环境昆虫学报 2025，47（5）：1354-1364
Journal of Environmental Entomology
http://hjkcxb.alljournals.net
doi:10.3969/j.issn.1674-0858.2025.05.2

陈宜明，戴阳朔，巩固，袁龙宇，李燕芳，许益镌，张振飞. 水稻抗虫次生化合物麦黄酮刺激对褐飞虱唾液腺转录组的影响[J]. 环境昆虫学报，2025，47（5）：1354-1364. CHEN Yi-Ming, DAI Yang-Shuo, GONG Gu, YUAN Long-Yu, LI Yan-Fang, XU Yi-Juan, ZHANG Zhen-Fei. Stimulation effects of tricin, a rice-derived insect-resistant compound, on salivary gland transcriptome of brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål) [J]. *Journal of Environmental Entomology*，2025，47（5）：1354-1364.

水稻抗虫次生化合物麦黄酮刺激对褐飞虱唾液腺转录组的影响

陈宜明[1,2,3]，戴阳朔[2,3]，巩　固[1,2,3]，袁龙宇[2,3]，李燕芳[2,3]，许益镌[1*]，张振飞[2,3*]
（1. 华南农业大学植物保护学院，广州 510642；2. 广东省农业科学院植物保护研究所，广州 510640；
3. 广东省植物保护新技术重点实验室，广州 510640）

摘要：为深入探究褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 如何应答水稻抗虫物质麦黄酮的刺激，并揭示其背后的转录调控机制，本研究采用转录组学方法，系统分析了在麦黄酮刺激下褐飞虱唾液腺组织的转录水平变化。研究结果显示，与空白对照相比，褐飞虱唾液腺在受到麦黄酮处理6 h和24 h后的差异表达基因分别为49个和232个，两个时间段共同差异基因为23个。长时间的麦黄酮处理导致的差异基因数量显著高于短期处理，且这些基因的表达量也呈现随着时间延长而增加的趋势。进一步通过GO功能注释分析发现，这些共同差异基因主要参与刺激响应和胁迫响应等生物进程。同时，KEGG分析发现这些基因主要集中在蛋白质消化吸收和内分泌调节等相关途径。共同差异表达基因的RT-qPCR分析证实麦黄酮刺激确实能诱导褐飞虱唾液腺中胰蛋白酶、麦芽糖酶和转运蛋白相关基因的表达。这些结果将有助于揭示褐飞虱应对麦黄酮刺激的分子机制，更是说明胰蛋白酶和有机阴离子转运蛋白LOC111045154可能成为未来防治褐飞虱的潜在靶点。

关键词：唾液腺基因；麦黄酮刺激；褐飞虱；转录组
中图分类号：Q963　　**文献标识码：**A　　**文章编号：**1674-0858（2025）05-1354-11

Stimulation effects of tricin, a rice-derived insect-resistant compound, on salivary gland transcriptome of brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål)

CHEN Yi-Ming[1,2,3], DAI Yang-Shuo[2,3], GONG Gu[1,2,3], YUAN Long-Yu[2,3], LI Yan-Fang[2,3], XU Yi-Juan[1*], ZHANG Zhen-Fei[2,3*] (1. Plant Protection College of South China Agricultural University, Guangzhou 510642, China; 2. Plant Protection Research Institute, Guangdong Academy of Agricultural Sciences, Guangzhou 510640, China; 3. Guangdong Provincial Key Laboratory of High Technology for Plant Protection, Guangzhou 510640, China)

Abstract: In order to investigate how brown planthopper (BPH, *Nilaparvata lugens*) responds to the stimulation of tricin, an insect-resistant compound in rice, and reveal the transcriptional regulation mechanism behind it, this study systematically analyzed the transcriptional changes in salivary gland tissue of BPH under the stimulation of tricin using RNA-seq. The results showed that, compared with the blank control, 49 and 232 differentially expressed genes (DEGs) were found in the salivary glands of BPH after

基金项目：国家自然科学基金面上项目（32172507）；广东省农业科学院中青年学科带头人培养项目（R2023PY-JG009）；广东省农业科学院人才引进-青年科技骨干项目（R2023YJ-QG004）

作者简介：陈宜明，男，硕士研究生，研究方向为水稻品种抗虫分子机制，E-mail：511029280@qq.com
*共同通讯作者 Author for correspondence：张振飞，博士，研究员，研究方向为褐飞虱与水稻互作关系、水稻害虫生态调控，E-mail：zhangzhenfei@gdaas.cn；许益镌，博士，教授，研究方向为昆虫生态学、社会昆虫学，E-mail：xuyijuan@scau.edu.cn

收稿日期Received：2024-03-19；修回日期Revision received：2024-06-30；接受日期Accepted：2024-07-02

treatment with tricin for 6 h and 24 h, respectively, and 23 shared DEGs were found between both time points. The number of DEGs caused by long-term treatment of tricin was significantly higher than that caused by short-term treatment, and the expression levels of these genes also exhibited a temporal induction pattern. Further analysis by Gene Ontology (GO) functional annotation indicated that these shared DEGs were mainly involved in biological processes such as response to stimuli and response to stress. At the same time, Kyoto Encyclopedia of Genes and Genomes (KEGG) analysis further demonstrated that these genes were mainly concentrated in protein digestion and absorption and endocrine regulation and other related pathways. RT-qPCR analysis of shared DEGs confirmed that tricin stimulation could indeed induce the expression of trypsin, maltase and transporter-related genes in the salivary glands of BPH. These results will help to reveal the molecular mechanism of BPH response to tricin stimulation, and also indicate that trypsin and organic anion transporter LOC111045154 may serve as potential targets for future control of BPH.

Key words: Salivary gland genes; tricin stimulation; BPH; transcriptome

褐飞虱 *Nilaparvata lugens* 属于半翅目 Hemiptera 飞虱科 Delphacidae，以水稻和野生稻为食，是一种在全球广泛分布的害虫（娄永根和程家安，1997）。褐飞虱主要通过吸食水稻植株的汁液为害，使叶片出现黄化、卷曲症状。在受害严重时，会导致稻株大面积枯黄倒伏，形成“虱烧”现象，进而引发水稻产量的大幅度下降，甚至导致绝收（程遐年等，2003）。褐飞虱的唾液腺在整个取食水稻过程中发挥着重要作用，它能分泌凝胶状唾液和水状唾液两种类型唾液。其中，水状唾液富含如多酚氧化酶、氧化还原酶、过氧化物酶和蛋白酶等多种酶类。这些酶通常被认为具有分解寄主植物中的有毒次生物质、消化营养物质以及抑制或诱导寄主多种抗性反应等作用（严盈等，2008；Moreno *et al.*，2011）。研究发现，麦长管蚜 *Sitobion avenae* 唾液腺能通过分泌多酚氧化酶将小麦体内抗虫物质酚类化合物氧化成酚类单体，从而降低这类物质对昆虫的毒害作用（Zhang *et al.*，2018）。褐飞虱也有类似报道，褐飞虱唾液中存在大量的氧化还原酶和过氧化氢酶，其氧化还原酶对解毒寄主植物体内的次生代谢产物如酚类物质、清除活性氧等发挥重要作用，而过氧化氢酶则能抵消寄主植物产生的 H_2O_2 的影响，从而降低自身受到的毒性影响和干扰植物信号传导与防御机制（Petrova and Smith，2014；Liu *et al.*，2016）。

