

水稻 *OsBBTIs* 基因家族鉴定及在非生物胁迫下的表达分析

卢禹彤 刘博妍 车仁祥 张玉坤 朱凤金 蓝兴国*

(东北盐碱植被恢复与重建教育部重点实验室(东北林业大学), 哈尔滨 150040)

摘要 Bowman-Birk 型胰蛋白酶抑制剂(Bowman-Birk type trypsin inhibitor, BBTI)是植物中广泛分布的一类胰蛋白酶抑制剂,在植物抵御胁迫过程中发挥重要作用。该研究利用生物信息学方法在基因组水平上鉴定出 11 个水稻(*Oryza sativa*) *BBTIs* 基因家族成员,其中,10 个 *OsBBTIs* 基因成簇聚集于 1 号染色体前端,而另外 1 个 *OsBBTI13* 基因定位于 3 号染色体。*OsBBTIs* 蛋白具有 N 端信号肽和 1~3 个典型保守的 Bowman-Birk 型结构域。*OsBBTIs* 基因的启动子区具有响应茉莉酸和脱落酸及非生物胁迫应激反应相关响应元件。转录组数据显示,所有 *OsBBTIs* 基因表达能够被茉莉酸诱导,多数 *OsBBTIs* 基因表达可以响应非生物胁迫。利用 qRT-PCR 检测 NaHCO_3 和 NaCl 胁迫下水稻 *OsBBTIs* 基因表达水平,结果显示,盐碱胁迫显著诱导 *OsBBTIs* 基因表达。该研究可为进一步研究 *OsBBTIs* 蛋白在非生物胁迫中的功能奠定基础。

关键词 水稻; *OsBBTIs* 基因; Bowman-Birk 型结构域; 非生物胁迫; 表达分析

中图分类号: Q786 文献标志码: A doi: 10. 7525/j. issn. 1673-5102. 2025. 05. 009

Identification of *OsBBTIs* Gene Family in Rice and Its Expression Analysis under Abiotic Stress

LU Yutong LIU Boyan CHE Renxiang ZHANG Yukun ZHU Fengjin LAN Xingguo*

(Key Laboratory of Saline-Alkali Vegetation Restoration and Reconstruction-Ministry of Education(Northeast Forestry University), Harbin 150040)

Abstract Bowman-Birk trypsin inhibitor (BBTI) is a widely distributed trypsin inhibitor in plants, which plays an important role in the process of plant resistance to the stresses. In this study, 11 rice *BBTIs* gene family members were identified at the genome level by bioinformatics methods, among which 10 *OsBBTI* genes were clustered at the front of chromosome 1, and *OsBBTI13* gene was located on chromosome 3. *OsBBTIs* protein had N-terminal signal peptide and contained 1-3 typical conserved Bowman-Birk type domains. The promoter region of *OsBBTIs* gene had response elements related to plant hormones jasmonic acid, abscisic acid and the abiotic stresses. Transcriptome data showed that all *OsBBTIs* gene can be induced by jasmonic acid, and most *OsBBTI* genes can be expressed in response to the abiotic stresses. qRT-PCR was used to analyze the expression level of *OsBBTIs* gene under NaHCO_3 and NaCl stresses, the results showed that the expression level of *OsBBTIs* gene increased under the saline-alkali stresses. This study laid a foundation for further study on the biological function of *OsBBTIs* proteins in abiotic stress.

Key words *Oryza sativa*; *OsBBTIs*; BowB domain; abiotic stress; expression analysis

蛋白酶抑制剂(protase inhibitors, PIs)能够与靶标蛋白酶结合并调节其活性,从而调控植物蛋白代谢,影响细胞内多种生物进程。蛋白酶抑制剂在植物受到机械损伤、病原菌侵染时,作为一类重要的植物防御蛋白发挥作用^[1]。植物蛋白酶抑

