

doi: 10.3969/j.issn.1674-0858.2016.06.2

水稻防御信号 NO 对褐飞虱产卵刺激的响应

周金明, 颜 静, 尤珂珂, 高媛媛, 周 强*

(中山大学生命科学学院, 有害生物控制与资源利用国家重点实验室, 广州 510275)

摘要: 植物对昆虫产卵刺激产生的防御反应不仅可以直接抑制卵的发育, 还可以为防御下一步若虫/幼虫带来的危害做准备。对褐飞虱产卵处理后水稻植株内一氧化氮 (NO) 合成的关键酶—硝酸还原酶基因的表达量和 NO 含量进行测定, 对比褐飞虱取食和机械损伤处理, 结果显示褐飞虱产卵能够诱导水稻硝酸还原酶基因的表达和 NO 的生成。处理后 12 h, 水稻硝酸还原酶基因表达量显著高于取食和机械损伤处理; 12–24 h 产卵诱导的 NO 含量显著高于对照和机械损伤组水稻。褐飞虱产卵诱导水稻启动 NO 合成关键基因的表达和物质合成表明, 与取食危害类似, 水稻同样会对褐飞虱产卵刺激产生响应, 诱导 NO 升高, 启动相应的植物防御体系。

关键词: 水稻; 褐飞虱; 产卵; 硝酸还原酶基因; NO

中图分类号: Q963; S433

文献标志码: A

文章编号: 1674–0858 (2016) 06–1078–06

Rice endogenous NO response to oviposition stimulation of *Nilaparvata lugens* (Stål)

ZHOU Jin-Ming, YAN Jing, YOU Ke-Ke, GAO Yuan-Yuan, ZHOU Qiang* (State Key Laboratory of Biocontrol, School of Life Sciences, Sun Yat-sen University, Guangzhou 510275, China)

Abstract: Herbivorous insects laying their eggs on plant tissue face the risk of aggressive plant responses that either have direct negative effects on eggs or inform parasitoids about the presence of eggs and thus indirectly harm the eggs by involving the third trophic level and, plants can take insect egg deposition as a warning signal of future larval herbivory. Compared to the rice brown planthopper (BPH) *Nilaparvata lugens* (Stål) feeding and mechanical wound, BPH oviposition upregulated the transcripts of rice Nitrate reductase gene and NO substance levels. After BPH oviposition treatment of 12 h, the expression levels of Nitrate reductase gene were significantly higher than BPH feeding and mechanical wound treatment, the content of NO substance was significantly higher than untreated rice. These results indicate that, as feeding damage as, rice could be respond to BPH oviposition through inducing NO substance and initiating relevant defence systems, which inhibit the damage of BPH.

Key words: Rice; *Nilaparvata lugens* (Stål); oviposition; nitrate reductase; NO

大部分植食性昆虫从产卵就开始了对植物的侵害, 包括直接和间接两种方式。比如产虫瘿的昆虫将卵产在植物体内破坏植物的内部结构, 半翅目昆虫产卵时用产卵器划开植物表皮, 从而对植株造成直接机械损伤 (Hilker *et al.*, 2007)。许

多鳞翅目和膜翅目的昆虫在成虫阶段是不取食的, 但是雌成虫会将卵产在植物上, 并且对于成虫与幼虫取食生态位相同的昆虫比如鞘翅目和半翅目来说, 产卵的地点也就是植物接下来要遭受孵化出的幼虫的取食为害的部位, 这是产卵危害的间

基金项目: 国家自然科学基金 (31071680, 31272038)

作者简介: 周金明, 男, 1989 年生, 硕士研究生, 研究方向为昆虫与植物相互关系

* 通讯作者 Author for correspondence, E-mail: lsszhou@mail.sysu.edu.cn

收稿日期 Received: 2016–10–16; 接受日期 Accepted: 2016–11–08

接方式 (Walling, 2000)。植物也能产生应对昆虫产卵的直接和间接防御反应, 通过杀死卵或者将它们脱离植物, 或者吸引天敌, 从而减轻昆虫取食为害 (Reymond, 2013; Hilker, 2015; Pashalidou *et al.*, 2015)。