麦黄酮是水稻体内一种重要的抗褐飞虱次生化合物，它对褐飞虱幼虫存活率、生长发育速率、产卵量和卵孵化率均有显著的抑制作用，同时它还可显著抑制褐飞虱在水稻韧皮部刺吸取食活动，后续研究还发现不同品种水稻的麦黄酮含量与对褐飞虱抗性水平成显著正相关（凌冰等，2007；Zhang *et al.*，2015；Zhang *et al.*，2017）。不过，褐飞虱在不同抗虫水稻品种的持续选择压力下，其与致害性相关的某些等位基因频率会发生改变，容易导致褐飞虱致害性变异（袁龙宇等，2022）。巩固等（2019）发现褐飞虱在应对麦黄酮刺激时可引起唾液腺丝氨酸蛋白酶及其同系物产生显著变化，进一步研究发现褐飞虱可通过分泌唾液蛋白 NlSP7 抑制水稻体内麦黄酮代谢（Gong *et al.*，2021）。但是，关于褐飞虱体内如何应答抗虫物质麦黄酮刺激的转录调控机制尚不清楚。为揭示褐飞虱唾液腺在适应水稻抗虫物质麦黄酮的重要功能，本研究利用转录组测序技术对经麦黄酮处理前后的褐飞虱唾液腺进行分析，筛选差异表达基因并挖掘可能与褐飞虱对麦黄酮适应性相关的关键基因，为进一步深入研究褐飞虱应答水稻抗虫物质麦黄酮刺激的转录调控机制奠定基础，研究结果对后续褐飞虱防控防治和水稻抗虫品种提供有价值的基因资源。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫与取样方法

本研究中使用的褐飞虱种群由广东省农业科学院植物保护研究所实验室保存建立，在人工气候培养箱（26℃±0.5℃，L：D=14 h：10 h，RH（75±5）%）中用感虫水稻TN1饲养继代。实验中供试褐飞虱均为初羽化1日龄雌成虫。

配置质量浓度为10%蔗糖溶液作为母液（对

照组CK），将麦黄酮纯样品通过乙酸乙酯溶于母液配制成100 mg/L麦黄酮溶液（试验组T）。把两种溶液分别加入Parafilm膜制成的双层液体饲囊中，并把液体饲囊固定在透明玻璃双通管的底端，再往每根管内放入经饥饿处理的褐飞虱，另一端用纱布扎紧后将其放回人工气候箱。本试验分别用含蔗糖溶液和麦黄酮溶液的液体饲囊喂养褐飞虱6 h和24 h，保证两个时间段的试验组和对照组褐飞虱各75头以上，每组设3个生物学重复。

解剖褐飞虱唾液腺时，先往褐飞虱成虫通入CO_2气体麻醉后置于体视镜下解剖，然后用镊子夹住虫体的两个后足并使用另一支镊子夹住前足和口针，从而将头部及前胸拉出，即可得到一对透明乳白色的唾液腺组织。将唾液腺腺体收集放入1.5 mL离心管液氮速冻，随后转移至-80℃冰箱保存样品备用。此次试验样本以10%蔗糖溶液处理6 h（CK6）和24 h（CK24）代表对照样本；以麦黄酮处理6 h（T6）和24 h（T24）代表麦黄酮胁迫处理样本。

1.2 转录组测序与生物信息学分析

将样品送至基迪奥生物科技有限公司进行转录组测序，测序仪器为Illumina HiSeq 4000。利用fastp软件对下机的原始数据进行质控，过滤低质量的测序数据，从而获得高质量的clean reads，以褐飞虱基因组数据（NCBI_GCF_014356525.1）为参考基因组进行基因注释。测序完成后通过基迪奥生物云平台（www.omicsmart.com）进行测序序列统计与质控、表达量分析、表达差异分析、差异基因GO和KEGG注释等生物信息学分析。其中，采用Benjamini-Hochberg校正方法对原有假设检验得到的显著性*P*值进行校正，并最终采用FDR作为差异表达基因筛选的关键指标。使用DESeq2软件分析，以FDR<0.05且$|\log_2^{\text{Fold Change}}| \geq 2$作为阈值筛选显著差异表达基因。

1.3 实时荧光定量PCR验证

挑取12个差异表达基因进行荧光定量分析，每个样品设3个生物学重复。根据定量引物设计的原则，在Primer 5软件进行引物设计和特异性检验，引物委托广州艾基生物技术有限公司进行合成（表1）。采用两步法RT-qPCR程序，条件如下：95℃初始变性3 min，95℃ 16 s，60℃ 16 s，循环40次。本试验以褐飞虱*Nlactin*（GenBank: EU179848）为内参基因，并用$2^{-\triangle\triangle CT}$法标准化基因转录水平，计算基因相对表达量。

表1 RT-qPCR验证基因及引物信息

Table 1 Validation gene and primer information for RT-qPCR

基因Gene ID	引物Primer（5′-3′）
LOC 111044311（*Try3*）	F: AACACCATCAACCACGAC R: CCTGTAGCCAAACGAGAC
LOC 111054162（*Hsp68*）	F: CTTGGAGGTGAAGACTTTG R: TCAGTGCTCGTGGATTAG
LOC 111044784（*PRSS3*）	F: GATTCCTTACCAGGTGTCA R: GTTACTTCCCAGGGCTAC
LOC111045313（*Tmprss4*）	F: CACATTGAAAGGAGGAGC R: TGACTTACTGCCCACTCG
LOC 111049618（*Mal-A3*）	F: GCAACCACGACAACTTCA R: GGTCCCACCTCACGAACA
LOC 111050405（*Slc49a4*）	F: ATCAAGCAGATACGGAGTGC R: TCCATATCGGCTTGATGGT
LOC 111054923（*Prss55*）	F: TCAAACAGTACCCATTTC R: CTCACTTTCACCCTATCC
LOC 111057129（*Mal-B1*）	F: GGCGAAATACAGCCACTA R: GAGCCGACGTACAAACGA
LOC 111049619（*Mal-B2*）	F: CAAGGCTGCCAGATTACC R: AACTGCTGCGGAGAACAA
LOC 111045318（-）	F: AGGCGGAAAGTTATCAAA R: GAAATGGTAGGCTGCTGT
LOC 111060082（*Pnliprp2*）	F: CACAGTCTCGGAGCACAT R: CAATCGCACTTCTATTGG
LO C111048038（-）	F: CGTCTGAGATTTCCCTCC R: TACTGTCCTTTCGGCTTG