制剂主要分为丝氨酸蛋白酶抑制剂、半胱氨酸蛋白酶抑制剂、天冬氨酸蛋白酶抑制剂和金属蛋白酶抑制剂^[2]。胰蛋白酶抑制剂(trypsin inhibitor, TI)属于丝氨酸蛋白酶抑制剂,根据结构和序列特征,胰蛋白酶抑制剂可分为 Kunitz 型、Bowman-Birk

基金项目:黑龙江省大学生创新创业训练计划项目(DC-2024267);国家自然科学基金面上项目(31870300)。

第一作者简介:卢禹彤(2003—),女,本科生,主要从事植物逆境生物学研究。

* 通信作者: E-mail: lanxingguo@126.com。

收稿日期: 2025 年 2 月 13 日。

型、Potato I 型、Potato II 型和 Kazal 型 5 种类型^[3]。

Bowman-Birk 型胰蛋白酶抑制剂 (Bowman-Birk type trypsin inhibitor, BBTI) 最先从大豆 (*Glycine max*) 中分离得到, 随后在多种豆科 (Fabaceae)、禾本科 (Poaceae)、菊科 (Asteraceae) 植物中被发现并被广泛研究。双子叶植物只有 1 或 2 个 BBTI 蛋白, 一般仅有 1 个 Bowman-Birk 型结构域 (BowB domain), 结构域上的 2 个活性位点分别特异抑制胰蛋白酶和胰凝乳蛋白酶活性^[4]。单子叶植物含有 3 种大小不同的 BBTI 蛋白^[5]。BowB 结构域 C 端的回环构象在双子叶植物 BBTI 蛋白中对应于胰凝乳蛋白酶抑制反应回环, 而单子叶植物 BBTI 蛋白由于缺少二硫键的约束, 构象松散而不具有蛋白酶抑制活性, 因此, 单子叶植物 BBTI 蛋白的每个 BowB 结构域中只有 1 个反应位点^[6]。作为蛋白酶抑制剂, BBTI 蛋白能够抑制昆虫肠道内蛋白酶活性, 导致其发育不良而死亡, 提高作物抗虫能力^[7], 在植物蛋白质存储和防御反应中发挥重要作用。

籼稻 (*Oryza sativa* subsp. *indica*) 基因组共有 13 个 BBTIs 基因家族成员, 其中, BBTI9 基因不被转录表达, BBTI10 基因被错误翻译^[5]。已有研究^[8]表明, 水稻 BBTI5 基因在斜纹夜蛾 (*Spodoptera litoralis*) 和茉莉酸 (jasmonic acid, JA) 处理的幼苗中被显著诱导表达。过表达 BBTI7 基因能够增强水稻的稻瘟菌 (*Magnaporthe oryzae*) 抗性^[9]。BBTI4 蛋白是水稻抗白叶枯病途径的重要组分, 含有 3 个 BowB 结构域, 能被 JA 处理或机械损伤诱导上调表达, 在水稻中超表达 BBTI4 基因可以显著增强水稻对白叶枯病抗性^[10]。此外, BBTI4 蛋白可以被稻瘟菌效应蛋白 AvrPiz-t 直接靶标并调控其胰蛋白酶抑制剂活性, 参与水稻抗病途径^[3]。

虽然水稻 BBTI 蛋白在抗病虫害方面已有广泛报道, 但关于水稻 BBTI 蛋白家族的研究还有待进一步完善, 对于 BBTI 蛋白家族在其他方面的功能还需更深一步的探索。本研究利用生物信息学方法对水稻 BBTIs 基因家族进行鉴定, 分析 *OsBBTIs* 基因在不同激素和非生物胁迫下的表达量变化情况, 为深入研究 BBTI 蛋白家族的生物学功能奠定基础。

1 材料与方法

1.1 试验材料

水稻龙粳 11 (*Oryza sativa* subsp. *japonica* cv.

longjing11, Lj11) 种子由东北盐碱植被恢复与重建教育部重点实验室 (东北林业大学) 保存。选择颗粒饱满、大小均一的水稻种子, 使用 75% 乙醇消毒 2 min, 蒸馏水冲洗 2 遍, 后用 1% NaClO 消毒 20 min, 蒸馏水冲洗干净。将消毒后的水稻种子在 30 °C 培养箱催芽 2 d, 随后转移至 26 °C 光照 16 h、24 °C 黑暗 8 h 的培养箱内, 使用 1/8 霍格兰培养液培育至三叶期进行试验^[11]。