植物在遭受植食性昆虫取食后产生防御反应的研究已较深入 (Kalske *et al.*, 2014; Hu *et al.*, 2015; Khan *et al.*, 2016), 但是植物响应昆虫产卵胁迫的研究却较少 (Hilker, 2005)。通过对菜粉蝶产卵-拟南芥和甜菜夜蛾产卵-烟草这两个体系的研究, 发现产卵特异性诱导了植物的全面防御反应, 包括启动水杨酸、茉莉酸和其它应激反应途径 (Dawn *et al.*, 2007; Gouhier-Darimont *et al.*, 2013; Bandoly *et al.*, 2015; Bandoly & Steppuhn, 2016)。

一氧化氮 (NO) 是植物细胞受生物和非生物胁迫诱导产生防御反应的重要信号物质之一。自 1998 年报道了 NO 在植物抗病反应中的信号分子作用以来 (Delledonne *et al.*, 1998; Durner *et al.*, 1998), 通过药理、生化和遗传学途径证明植物受到无毒致病菌和激发子的诱导下, 细胞内可产生 NO, 并启动防御体系 (Wendehenne *et al.*, 2004; Delledonne 2005)。NO 通过调控活性氧水平和毒性, 减轻胁迫产生的氧化伤害发挥作用, NO 还作为信号分子与水杨酸协同参与抗逆信号转导、诱导抗逆基因表达和诱导植物系统获得性抗性 (Systemic Acquired Resistance, SAR) 的形成 (Delledonne *et al.*, 2001)。抗病刺激因子诱导处理、非生物胁迫和发育等过程中 NO 的产生主要来源于硝酸还原酶 (Nitrate reductase, NR) (Bright *et al.*, 2006; Srivastava *et al.*, 2009)。NR 以 NAD(P)H 为电子供体催化硝酸盐还原生成亚硝酸盐, 也是高等植物体内控制碳代谢和氮代谢的关键酶与限速酶 (Kaiser *et al.*, 1999)。

褐飞虱 *Nilaparvata lugens* (Stål) 是我国最主要的水稻害虫, 严重影响水稻产量 (吕进等, 2013)。褐飞虱将卵产在水稻的叶鞘组织内, 产卵器不仅伤害了水稻组织, 而且将卵留在水稻组织内, 除传播水稻病原微生物外, 也可能导致水稻产生一系列的防御反应。本实验室的研究工作发现, 褐飞虱产卵能够诱导水稻胰蛋白酶抑制因子合成酶基因的表达, 与取食危害类似, 水稻同样会对褐飞虱产卵刺激产生响应, 启动相应的植物防御体系 (解晓军等, 2011)。但是对于水稻启动

哪些防御途径来应对褐飞虱产卵为害尚有待深入研究。

本研究以单子叶模式植物水稻及其主要害虫褐飞虱产卵为模型, 以植物抗逆相关信号分子 NO 为指标, 分析水稻对褐飞虱产卵刺激的响应, 以期阐明水稻应对褐飞虱产卵的防御过程, 为深入了解产卵诱导植物产生防御反应的分子机理提供基础。

1 材料与方法

1.1 水稻品种和虫源

选用标准感性品种 TN1, 种子于室内催芽后, 分期单株移至塑料杯内 ($\phi 5 \times 7$ cm), 在人工气候箱内培养, 温度 $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 80%、光照 14L:10D。秧龄 20 d 时供试。

褐飞虱于采自广东省华南农业大学农场稻田, 在室内感性品种七袋占上饲养多代。温度 $27^{\circ}\text{C} \pm 1^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 80%、光照 14L:10D。

1.2 水稻处理

褐飞虱产卵处理: 在每株水稻幼苗的叶鞘部位接 3 头剪除口针的羽化后 3 d 的褐飞虱怀卵雌虫 (处于产卵高峰期), 分别处理水稻 0 (对照)、6、12、24、36、48 h。

褐飞虱取食处理: 在每株水稻幼苗的叶鞘部位接 3 头 3 龄的褐飞虱若虫, 分别处理水稻 0 (对照)、6、12、24、36、48 h。

机械损伤处理: 在每株水稻幼苗的叶鞘部位用已消毒的 4 号昆虫针刺 20 下, 分别处理水稻 0 (对照)、6、12、24、36、48 h。以上每个处理重复 3 次。