1.4 统计学处理

本研究试验数据采用SPSS 25.0和Prism 8.0软件进行分析及制图。对荧光定量PCR结果进行单因素方差分析（One-way ANOVA）和Duncan′s多重比较，*P*<0.05即认为存在显著差异。

2 结果与分析

2.1 转录组测序质量分析

对褐飞虱的唾液腺进行转录组测序，结果显示所有样品的cDNA文库过滤后序列都在40 M以上，过滤后序列与原始序列的比值都超过99%，Q20和Q30分别大于96%和91%，总基因比对率大于84%（表2），表明转录组测序结果准确度高，可以进行下一步分析。

表2 褐飞虱唾液腺对照组（CK）和麦黄酮刺激（T）6 h和24 h后的RNA-seq数据统计

Table 2 Statistics of RNA-seq data from salivary glands of BPH treated under control (CK) and tricin treatment (T) for 6 h and 24 h

样本 Sample	原始序列（M） Raw reads	过滤后序列（M） Clean reads	Q20占比（%） Q20	Q30占比（%） Q30	过滤后序列比对率（%） Clean reads ratio	总基因比对率（%） Total mapped
Ck6-1	49.85	49.68	98.00	96.31	99.66	86.63
Ck6-2	43.52	43.34	98.17	96.58	99.59	86.36
Ck6-3	51.27	51.07	98.20	96.61	99.60	86.48
T6-1	41.46	41.29	98.08	96.35	99.60	86.40
T6-2	42.43	42.27	98.15	96.51	99.62	86.29
T6-3	48.00	47.85	98.23	96.69	99.68	86.41
Ck24-1	50.58	50.41	98.22	96.64	99.66	86.83
Ck24-2	53.48	53.26	98.02	96.37	99.60	86.86
Ck24-3	56.52	56.30	98.03	96.36	99.60	86.90
T24-1	47.34	47.17	98.02	96.37	99.65	86.12
T24-2	49.21	49.02	97.97	96.23	99.62	85.76
T24-3	57.66	57.46	96.77	91.16	99.66	84.49

注：1、2、3分别表示3个生物学重复。Note: 1, 2, and 3 respectively represented 3 biological replicates.

2.2 麦黄酮胁迫下褐飞虱唾液腺差异表达基因分析

通过主成分分析发现（图1-A），CK6与T6在图中位置聚集接近，CK24与T24也呈相近趋势，表明这两个时间段内的处理组和对照组的基因表达模式相似但各自存在一定的差异。与此同时，处理组和对照组在不同时间点下发生明显分离，提示了时间和处理条件对基因表达的显著影响，这表明褐飞虱唾液腺的转录水平在不同处理方法和不同时间段下发生了较大变化。

不同比较方案下上下调差异基因的数量统计如图1-B所示：CK6-vs-CK24组间共检测到470个差异基因（其中169个基因上调，301个基因下调）；T6-vs-T24组间共检测到572个差异表达基因（其中283个基因上调，289个下调）；CK24-vs-T6组间共检测到433个差异基因（其中254个基因上调，179个基因下调）；T24-vs-CK6组间共检测到667个差异表达基因（其中348个基因上调，319个下调）；CK6-vs-T6组间共检测到49个差异表达基因（其中33个基因上调，16个下调）；CK24-vs-T24组间共检测到232个差异表达基因（其中176个基因上调，56个下调）。

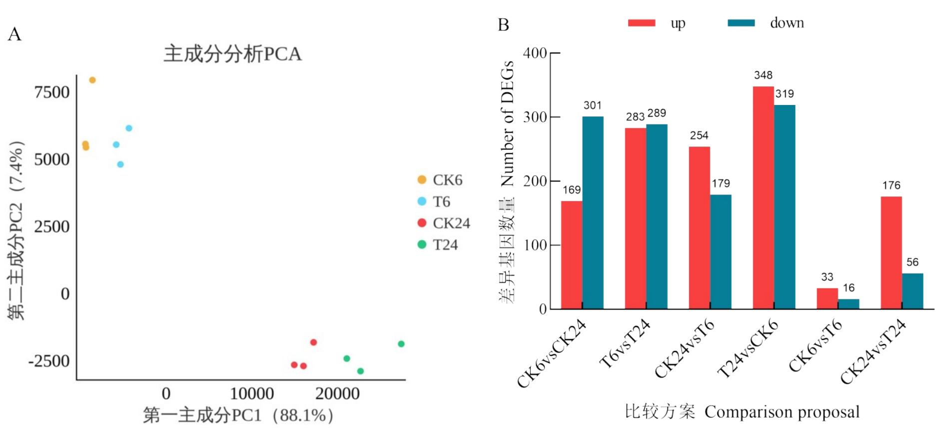

图1 不同处理条件下褐飞虱唾液腺样品的PCA分析（A）和差异表达基因数统计（B）

Fig. 1 PCA analysis of salivary gland samples of BPH under different treatment conditions (A) and quantification of differentially expressed genes (DEGs) (B)

2.3 差异表达基因功能富集分析

为了揭示麦黄酮刺激对褐飞虱唾液腺基因的影响，重点比较了CK6-vs-T6组间和CK24-vs-T24组间的差异表达基因。对这两组样本的差异基因进一步进行Veen分析发现（图2），CK6-vs-T6组间和CK24-vs-T24组间有共同差异表达基因23个，命名为基因集A；而CK24-vs-T24组特有的表达基因有209个，命名为基因集B。两个时间段中存在23个共同差异表达基因，这表明这些基因在短期和长期处理中褐飞虱对麦黄酮的整体应对机制中发挥着重要的作用。

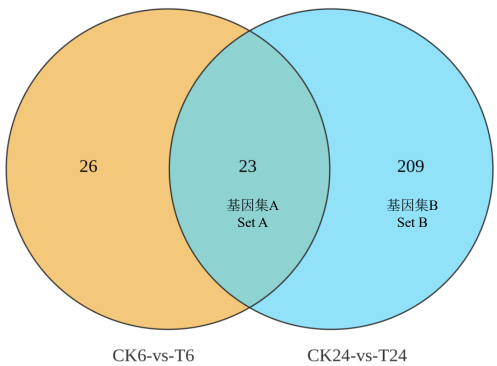

图2 CK6-vs-T6组间和CK24-vs-T24组间差异表达基因Venn分析

Fig. 2 Venn diagram analysis of differentially expressed genes between CK6-vs-T6 groups and CK24-vs-T24 groups