1.2 水稻 *OsBBTIs* 基因家族成员鉴定

在 RAP-DB 网站 (<https://rapdb.dna.affrc.go.jp/download/irgsp1.html>) 下载水稻全基因组序列、蛋白质组数据及基因组注释文件。利用隐马尔可夫模型 (PF00228) 搜索水稻蛋白质组中含有 BowB 保守结构域的蛋白序列, 去除重复后使用 Interpro 进行验证, 在结果中筛选符合特征的序列。使用 TBtools 软件获取基因家族成员的序列信息^[12]。

1.3 水稻 *OsBBTIs* 蛋白特征分析

利用在线工具 ProtParam (<http://web.expasy.org/protparam/>) 分析水稻 BBTIs 蛋白家族成员的理化性质, 获得氨基酸数、分子量、等电点 (pI) 等数据。使用网站 WoLF PSORT (<https://www.genscript.com/wolf-psort.html?src=leftbar>) 预测 *OsBBTIs* 蛋白的亚细胞定位。

1.4 水稻 *OsBBTIs* 基因染色体定位、基因结构及保守基序分析

从水稻基因组注释文件中获取 *OsBBTIs* 基因的染色体位置及外显子、内含子结构信息, 利用在线网站 SMART (https://smart.embl.de/smart/set_mode.cgi?NORMAL=1) 分析蛋白质保守基序。使用 GSDS2.0 (https://gsds.gao-lab.org/Gsds_help.php) 和 Adobe Illustrator 对 *OsBBTIs* 基因染色体位置、基因结构和蛋白质保守结构域进行可视化分析。

1.5 水稻 *OsBBTIs* 蛋白家族系统发育树构建

从 NCBI 获取与 *OsBBTIs* 蛋白同源性较高的序列, 使用 MEGA7 软件 ClustalW 功能对获取的蛋白进行多序列比对, 采用邻接法 (neighbour-joining method, NJ) 构建系统进化树, 并使用在线网站 iTOL (<https://itol.embl.de/>) 进行分析。

1.6 水稻 *OsBBTIs* 基因启动子顺式作用元件分析

利用 TBtools 软件提取 *OsBBTIs* 基因上游 2 000 bp 基因组序列作为启动子, 通过 PlantCARE (<https://bioinformatics.psb.ugent.be/webtools/plant->

care/html/)分析启动子元件,使用 R 软件进行统计分析并可视化。

1.7 水稻 *OsBBTIs* 基因响应激素与胁迫表达分析

从 TENOR 网站 (<https://tenor.dna.affrc.go.jp/>) 下载水稻转录组 RPKM 数据^[13],数据来源于 10 d 龄水稻 (*Oryza sativa* subsp. *japonica* cv. Nipponbare) 幼苗,分别在培养液中添加浓度为 100 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 的脱落酸和茉莉酸进行激素处理,将幼苗离水晾干以进行干旱胁迫处理,将植株完全浸没于培养液中模拟淹涝胁迫,4 $^{\circ}\text{C}$ 培养以进行低温处理,向培养液中加入浓度为 0.6 $\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 甘露醇进行渗透胁迫处理。使用基因号筛选出 *OsBBTIs* 基因的表达

量数据,利用 Hiplot (<https://hiplot.cn/basic/heatmap>)生成激素和胁迫处理表达量热图。

1.8 qRT-PCR 荧光定量分析

使用 60 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaHCO_3 和 100 $\text{mmol}\cdot\text{L}^{-1}$ NaCl 对三叶期水稻幼苗进行胁迫处理,分别在 0、3、6、12、24 h 时取根组织,液氮速冻并置于超低温冰箱 -80°C 保存。使用植物 RNA 提取试剂盒提取样品总 RNA 并反转录成 cDNA。根据目的基因序列设计定量 PCR 引物(表 1),使用 SYBR Green qPCR Master Mix 荧光定量试剂盒进行 qPCR 检测目的基因和内参基因的 Ct 值,3 次重复,使用 $2^{-\Delta\Delta\text{Ct}}$ 法分析基因相对表达量^[14]。