1.3 基因表达的测定

用 RT-PCR 的方法测定不同处理对水稻防御相关基因表达的影响。取不同处理的水稻叶片 100 mg, 在液氮冷冻条件下碾成粉末, 在液氮挥发完全前将其移入 2 mL 的离心管, Trizol 试剂盒 (GibcoBRL) 提供的方法提取水稻总 RNA。取 1 μg 不同处理的水稻叶片总 RNA, Invitrogen 公司的 SuperScript II 逆转录 (RT) 试剂盒合成 cDNA 第一链。PCR 扩增用 rTaq DNA 聚合酶 (TaKaRa), 扩增条件: 94°C 45 s, 55°C 45 s, 72°C 45 s, 30 个循环后于 72°C 延伸 8 min。逆转录及 PCR 所用特异性引物见表 1。取 5 μL PCR 产物进行琼脂糖 (1%) 电泳, 每个处理设 3 个重复。荧光定量

PCR 的方法测定不同处理对水稻蛋白酶抑制剂基因表达的影响。水稻 RNA 的提取方法同上, 取 1 μg 不同处理的水稻叶片总 RNA, TaKaRa 公司的 PrimeScriptTM 逆转录 (RT) 试剂盒合成 cDNA 第一链。用于荧光定量 PCR 的 *BBPI* 的特异引物和内参基因 *Actin* 引物分别设计为:

QNR-F: 5'-CTGTCCTAACCGAGTTCATATC-3',
QNR-R: 5'-GTCGTCCACCATGACTTCCTG-3';
QActin-F: 5'-ACTGTCCCCATCTATGAAGGA-3',

QActin-R: 5'-CTGCTGGAATGTGCTGAGAGA-3'.

据 SYBR Premix Ex Taq (Perfect Real Time) Kit 提供的方法, 用 ABI Prism 7900HT 进行荧光定量 PCR, 运行条件为: 预变性: 95 $^{\circ}\text{C}$ 30 s, 1 个循环; PCR 反应: 95 $^{\circ}\text{C}$ 5 s; 60 $^{\circ}\text{C}$ 30-34 s, 40 个循环。每个处理取 3 个样品, 每个样品的 RNA 反转录的 cDNA 在每次荧光定量 PCR 时进行 3 个重复, 重复运行 3 次。NR 基因的相对拷贝数根据 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 方法 (Livak and Schmittgen, 2001) 进行分析。

表 1 PCR 所用基因特异引物
Table 1 The primers for PCR validation

基因名称 Name of gene	登录号 GenBank code	已知功能 Function	特异引物 Primer sequence
<i>NR</i>	NM-495697	No 合成关键酶 Nitrate reductase	F: 5'-CTGTCCTAACCGAGTTCATATC-3' R: 5'-GTCGTCCACCATGACTTCCTG-3'
<i>Actin</i>	X15865	肌蛋白 (对照) Actin for CK	F: 5'-ACTGTCCCCATCTATGAAGGA-3' R: 5'-CTGCTGGAATGTGCTGAGAGA-3'

1.4 水稻 NO 含量的测定

硝酸还原酶法测定 NO 含量, 参照试剂盒 (南京建成生物工程研究所, 南京), 步骤如下:

(1) 将水稻样品用蒸馏水洗净擦干, 剪碎、混匀后称取 0.5 g 组织样品;

(2) 样品放入预冷的研钵中加入 5 mL 的磷酸缓冲液 (pH7.0), 研磨匀浆后, 4 $^{\circ}\text{C}$, 4000 rpm, 离心 15 min, 取上清液待测;

(3) 标准液配置: 0.1 mL 的标准品用双蒸水定容稀释至 10 mL, 混匀;

(4) 取 0.1 mL 的样品提取液, 加入 0.4 mL 的混合试剂, 其中空白管中为 0.1 mL 的蒸馏水, 标准管中为 0.1 mL 的 100 $\mu\text{mol/L}$ 标准液, 混匀后在 37 $^{\circ}\text{C}$ 准确水浴 60 min;

(5) 分别加入 0.2 mL 的试剂 3 和 0.1 mL 的试剂 4, 充分漩涡混匀 30 s, 室温静置 40 min;

(6) 离心 15 min, 4000 rpm, 取 0.5 mL 上清液加入 0.6 mL 的显色剂显色;

(7) 混匀后, 室温静置 10 min, 蒸馏水调零, 550 nm, 测各管吸光度值;

NO 含量 ($\mu\text{mol/L}$) = (测定管吸光度 - 空白管吸光度) / (标准管吸光度 - 空白管吸光度) $\times$ 标准品浓度

1.5 数据分析

用 SAS 8.1 统计软件 (SAS Institute Inc, USA)