为了解麦黄酮刺激与褐飞虱唾液腺腺体相关基因表达变化之间的联系，研究唾液腺中差异基因参与的代谢途径，将上述基因集A和B以不同的Pathway的显著程度的FDR值进行绘制气泡图进行KEGG通路富集分析。基因集A富集分析气泡图（图3A）显示，差异表达基因主要集中在流感A（Influenza A）、蛋白质消化吸收（Protein digestion and absorption）、类胰腺分泌物（Pancreatic secretion）、神经活性配体-受体相互作用（Neuroactive ligand-receptor interaction）等通路。而基因集B的差异表达基因主要富集在类胰腺分泌物（Pancreatic secretion）、抗原处理和提呈（Antigen processing and presentation）、系统红斑狼疮（Systemic lupus erythematosus）、蛋白质消化吸收（Protein digestion and absorption）、溶酶体（Lysosome）等通路（图3B）。在麦黄酮胁迫下，褐飞虱唾液腺可能通过增强类胰腺分泌物、蛋白质消化吸收等途径的活性来调节其消化系统中特定酶的表达，从而影响自身的消化和营养吸收。这种适应性调节可能有助于昆虫有效地应对植物次生防御化合物。

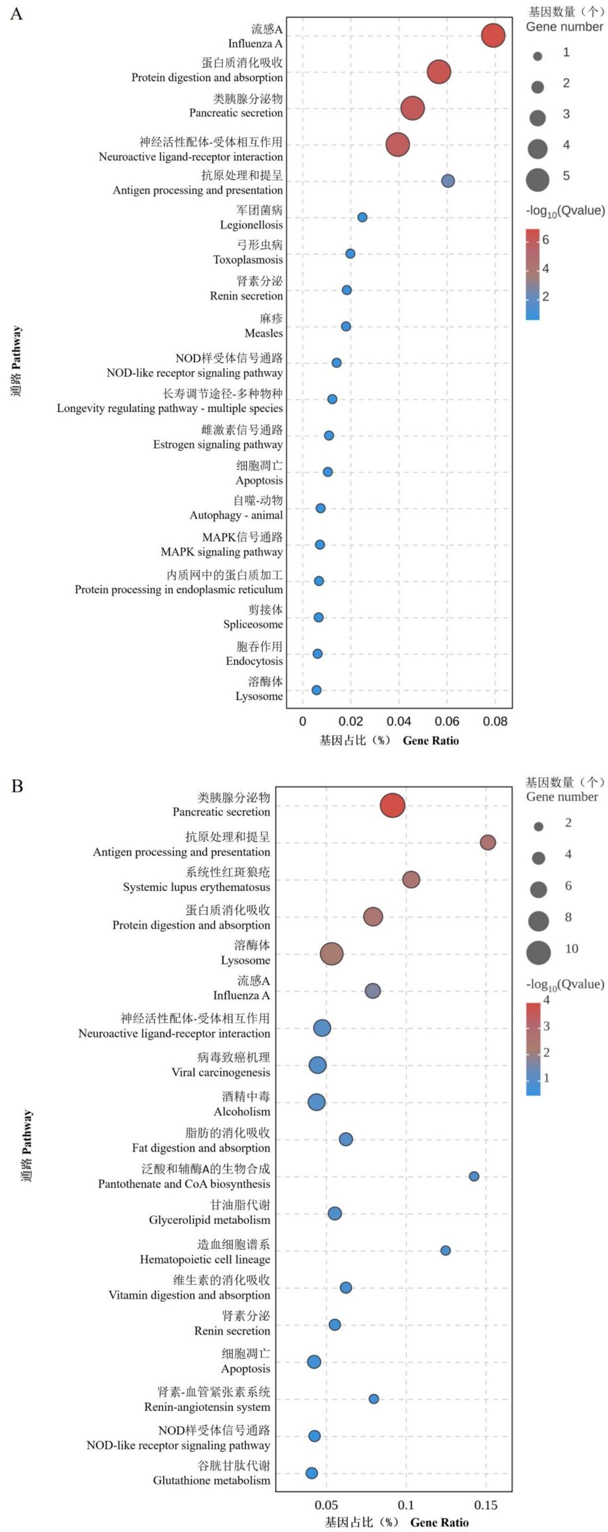

图3 基因集A（A）与基因集B（B）KEGG通路富集分析

Fig. 3 KEGG pathway enrichment analysis of gene set A （A） and gene set B（B）

为深入了解褐飞虱唾液腺基因对麦黄酮刺激响应的反应机制，本研究进一步分别对基因集A和基因集B进行GO功能富集分析。基因集A所参与的生物过程主要包括刺激响应（GO: 0050896, Response to stimulus）和胁迫响应（GO: 0006950, Response to stress），所占基因数量分别有4和3个；这些基因富集在氨基酸跨膜转运蛋白活性（GO: 0015171, Amino acid transmembrane transporter activity）的功能上，并主要处在细胞外（图4-A）。基因集B主要富集在核小体组织（GO: 0034728, Nucleosome organization）和蛋白质-DNA复合物的亚基组织（GO: 0071824, Protein-DNA complex subunit organization）等生物学过程，所占基因数量均为6个；这些基因富集在核苷酸酶活性（GO: 0008252, Nucleotidase activity）的功能上，并主要位于细胞核上（图4-B）。