表 1 *OsBBTIs* 基因相关的 qPCR 引物
Table 1 *OsBBTIs* gene-related qPCR primers

基因 Gene	上游引物 Forward primer(5'→3')	下游引物 Reverse primer(5'→3')
<i>OsBBT11</i>	CAAAGCAAGCAAGACGTCCA	GATCGGGAGGCGTATGGTG
<i>OsBBT13</i>	GATTGCTGCGACAACACCAC	GAGTGCATGGTGTGCACTTG
<i>OsBBT12</i>	TGCGACGACATCGTCAAGAA	TCCTTCACTCAGACAACGGC
<i>Actin</i>	CGTCCTCCTGCTTGTCTC	TAGGCCGGTTGAAAACCTTTG

2 结果与分析

2.1 水稻 *OsBBTIs* 基因家族成员筛选及其编码蛋白理化性质

在 Interpro 网站查找并下载 BowB 保守结构域信息,使用序列号 PF00228,通过隐马尔科夫模型搜索水稻蛋白质组中包含 BowB 结构域的蛋白序列,并利用 Interpro 验证查找到序列的结构域,最

终在水稻基因组中鉴定出 11 个 *OsBBTIs* 基因家族成员。*OsBBTIs* 编码蛋白长度为 100(*OsBBT12*)~259(*OsBBT13*)氨基酸,推测分子质量为 10.7~27.9 kDa, *OsBBT11*~*OsBBT13* 较小, *OsBBT11*~*OsBBT18* 较大; *OsBBT1* 蛋白理论等电点为 4.46~8.94,其中, *OsBBT11*~*OsBBT16* 偏酸性,其余成员则偏碱性; PSORT 预测大部分 *OsBBT1* 蛋白定位于胞外基质,仅 *OsBBT13* 蛋白定位于叶绿体(表 2)。

表 2 水稻 *OsBBTIs* 基因家族成员基本信息

Table 2 The basic information of *OsBBTIs* gene family members in rice

基因名称 Gene name	基因号 Gene_ID	基因长度 Gene length/bp	编码序列长度 CDS length/bp	氨基酸数 Amino acid number	分子质量 Molecular mass /Da	等电点 Isoelectric point	亚细胞定位 Subcellular localization
<i>OsBBT11</i>	Os01g0123900	858	582	193	21 351.29	5.04	extr
<i>OsBBT12</i>	Os01g0124000	910	561	186	20 100.09	4.90	extr
<i>OsBBT13</i>	Os01g0124100	930	780	259	27 918.89	5.32	extr
<i>OsBBT14</i>	Os01g0124200	1 059	756	251	27 734.96	5.36	extr
<i>OsBBT15</i>	Os01g0124401	1 063	765	254	27 789.74	5.38	extr
<i>OsBBT16</i>	Os01g0124600	573	573	190	20 735.18	4.46	extr
<i>OsBBT17</i>	Os01g0124650	847	558	185	20 103.10	8.49	extr
<i>OsBBT18</i>	Os01g0127600	878	540	179	19 334.10	8.08	extr
<i>OsBBT111</i>	Os01g0131900	919	306	101	10 770.82	8.84	extr
<i>OsBBT112</i>	Os01g0132000	756	303	100	10 716.85	8.70	extr
<i>OsBBT113</i>	Os03g0823400	979	384	127	13 481.52	8.94	chlo

