPH27*, a brown planthopper resistance gene from wild rice (*Oryza rufipogon* Griff.) *Theor Appl Genet*, 2013, 126: 219-29
- [46] Wang Y, Cao L, Zhang Y, et al. Map-based cloning and characterization of *BPH29*, a B3 domain-containing recessive gene conferring brown planthopper resistance in rice. *J Exp Bot*, 2015, 66: 6035-45
- [47] Kumar K, Sarao PS, Bhatia D, et al. High-resolution genetic mapping of a novel brown planthopper resistance locus, *Bph34* in *Oryza sativa* L. X *Oryza nivara* (Sharma & Shastry) derived interspecific F2 population. *Theor Appl Gene*, 2018, 131: 1163-71
- [48] Cheng X, Zhu L, He G. Towards understanding of molecular interactions between rice and the brown planthopper. *Mol Plant*, 2013, 6: 621-34
- [49] Cheng X, Wu Y, Guo J, et al. A rice lectin receptor-like kinase that is involved in innate immune responses also contributes to seed germination. *Plant J*, 2013, 76: 687-98
- [50] Guo J, Xu C, Wu D, et al. *Bph6* encodes an exocyst-localized protein and confers broad resistance to planthoppers in rice. *Nat Genet*, 2018, 50: 297-306
- [51] Jing SL, Zhao Y, Du B, et al. Genomics of interaction between the brown planthopper and rice. *Curr Opin Insect Sci*, 2017, 19: 82-7
- [52] 王霞, 周国鑫, 向才玉, 等. β -葡萄糖苷酶处理与褐飞虱为害激活水稻类似的信号转导途径. *科学通报*, 2007, 52: 2852-6
- [53] Huang H, Liu C, Cai Y, et al. A salivary sheath protein essential for the interaction of the brown planthopper with rice plants. *Insect Biochem Mol*, 2015, 66: 77-87
- [54] Ji R, Ye W, Chen H, et al. A salivary endo- β -1, 4-glucanase acts as an effector that enables the brown planthopper to feed on rice. *Plant Physiol*, 2017, 173: 1920-2
- [55] Ye W, Yu H, Jian Y, et al. A salivary EF-hand calcium-binding protein of the brown planthopper *Nilaparvata lugens* functions as an effector for defense responses in rice. *Sci Rep*, 2017, 7: 40498
- [56] Shangguan X, Zhang J, Liu B, et al. A mucin-like protein of planthopper is required for feeding and induces immunity response in plants. *Plant Physiol*, 2018, 176: 552-65
- [57] Kobayashi T, Yamamoto K, Suetsugu Y, et al. Genetic mapping of the rice resistance-breaking gene of the brown planthopper *Nilaparvata lugens*. *Proc Biol Sci*, 2014, 281: 1787
- [58] Jing S, Zhang L, Ma Y, et al. Genome-wide mapping of virulence in brown planthopper identifies loci that break down host plant resistance. *PLoS One*, 2014, 9: e98911
- [59] Xue J, Zhou X, Zhang C, et al. Genomes of the rice pest brown planthopper and its endosymbionts reveal complex complementary contributions for host adaptation. *Genome Biol*, 2014, 15: 521
- [60] Ji R, Yu H, Fu Q, et al. Comparative transcriptome analysis of salivary glands of two populations of rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens*, that differ in virulence. *PLoS One*, 2013, 8: e79612
- [61] Liu X, Zhou H, Zhao J, et al. Identification of the secreted watery saliva proteins of the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stal) by transcriptome and Shotgun LC-MS/MS approach. *J Insect Physiol*, 2016, 89: 60-9
- [62] Engelberth J. Plant resistance to insect herbivory. *Biocommun Plants*, 2012, 14: 303-26
- [63] Hao PY, Liu CX, Wang YY, et al. Herbivore-induced callose deposition on the sieve plates of rice: an important mechanism for host resistance. *Plant Physiol*, 2008, 146: 1810-20