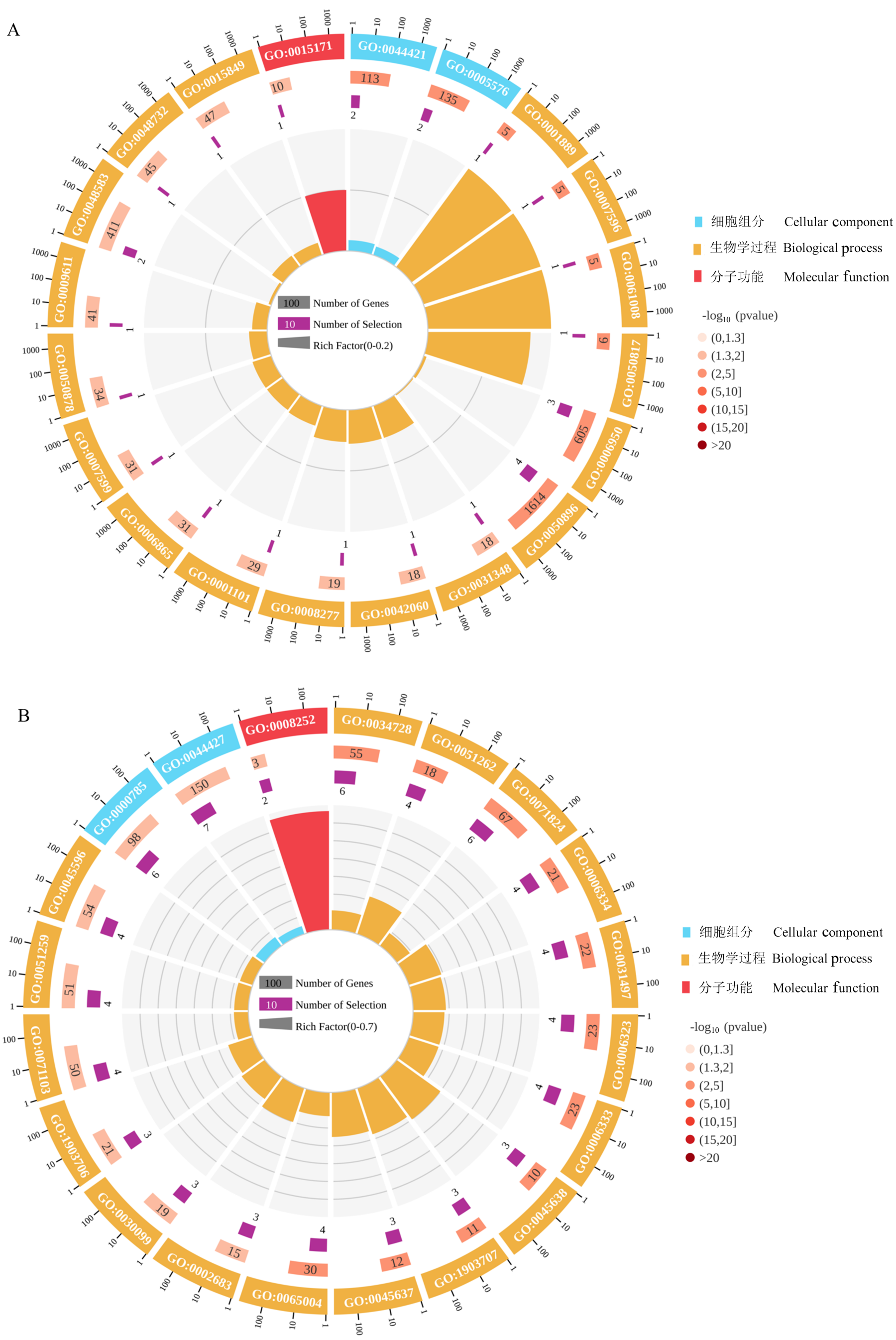

图4　基因集A（A）与基因集B（B）的GO功能富集分析

Fig. 4　Gene Ontology (GO) functional enrichment analysis of gene set A（A）and gene set B（B）

2.4 实时荧光定量验证

为验证转录组数据的可靠性，随机选取12个差异表达基因进行实时荧光定量检测。结果表明，12个基因实时荧光定量检测结果与转录组测序结果趋势基本相一致，表明转录组数据筛选出的差异表达基因具有较高的可靠性（图5）。其中*Tmprss4*、*PRSS3*、*111045318*基因经实时荧光定量PCR验证，与RNA-Seq中的数据变化趋势完全一致，受到麦黄酮刺激后褐飞虱这些基因表达量远高于对照组，且表达量随时间增加都是呈上升趋势，因此，推测其可能是褐飞虱适应麦黄酮的关键基因。

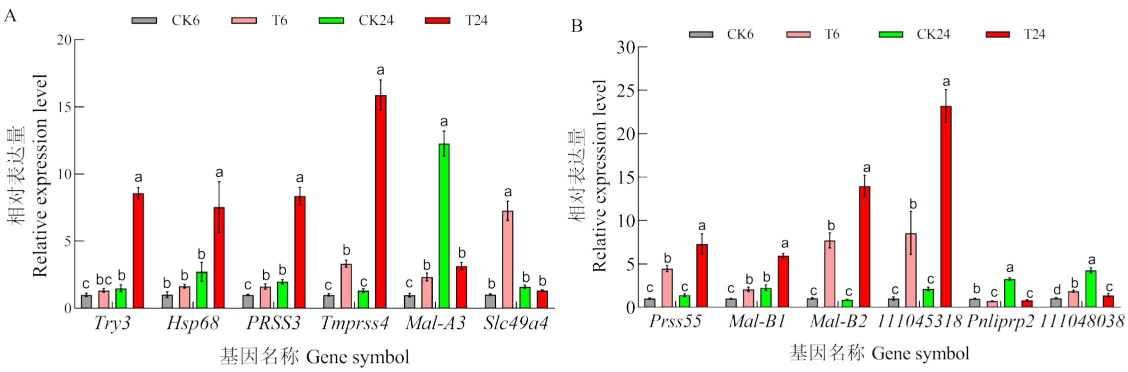

图5 基因集A（A）与基因集B（B）差异表达基因RT-qPCR验证

Fig. 5 RT-qPCR verification of differentially expressed genes in gene set A（A） and gene set B（B）

注：柱状图的结果用平均值±SD表示，使用单因素方差和Duncan′s多重比较分析数据，同一基因柱子上具不同的小写字母表示存在显著差异，$P<0.05$，n=3。Note: The results of the histogram were expressed as mean ±SD, and one-way variance and Duncan′s multiple comparison were used to analyze the data. Different lowercase letters on the same gene column indicated significant differences, $P < 0.05$, n=3.

2.5 关键基因的发掘

经麦黄酮刺激后褐飞虱唾液腺胰蛋白酶I-P1、胰蛋白酶7、胰蛋白酶II-P29等胰蛋白酶相关基因在不同时间点都呈上调表达。其中，胰蛋白酶I-P1基因在处理组表达量较高（TPM>224），而处理24 h后胰蛋白酶7的表达量接近是空白对照组的6倍，对照组一直维持在较低的表达水平。而*LOC111045154*基因在麦黄酮胁迫处理24 h后的表达量约是对照组的5倍。因此，本研究推测胰蛋白酶相关基因的表达很可能受到麦黄酮的直接刺激，说明它们可能是响应麦黄酮刺激的关键基因。除此以外，本研究还发现经麦黄酮诱导后*LOC111053606*、*LOC111054632*、*LOC111058739*和*LOC111060756*的表达量都较高，但具体功能尚未明确（表3，表4）。