进行数据单因素方差分析 (SAS/ANOVA), 多重比较 SNK 检验 ($P < 0.05$) 比较各处理间差异的显著性。

2 结果与分析

2.1 褐飞虱产卵诱导水稻硝酸还原酶基因 (NR) 的表达

NR 是植物 NO 合成途径的关键酶, 参与植物的防御反应。褐飞虱产卵为害能诱导 NR 基因的表达。虽然机械损伤和褐飞虱取食也能诱导 NR 的表达, 但是这两者的诱导作用要明显弱于褐飞虱产卵处理 (图 1)。

褐飞虱产卵诱导 NR 基因的表达量呈先上升后下降的趋势, 在 12 h 后表达量达最高值, 处理 48 h 后 NR 基因的表达量基本上回复到对照水平。褐飞虱产卵处理后 6、12、24、36、48 h NR 基因的表达量分别为对照 (0 h) 的 1.32, 1.61, 1.44, 1.26 和 1.05 倍。6 h、12 h、24 h 和 36 h NR 基因的表达量显著高于对照水平, 其中处理 12 h 后 NR 基因的表达量最高, 并且显著高于 6 h、24 h 和 36 h, 而 6 h、24 h 和 36 h 三者之间差异不显著 (图 2)。

将褐飞虱产卵对 NR 基因的定量诱导表达作用与其它处理方式进行对比, 处理 6 h 后, 褐飞虱产

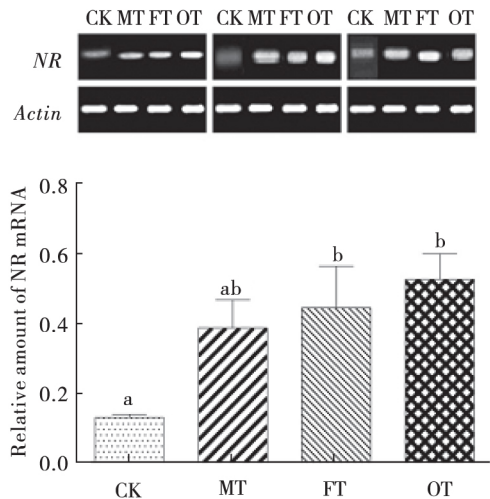


图1 *NR* 基因在不同处理水稻叶片中的表达

Fig. 1 Expression patterns of defense-related genes in adult *Nilaparvata lugen* oviposited rice leaves

注: NR, 硝酸还原酶; Actin, 肌动蛋白; CK, 健康植株; MT, 机械损伤植株; FT, 取食为害植株; OT, 产卵为害植株; 每个处理重复 3 次。Note: NR, Nitrate reductase; Actin, Internal standard of RT-PCR; CK, Healthy rice seedlings; MT, Mechanical damaged rice seedlings; FT, *N. lugen* fed rice seedlings; OT, Adult *N. lugen* oviposited rice seedlings; three replicates.

卵与机械损伤处理的诱导作用差异不显著, 但是褐飞虱取食的诱导作用显著强于两者; 处理后 12 h, 褐飞虱产卵的诱导作用显著强于另外两种处理, 且另外两种处理之间差异不显著; 处理后 24 h, 3 种处理方式的诱导作用无明显差异; 处理后 36 h 褐飞虱产卵与机械损伤处理的诱导作用差异不显著, 但是褐飞虱取食的诱导作用显著强于两者; 处理后 48 h, 3 种处理下的 *NR* 基因的表达量基本上都回复到对照水平。褐飞虱产卵处理诱导 *NR* 表达量的最高值出现在处理后 12 h, 而取食处理和机械损伤处理则分别出现在 6 h 和 24 h (图 2)。

2.2 褐飞虱产卵对水稻 NO 含量变化的影响

褐飞虱产卵处理下, 一氧化氮 (NO) 的含量逐渐上升, 上升状态一直持续到处理后 24 h, 并且在处理后 24 h 时含量达最大值, 随后, NO 含量逐渐下降, 至处理后 36 h 基本上回复到对照水平 (图 3)。

将褐飞虱产卵对水稻 NO 的含量的诱导作用与其它处理方式进行对比: 褐飞虱取食和机械损伤处理下, NO 的含量变化与产卵处理相似, 都是先上升后下降, 但是取食处理下的 NO 的含量最高值