- [64] Yuan H, Chen X, Zhu L, et al. Identification of genes responsive to brown planthopper *Nilaparvata lugens* Stal (Homoptera: Delphacidae) feeding in rice. *Planta*, 2005, 221: 105-12
- [65] Wang Y, Wang X, Yuan H, et al. Responses of two contrasting genotypes of rice to brown planthopper. *Mol Plant Microbe Interact*, 2008, 21: 122-32
- [66] Lu J, Ju H, Zhou G, et al. An EAR-motif-containing ERF transcription factor affects herbivore-induced signaling, defense and resistance in rice. *Plant J*, 2011, 68: 583-96
- [67] Hu J, Zhou J, Peng X, et al. The *bphi008a* gene interacts with the ethylene pathway and transcriptionally regulates MAPK genes in the response of rice to brown planthopper feeding. *Plant Physiol*, 2011, 156: 856-72
- [68] Hu L, Wu Y, Wu D, et al. The coiled-coil and nucleotide binding domains of *BROWN PLANTHOPPER RESISTANCE 14* function in signaling and resistance against planthopper in rice. *Plant Cell*, 2017, 29: 3157-85
- [69] Lv W, Du B, Shangguan X, et al. BAC and RNA sequencing reveal the brown planthopper resistance gene *BPH15* in a recombination cold spot that mediates a unique defense mechanism. *BMC Genomics*, 2014, 15: 674
- [70] Wang Y, Guo H, Li H, et al. Identification of transcription factors potential related to brown planthopper resistance in rice via microarray expression profiling. *BMC Genomics*, 2012, 13: 687
- [71] Wang H, Hao J, Chen X, et al. Overexpression of rice *WRKY89* enhances ultraviolet B tolerance and disease resistance in rice plants. *Plant Mol Biol*, 2007, 65: 799-815
- [72] Huangfu J, Li J, Li R, et al. The transcription factor *OsWRKY45* negatively modulates the resistance of rice to the brown planthopper *Nilaparvata lugens*. *Int J Mol Sci*, 2016, 17: e697
- [73] Wang X, He R, He G. Construction of suppression subtractive hybridization libraries and identification of brown planthopper-induced genes. *J Plant Physiol*, 2005, 162: 1254-62

- [74] Wang YY, Wang XL, Yuan HY, et al. Responses of two contrasting genotypes of rice to brown planthopper. *Mol Plant Microbe Interact*, 2008, 21: 122-32
- [75] Park SJ, Huang YH, Ayoubi P. Identification of expression profiles of sorghum genes in response to greenbug phloem-feeding using cDNA subtraction and microarray analysis. *Planta*, 2006, 223: 932-47
- [76] Wei Z, Hu W, Lin Q, et al. Understanding rice plant resistance to the brown planthopper (*Nilaparvata lugens*): a proteomic approach. *Proteomics*, 2009, 9: 2798-808
- [77] Wang Y, Li H, Si Y, et al. Microarray analysis of broad-spectrum resistance derived from an *indica* cultivar Rathu Heenati. *Planta*, 2012, 235: 829-40
- [78] 夏明元, 万丙良, 李进波, 等. 高产优质杂交中粳组合广两优476的选育与应用. *杂交水稻*, 2010, 25: 18-20
- [79] 朱仁山, 黄文超, 胡俊, 等. 抗褐飞虱两系杂交稻不育系 BPH68S及其组合两优234的选育. *武汉大学学报*, 2013, 59: 24-7
- [80] 朱仁山, 黄文超, 胡俊, 等. 红莲型杂交稻新不育系珞红4A的选育. *武汉大学学报*, 2013, 59: 33-6
- [81] Qiu Y, Guo J, Jing S, et al. Development and characterization of japonica rice lines carrying the brown planthopper-resistance genes *BPH12* and *BPH6*. *Theor Appl Genet*, 2012, 124: 485-94
- [82] 李进波, 夏明元, 戚华雄, 等. 水稻抗褐飞虱基因 *Bph14* 和 *Bph15* 的分子标记辅助选择. *中国农业科学*, 2006, 39: 2132-7
- [83] Hu J, Cheng M, Gao G, et al. Pyramiding and evaluation of three dominant brown planthopper resistance genes in the elite indica rice 9311 and its hybrids. *Pest Manag Sci*, 2013, 69: 802-8
- [84] 胡巍, 李艳芳, 胡侃, 等. 分子标记辅助选择抗褐飞虱基因改良桂农占的BPH抗性. *分子植物育种*, 2015, 13: 951-60