3 结论与讨论

在水稻-昆虫共同进化过程中，水稻进化出了众多的防御化合物以用于提高自身对害虫的抗性，主要包括酚类化合物、萜类化合物、含氮化合物、绿叶性气味以及防御蛋白等（Wei *et al.*，2013；张月白和娄永根，2020）。当昆虫取食过程中不可避免地摄取寄主植物产生的防御化合物时，可通过代谢酶减少摄入、增强代谢能力以及降低害虫靶标对防御化合物的敏感性等多种机制去适应这些毒性物质并形成抗性（Després *et al.*，2007；Uemura *et al.*，2019）。在植食性昆虫致害性变异过程中，寄主植物抗性及其次生代谢物质对昆虫肠道或唾液腺内的各种解毒和代谢酶类的诱导作用增强，使这些解毒和代谢酶的活性也逐步增强，从而提高自身致害性。如麦双尾蚜*Brachycolus noxius*的葡糖脱氢酶在高致害性种群的唾液腺中表达量显著高于低致害种群的，该酶主要作用是对寄主植物防御化合物进行解毒（Nicholson *et al.*，2012）。麦长管蚜唾液腺分泌的漆酶能将抗性小麦体内抗虫物质酚类化合物氧化成酚类单体，降低这类物质对昆虫的毒害作用，从而更利于高致害性种群在抗性小麦上取食（Zhang *et al.*，2018）。在水稻-褐飞虱互作体系中，目前已有不少关于褐飞虱唾液腺转录组或蛋白质组的研究报道，并从中筛选出害虫适应抗虫作物的基因资源（Noda *et al.*，

表3 基因集A部分基因的功能注释

Table 3 Functional annotation of selected genes in gene set A

基因 Gene ID	基因表达量（TPM）				功能注释 Function annotation
	CK6	T6	CK24	T24	
LOC111044311	2.14	4.41	2.85	9.02	胰蛋白酶12 Trypsin-12
LOC111050328	3.99	11.60	12.49	43.37	胰蛋白酶II-P29 Trypsin II-P29
LOC111044784	62.66	132.17	82.26	224.72	胰蛋白酶I-P1 Trypsin I-P1
LOC111045313	10.55	54.78	14.01	82.57	胰蛋白酶7 Trypsin-7
LOC120349367	2.93	12.10	5.88	15.06	类麦芽糖酶A1 Maltase A1-like
LOC111047871	8.67	3.56	5.34	13.58	毒液蛋白酶 Venom protease
LOC111049618	0.54	1.64	5.46	1.84	麦芽糖酶A3 Maltase A3
LOC111046115	0.37	1.50	1.14	4.16	类内切几丁质酶A Endochitinase A-like
LOC111054162	5.15	13.44	13.59	31.94	类热休克蛋白68 Heat shock protein 68-like
LOC111056618	69.22	178.99	62.98	185.56	组织蛋白酶B Cathepsin B
LOC111044505	0.26	0.38	0.65	3.08	溶质载体49家族成员 Solute carrier family 49 member
LOC111061535	15.20	31.84	17.01	42.20	类阳离子氨基酸转运蛋白2 Cationic amino acid transporter 2-like
LOC111045154	13.36	12.83	12.11	63.27	有机阴离子转运蛋白家族成员 Solute carrier organic anion transporter family member
LOC111053606	155.27	430.40	351.62	782.79	未鉴定 Uncharacterized
LOC111054632	120.88	251.42	216.37	449.85	未鉴定 Uncharacterized
LOC111053570	9.03	25.02	8.87	24.55	未鉴定 Uncharacterized
LOC111057554	3.22	7.39	6.09	14.61	未鉴定 Uncharacterized
LOC111058739	59.47	121.11	79.09	162.93	未鉴定 Uncharacterized
LOC111060756	81.58	166.74	138.21	321.12	未鉴定 Uncharacterized
LOC111050405	5.63	23.01	6.11	1.75	未鉴定 Uncharacterized

表4 基因集B部分基因的功能注释

Table 4 Functional annotation of selected genes in gene set B

基因 Gene ID	基因表达量（TPM）				功能注释 Function annotation
	CK6	T6	CK24	T24	
LOC111054923	10.86	17.84	6.75	27.99	类胰蛋白酶 Trypsin like
LOC111045318	10.72	19.78	22.81	86.33	胰蛋白酶α-3 Trypsin alpha-3
LOC111049619	39.82	64.93	36.78	152.80	麦芽糖酶2 Maltase 2
LOC111057129	93.06	165.08	157.78	520.85	麦芽糖B1蛋白 Maltase B1 protein
LOC111064631	52.83	73.62	57.82	185.93	粘蛋白2 Mucin-2
LOC111046521	19.63	33.31	38.64	150.67	天冬酰胺内肽酶 Legumain
LOC111045320	50.83	100.64	66.42	209.24	颗粒酶M Granzyme M

续表 4 Continued table 4

基因 Gene ID	基因表达量（TPM）				功能注释 Function annotation
	CK6	T6	CK24	T24	
LOC111052473	210.66	327.80	233.54	634.39	促海藻糖转运蛋白Tret1-2同源物 Facilitated trehalose transporter Tret1-2 homolog
LOC111056012	0.33	0.46	0.32	2.18	假定解旋酶移动-10- B .1 Putative helicase mov-10-B.1
LOC111055526	0.11	0.22	0.10	1.18	预测gpi锚定蛋白58 Predicted GPI-anchored protein 58
LOC111054939	0.15	0.31	0.16	1.08	类同源蛋白Vnd Homeobox protein Vnd-like
LOC111060082	81.70	65.47	151.72	70.63	类胰脂肪酶相关蛋白1 Pancreatic triacylglycerol lipase-related protein 1-like
LOC111045857	205.10	182.86	539.22	232.84	D -3-磷酸甘油脱氢酶样 D-3-phosphoglycerate dehydrogenase-like
LOC111048038	1.27	2.06	7.63	0.94	未鉴定Uncharacterized
LOC111044314	256.76	409.05	334.57	902.24	未鉴定Uncharacterized
LOC120350939	0.84	1.36	0.57	5.33	未鉴定Uncharacterized
LOC120351772	17.28	11.58	85.98	201.74	未鉴定Uncharacterized
LOC111049636	670.32	1222.49	935.05	2143.25	未鉴定Uncharacterized

2008；Konishi *et al.*，2009；Ji *et al.*，2013；巩固等，2019）。郑瑜（2019）通过对取食TN1敏感水稻品种和IR56抗性水稻后的褐飞虱中肠组织进行转录组学研究，筛选出18个与消化、转运、解毒以及糖代谢等功能相关的差异表达基因；Zhang等（2019）也通过对取食TN1敏感水稻和携带*Bph6*基因的抗性水稻品种后的褐飞虱进行转录组学研究，发现褐飞虱的细胞凋亡、自噬、活性氧消除以及解毒等基因均上调表达。