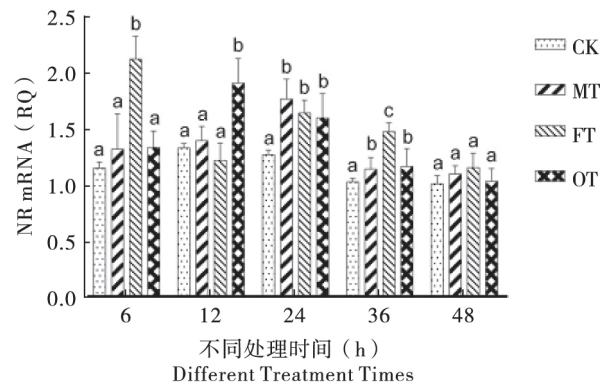


图2 定量 PCR 检测不同处理方式对 *NR* 基因的诱导表达

Fig. 2 The quantitative induction of different treatments on rice *NR* gene

注: CK, 健康植株; MT, 机械损伤植株; FT, 褐飞虱取食处理植株; OT, 褐飞虱产卵处理植株; 6 - 48 h, 产卵分别处理 6 - 48 h。注: 不同字母之间代表差异显著。Note: CK, Healthy rice seedlings; MT, Mechanical damaged rice seedlings; FT, *N. lugen* fed rice seedlings; OT, Adult *N. lugen* oviposited rice seedlings; 6 - 48 h, different treatment times. Note: Different small letters show the significant different among the different treatments ($P < 0.05$).

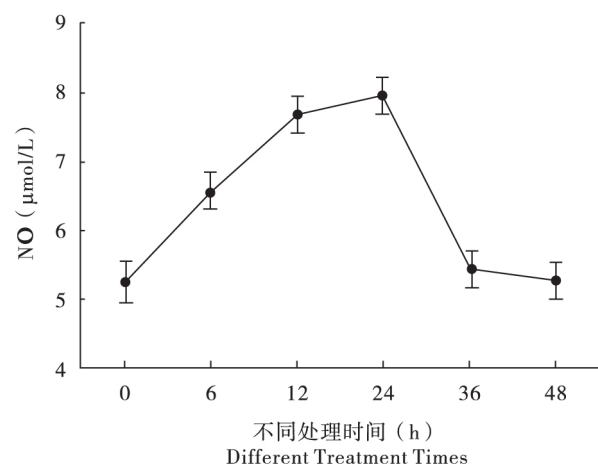


图3 褐飞虱产卵不同时间对水稻 NO 含量变化的影响

Fig. 3 Effect of Adult *Nilaparvata lugen* oviposition on rice NO level

注: 0 - 48 h, 产卵分别处理 6 - 48 h; 数据为平均值 ± 标准误差。Note: 0 - 48 h, different treatment times; Data Means ± SE.

的出现在处理后 6 h, 产卵处理下的 NO 的含量最高值的出现在处理后 24 h。褐飞虱产卵与机械损伤处理下 NO 的含量差异不显著, 但是褐飞虱取食处理下 NO 的含量明显高于前两种处理; 处理后

12 h, 产卵和取食处理下 NO 的含量明显高于机械损伤, 但两者差异不显著; 处理后 24 h, 褐飞虱产卵处理下的 NO 的含量明显高于另外两种处理; 在处理 36 h 和 48 h, 3 种处理下的 NO 的含量均差异不明显且都接近与对照水平 (图 4)。

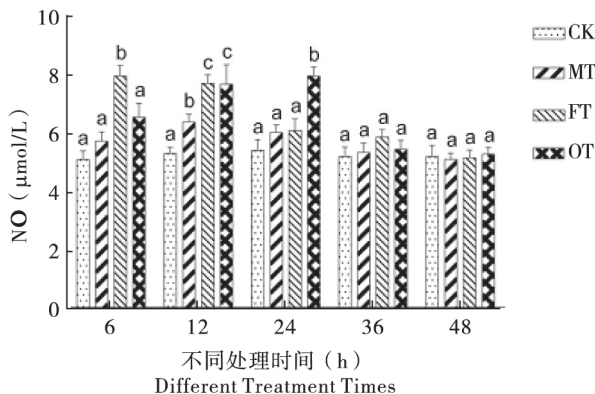


图 4 不同处理方式对水稻 NO 含量变化的影响

Fig. 4 Effects of different treatments on rice NO level

注: CK, 健康植株; MT, 机械损伤植株; FT, 褐飞虱取食处理植株; OT, 褐飞虱产卵处理植株; 6–48 h, 产卵分别处理 6–48 h。不同字母之间代表差异显著。
Note: CK, Healthy rice seedlings; MT, Mechanical damaged rice seedlings; FT, *N. lugen* fed rice seedlings; OT, Adult *N. lugen* oviposited rice seedlings; 6–48 h, different treatment times. Different small letters show the significant difference among the different treatments ($P < 0.05$).