麦黄酮是一种广泛分布于水稻的抗褐飞虱酚类次生化合物，不同品种麦黄酮含量与对褐飞虱抗性水平成显著正相关（凌冰等，2007；Zhang *et al.*，2017）。本课题组前期研究发现褐飞虱唾液腺通过分泌唾液蛋白NlSP7影响水稻体内麦黄酮代谢，但褐飞虱自身在适应水稻抗虫次生代谢物-麦黄酮刺激的机制尚不清楚。本研究通过对麦黄酮刺激下的褐飞虱唾液腺进行转录组学分析及RT-qPCR验证，发现褐飞虱唾液腺的胰蛋白酶、麦芽糖酶及转运蛋白相关基因都受麦黄酮的刺激诱导表达，并且主要富集在蛋白质消化吸收、内分泌调节等途径，与前人研究报道相似（郑瑜，2016）。目前本研究主要是基于褐飞虱应答麦黄酮胁迫后的差异表达基因进行研究分析，后续还需通过一系列试验对这些差异基因调控麦黄酮适应或解毒作用的具体功能进行验证，深入解析褐飞虱唾液腺调控水稻次生抗性代谢物解毒提高致害性的机制，从而为获得褐飞虱防治靶标基因和可持续防治奠定理论基础。

胰蛋白酶作为丝氨酸蛋白酶家族中重要一员，参与了包括昆虫发育、生殖、消化、激素活化和免疫等多种生理生化的过程（Zou *et al.*，2006；Bao *et al.*，2014）。其能够催化寄主植物营养物质的水解反应，将其分解成氨基酸和小分子肽，这些产物的增加可能有助于减轻次生代谢产物对褐飞虱的毒害作用（Yue *et al.*，2019；Yang *et al.*，2023）。槲皮素、芦丁、橙皮素等黄酮类次生代谢化合物已被证实不仅能在体外对胰蛋白酶具有抑制作用，还能显著降低棉铃虫*Helicoverpa armigera*幼虫体内的胰蛋白酶活性，但目前关于胰蛋白酶活性对寄主植物中次生代谢物的适应性调节尚未深入研究（War *et al.*，2013；许明，2013；Lazarević *et al.*，2015）。本研究结果显示，经麦黄酮刺激处理后，褐飞虱唾液腺的胰蛋白酶I-P1、胰蛋白酶7、胰蛋白酶II-P29等胰蛋白酶相关基因表达量显著升高，这表明胰蛋白酶可能在褐飞虱应对麦黄酮的适应过程中发挥着重要作用，从而

影响褐飞虱对寄主植物防御化合物的适应性和生存能力。

麦黄酮除了能够影响褐飞虱消化吸收相关的胰蛋白酶外，还可对解毒酶相关的跨膜转运蛋白产生影响。其中，有机阴离子转运蛋白和有机阴离子转运多肽是一类重要的摄取类转运蛋白，可在体内介导多种药物、毒素和其他外源性物质的跨膜转运（Hagenbuch and Meier，2003；Li *et al.*，2019）。Groen 等（2017）发现在哇巴因、地高辛和洋地黄毒苷这3种毒性物质刺激下，黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 的 *POatp33Eb* 和 *POatp58Db* 基因敲除突变体的存活率、LD_{50}相较于野生型都显著降低，推测这两个基因编码的有机阴离子转运多肽可能具有运输转移毒性物质的功能，从而有助于昆虫自身抵抗毒性物质。此外，Rösner 等（2021）发现经马拉硫磷和灭幼脲杀虫剂刺激，赤拟谷盗 *Tribolium castaneum* 的 *TcOATP 1-A6* 和 *TcOATP 5 A1.1* 有机阴离子转运多肽基因的表达水平显著增加，进一步通过 RNAi 技术证实了 *TcOATP 1-A6* 和 *TcOATP 5 A1.1* 具有降低虫体自身对化学杀虫剂敏感性的功能。本研究发现 *LOC111045154* 基因能编码一种有机阴离子转运蛋白，该基因受麦黄酮胁迫24 h后被明显诱导表达，推测它可能在褐飞虱对水稻抗虫物质麦黄酮的解毒作用中发挥关键作用。综上所述，胰蛋白酶和有机阴离子转运蛋白LOC111045154可能参与褐飞虱对黄酮类抗虫物质的解毒或适应过程，有希望成为未来防治褐飞虱的潜在靶点。

参考文献（References）

Bao YY, Qin X, Yu B, *et al*. Genomic insights into the serine protease gene family and expression profile analysis in the planthopper, *Nilaparvata lugens* [J]. *BMC Genomics*, 2014, 15 (1): 1-17.

Chen XN, Wu JC, Ma F. Studies and Control on Rice Brown Planthopper *Nilaparvata lugens* [M]. Beijing: Agricultural Press of China, 2003: 10-25. [程遐年, 吴进才, 马飞. 褐飞虱研究与防治[M]. 北京: 中国农业出版社, 2003: 10-25]

Després L, David JP, Gallet C. The evolutionary ecology of insect resistance to plant chemicals [J]. *Trends in Ecology & Evolution*, 2007, 22 (6): 298-307.

Gong G, Cui BY, Dai ZY, *et al*. Salivary proteomics response of rice brown planthopper *Nilaparvata lugens* (Stål) to stimulation of tricin, a key rice insect-resistant compound [J] . *Journal of Environmental Entomology*, 2019, 41 (1): 50-61. [巩固, 崔百元, 戴彰言, 等. 褐飞虱应对水稻抗虫物质麦黄酮刺激的唾液蛋白组学响应 [J]. 环境昆虫学报, 2019, 41 (1): 50-61]

Gong G, Yuan LY, Li YF, *et al*. Salivary protein 7 of the brown planthopper functions as an effector for mediating tricin metabolism in rice plants [J]. *Scientific Reports*, 2022, 12 (1): 3205.

Groen SC, La Plante ER, Alexandre NM, *et al*. Multidrug transporters and organic anion transporting polypeptides protect insects against the toxic effects of cardenolides [J]. *Insect Biochemistry and Molecular Biology*, 2017, 81: 51-61.

Hagenbuch B, Meier PJ. The superfamily of organic anion transporting polypeptides [J]. *Biochimica Biophysica Acta (BBA) - Biomembranes*, 2003, 1609 (1): 1-18.

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 [J]. *PLoS ONE*, 2013, 8 (11): e79612.

Konishi H, Noda H, Tamura Y, *et al*. Proteomic analysis of the salivary glands of the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) (Homoptera: Delphacidae) [J]. *Applied Entomology and Zoology*, 2009, 44 (4): 525-534.