3 结论与讨论

卵对于植物来说是一种潜在的威胁, 如果植物能够感受昆虫的产卵过程或卵的存在, 并提前对此做出防御反应, 这对寄主植物来说是非常有利的。目前的研究表明植物已经进化出了一些机制和反应来防御昆虫的产卵入侵, 以达到提前应对幼虫的取食为害的目的 (Hilker, 2007)。褐飞虱将卵产在水稻的叶鞘组织内。在这个过程中, 水稻受到双重伤害, 即褐飞虱的产卵器不仅伤害了水稻组织, 而且将卵留在了水稻组织内, 必然诱导水稻产生相关反应。实验表明: 机械损伤, 褐飞虱取食和褐飞虱产卵处理都能诱导水稻 NO 的上升, 并且三者的诱导作用依次增强, 产卵与取食处理诱导的 NO 含量的最大值比较接近。此外, NO 的含量变化都有随处理时间呈先上升后下降的

趋势。但是褐飞虱产卵处理在 12 h 时才明显诱导 NO 含量升高, 24 h 达到最大值, 随后逐渐降低, 而褐飞虱取食处理在 6 h 时诱导 NO 的含量即达到最大值。Gershenzon 等 (1991) 以拟南芥 *NR* 基因突变株进行的实验表明, NO 的产生可由机械和伤害胁迫诱导。由以上结果推测, 虽然褐飞虱产卵和取食处理都对 NO 含量的变化有诱导作用, 但是两者也许基于不同的机制。产卵处理对 NO 含量的诱导晚于取食处理也许是由于产卵处理激活的反应途径不同于取食处理, 从而经过不同的过程诱导 NO 含量的变化。

NO 信号物质在水稻的直接防御过程中起着重要的作用。本研究实验证实了机械损伤、褐飞虱取食和产卵处理都能诱导两种物质含量的变化, 且都是先上升后下降的趋势, 其中首次在水稻中发现褐飞虱产卵能诱导 NO 的含量变化。植物体内 NO 的来源复杂, 除了酶促反应途径外, 还有底物直接降解生成等 (Moreau *et al.*, 2010)。对于褐飞虱取食和产卵对两种物质含量的诱导机制是否存在差异以及两种处理具体是怎样激活各种途径从而诱导了 NO 含量的上升还不清楚, 这也是下一步研究的目标。

实验中发现与取食和机械损伤相比, 产卵明显刺激水稻产生损伤组织, 即产卵痕周围组织的坏死, 可能有两方面的原因, 一是产卵器的直接伤害而导致组织细胞失水枯死; 二是水稻对褐飞虱产卵或留在组织内的卵产生了超敏反应, 导致水稻组织出现程序性坏死, 从而将褐飞虱卵与水稻组织隔离开来, 使卵因缺少水分供应而致胚胎发育受到影响, 对卵产生直接防卫作用。但是对于水稻是启动哪些防御途径来应对褐飞虱产卵为害尚有待研究。

参考文献 (References)

- Bandoly M, Hilker M, Steppuhn A. Oviposition by *Spodoptera exigua* on *Nicotiana attenuata* primes induced plant defence against larval herbivory [J]. *Plant J.*, 2015, 83 (4): 661–72.
- Bandoly M, Steppuhn A. A push-button: *Spodoptera exigua* oviposition on *Nicotiana attenuata* dose-independently primes the feeding-induced plant defense [J]. *Plant Signal Behav.*, 2016, 11 (1): e1114198.
- Bright J, Desikan R, Hancock JT. ABA-induced NO generation and stomatal closure in *Arabidopsis* are dependent on H_2O_2 synthesis [J]. *Plant J.*, 2006, 45: 113–122.
- Dawn L, Caroline GD, Friederike B. Oviposition by pierid butterflies triggers defense responses in *Arabidopsis* [J]. *Plant Physiol.*, 2007, 143: 784–800.

- Delledonne M, Xia YJ, Dixon RA, *et al.* Nitric oxide functions as a signal in plant disease resistance [J]. *Nature*, 1998, 394: 585–588.
- Delledonne M, Zeier J, Marocco A. Signal interactions between nitric oxide and reactive oxygen intermediates in the plant hypersensitive disease resistance response [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2001, 98: 13454–13459.
- Delledonne M. NO news is good news for plants [J]. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2005, 8: 390–396.
- Durner J, Wendehenne D, Klessig DF. Defense gene induction in tobacco by nitric oxide, cyclic GMP and cyclic ADP ribose [J]. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 1998, 95: 10328–10333.
- Gershenzon J, Croteau R. Terpenoids Interactions with the Secondary Plant Metalloids [M]. San Diego: Academic Press, 1991, 165–219.
- Gouhier-Darimont C1, Schmiesing A, Bonnet C, *et al.* Signalling of *Arabidopsis thaliana* response to *Pieris brassicae* eggs shares similarities with PAMP-triggered immunity [J]. *J. Exp. Bot.*, 2013, 64 (2): 665–74.
- Hilker M. Reduction of ethylene emission from Scots pine elicited by insect egg secretion [J]. *J. Exp. Bot.*, 2007, 58: 1835–1842.
- Hilker M, Fatouros NE. Plant responses to insect egg deposition [J]. *Annu Rev Entomol.*, 2015, 60: 493–515.
- Hilker M, Fatouros NE. Resisting the onset of herbivore attack: Plants perceive and respond to insect eggs [J]. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2016, 32: 9–16.
- Hu L, Ye M, Li R, *et al.* The rice transcription factor WRKY53 suppresses herbivore-induced defenses by acting as a negative feedback modulator of mitogen-activated protein kinase activity [J]. *Plant Physiol.*, 2015, 2907–2921.
- Kaiser WM, Weiner H, Huber SC. Nitrate reductase in higher plants: A case study for transduction of environmental stimuli into control of catalytic activity [J]. *Physiologia Plantarum*, 1999, 105: 385–390.
- Kalske A, Mutikainen P, Muola A, *et al.* Simultaneous inbreeding modifies inbreeding depression in a plant-herbivore interaction [J]. *Ecol. Lett.*, 2014, 17: 229–238.
- Khan GA, Vogiatzaki E, Glauser G, *et al.* Phosphate deficiency induces the jasmonate pathway and enhances resistance to insect herbivory [J]. *Plant Physiol.*, 2016, 171 (1): 632–44.
- Livak KJ, Schmittgen TD. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method [J]. *Methods*, 2001, 25: 402–408.
- Lv J, Zhu ZR, Lou YG, *et al.* Review of research into outbreaks and management of rice planthoppers [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2013, 50 (3): 565–574 吕进, 祝增荣, 姜永根, 等. 稻飞虱灾变和治理研究透析 [J]. *应用昆虫学报*, 2013, 50 (3): 565–574
- Moreau M, Lindermayr C, Durner J. NO synthesis and signaling in plants—where do we stand? [J]. *Physiologia Plantarum*, 2010, 138: 372–383.
- Pashalidou FG, Frago E, Griesse E, *et al.* Early herbivore alert matters: Plant-mediated effects of egg deposition on higher trophic levels benefit plant fitness [J]. *Ecol. Lett.*, 2015, 18: 927–936.
- Reymond P. Perception, signaling and molecular basis of oviposition-mediated plant responses [J]. *Planta*, 2013, 238 (2): 247–58.
- Srivastava N, Gonugunta V, Pulim K. Nitric oxide production occurs downstream of reactive oxygen species in guard cells during stomatal closure induced by chitosan in a baxial epidermis of *Pisum sativum* [J]. *Planta*, 2009, 229: 757–765.
- Wendehenne D, Durner J, Klessig DF. Nitric oxide: A new player in plant signaling and defence responses [J]. *Curr. Opin. Plant Biol.*, 2004, 7: 449–455.
- Walling LL. The myriad plant response to herbivores [J]. *J. Plant Growth Regul.*, 2000, 19: 195–216.
- Xie XJ, Gao YY, Qi S, *et al.* Rice Bowman's proteinase inhibitor response to oviposition stimulation of *Nilaparvata lugens* [J]. *Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni*, 2011, 50 (5): 104–109. 解晓军, 高媛媛, 戚舒, 等. 水稻胰蛋白酶抑制剂对褐飞虱产卵刺激的响应 [J]. *中山大学学报 (自然科学版)*, 2011, 50 (5): 104–109