Lazarević J, Janković TM. Dietary and phylogenetic correlates of digestive trypsin activity in insect pests [J]. *Entomologia Experimentalis Applicata*, 2015, 157 (2): 123-151.

Li TT, An JX, Xu JY, *et al*. Overview of organic anion transporters and organic anion transporter polypeptides and their roles in the liver [J]. *World Journal of Clinical Cases*, 2019, 7 (23): 3915.

Ling B, Dong HX, Zhang MX, *et al*. Resistant evaluation of rice tricin on rice brown planthopper [J]. *Act Ecological Sinica*, 2007, 27 (4): 1300-1307. [凌冰, 董红霞, 张茂新, 等. 水稻麦黄酮对褐飞虱的抗性潜力 [J]. 生态学报, 2007, 27 (4): 1300-1307]

Liu X, Zhou H, Zhao J, *et al*. Identification of the secreted watery saliva proteins of the rice brown planthopper, *Nilaparvata lugens* (Stål) by transcriptome and shotgun LC - MS/MS approach [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2016, 89: 60-69.

Lou YG, Cheng JA. Induced resistance to insects in plants [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 1997, 40 (3): 320-331. [娄永根, 程家安. 植物的诱导抗虫性 [J]. 昆虫学报, 1997, 40 (3): 320-331]

Moreno A, Garzo E, Fernandez - Mata G, *et al*. Aphids secrete watery saliva into plant tissues from the onset of stylet penetration [J]. *Entomologia Experimentalis Applicata*, 2011, 139 (2): 145-153.

Nicholson SJ, Hartson SD, Puterka GJ. Proteomic analysis of secreted saliva from Russian wheat aphid (*Diuraphis noxia* Kurd) biotypes that differ in virulence to wheat [J]. *Journal of Proteomics*, 2012, 75 (7): 2252-2268.

Noda H, Kawai S, Koizumi Y, *et al*. Annotated ESTs from various tissues of the brown planthopper *Nilaparvata lugens*: A genomic resource for studying agricultural pests [J]. *Bmc Genomics*, 2008, 9 (1): 1-18.

Petrova A, Smith CM. Immunodetection of a brown planthopper (*Nilaparvata lugens* Stål) salivary catalase-like protein into tissues of rice, *Oryza sativa* [J]. *Insect Molecular Biology*, 2014, 23 (1): 13-25.

Rösner J, Tietmeyer J, Merzendorfer H. Organic anion-transporting polypeptides are involved in the elimination of insecticides from the red flour beetle, *Tribolium castaneum* [J]. *Journal of Pest Science*, 2021, 2 (23): 1-11.

Uemura T, Arimura GI. Current opinions about herbivore-associated molecular patterns and plant intracellular signaling [J]. *Plant Signaling & Behavior*, 2019, 14 (9): e1633887.

War AR, Paulraj MG, Hussain B, *et al*. Effect of plant secondary metabolites on legume pod borer, *Helicoverpa armigera* [J]. *Journal of Pest Science*, 2013, 86: 399-408.

Wei J, Yan L, Ren Q, *et al*. Antagonism between herbivore-induced plant volatiles and trichomes affects tritrophic interactions [J]. *Plant, Cell & Environment*, 2013, 36 (2): 315-327.

Xu M. Study on the Stability of Flavonoids of Tartary Buckwheat and the Interaction with Trypsin [D]. Taiyuan: Shanxi University Master Thesis, 2013. [许明. 苦荞黄酮类化合物的稳定性及其与胰蛋白酶相互作用的研究 [D]. 太原: 山西大学硕士论文, 2013]

Yan Y, Liu WX, Wan FH. Roles of salivary components in piercing-sucking insect-plant interactions [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2008, 7 (5): 537-544. [严盈, 刘万学, 万方浩. 唾液成分在刺吸式昆虫与植物关系中的作用 [J]. 昆虫学报, 2008, 7 (5): 537-544]

Yang J, Yan SY, Li GC, *et al.* The brown planthopper *NlDHRS11* is involved in the detoxification of rice secondary compounds [J]. *Pest Management Science*, 2023, 79 (12): 4828-4838.

Yuan LY, Li YF, Xiao HX, *et al*. Research progress on mechanism of virulence of the brown planthopper (Hemiptera: Delphacidae) [J]. *Journal of Environmental Entomology*, 2022, 44 (2): 297-304. [袁龙宇, 李燕芳, 肖汉祥, 等. 褐飞虱致害性变异机制研究进展 [J]. 环境昆虫学报, 2022, 44 (2): 297-304]

Yue L, Kang K, Zhang W. Metabolic responses of brown planthoppers to IR56 resistant rice cultivar containing multiple resistance genes [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2019, 113 (5): 67-76.

Zhang J, Guan W, Huang C, *et al*. Combining next-generation sequencing and single-molecule sequencing to explore brown plant hopper responses to contrasting genotypes of japonica rice [J]. *BMC Genomics*, 2019, 20 (1): 1-18.

Zhang Y, Fan J, Francis F, *et al*. Molecular characterization and gene silencing of *Laccase1* in the grain aphid, *Sitobion avenae* [J]. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 2018, 97 (4): e21446.

Zhang YB, Lou YG. Research progress in chemical interactions between plants and phytophagous insects [J]. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 2020, 31 (7): 2151-2160. [张月白, 娄永根. 植物与植食性昆虫化学互作研究进展 [J]. 应用生态学报, 2020, 31 (7): 2151-2160]

Zhang ZF, Cui BY, Yan SJ, *et al*. Evaluation of tricin, a stylet probing stimulant of brown planthopper, in infested and non-infested rice plants [J]. *Journal of Applied Entomology*, 2017, 141 (5): 393-401.

Zhang ZF, Cui BY, Zhang Y. Electrical penetration graphs indicate that tricin is a key secondary metabolite of rice, inhibiting phloem feeding of brown planthopper, *Nilaparvata lugens* [J]. *Entomologia Experimentalis Applicata*, 2015, 156 (1): 14-27.

Zhen Y. Studies on the Virulence and Midgut Transcriptome of *Nilaparvata lugens* (Stål) Population Reared on Rice Resistant Variety IR56 [D]. Peking: Chinese Academy of Agricultural Sciences Master Thesis, 2016. [郑瑜. 褐飞虱IR56种群致害性及中肠转录组的研究 [D]. 北京: 中国农业科学院硕士论文, 2016]

Zou Z, Lopez DL, Kanost MR, *et al*. Comparative analysis of serine protease-related genes in the honey bee genome: possible involvement in embryonic development and innate immunity [J]. *Insect Molecular Biology*, 2006, 15 (5): 603-614.