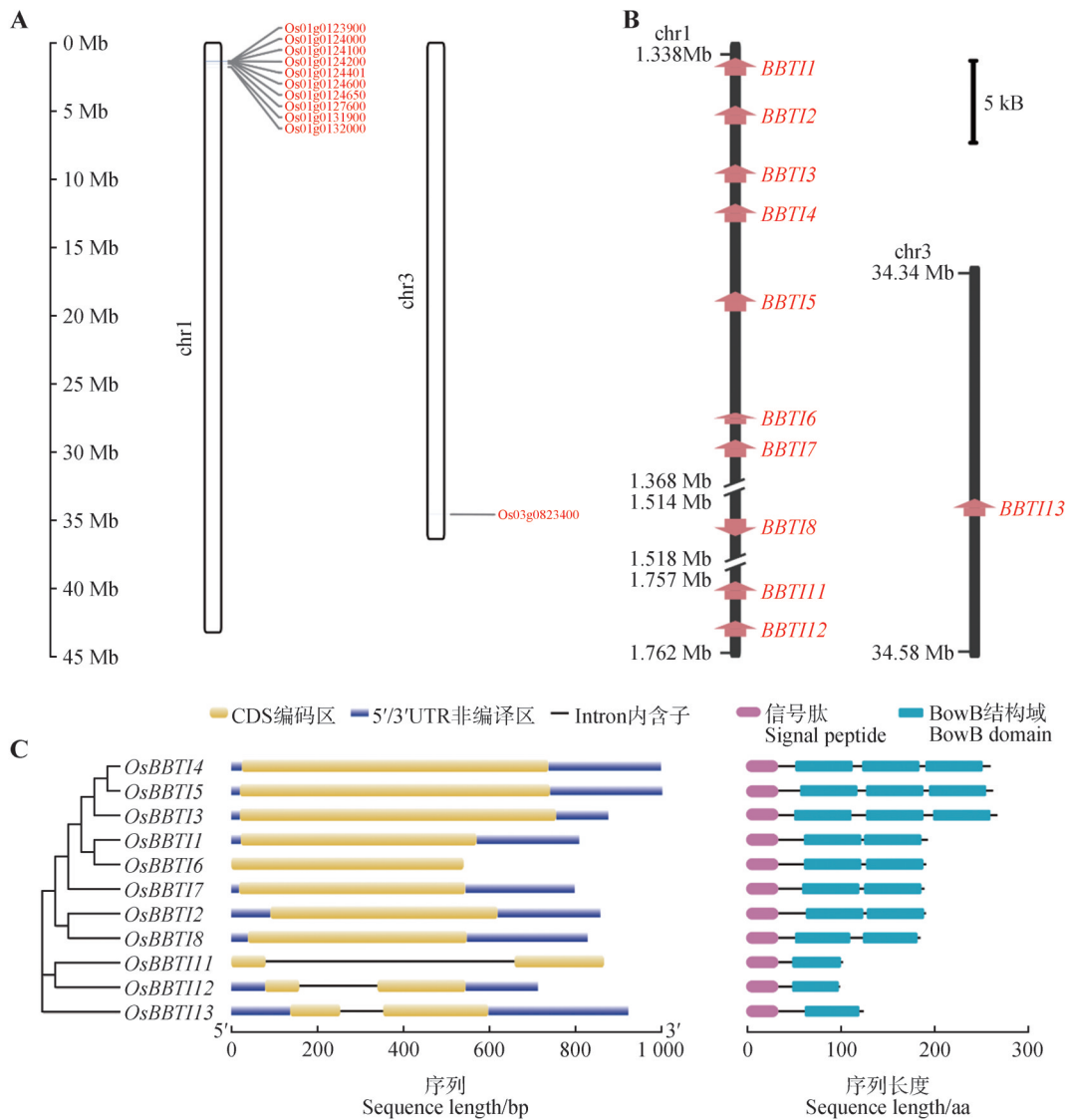
注:extr. 胞外基质;chlo. 叶绿体。

Note:extr. Extracellular; chlo. Chloroplast.

2.2 水稻 *OsBBTIs* 基因家族成员的染色体定位、基因结构及保守基序

对 11 个 *OsBBTIs* 基因进行染色体定位分析,发现其中 10 个基因家族成员成簇聚集在 1 号染色体前端 1.338~1.762 Mb, 另外 1 个基因家族成员 *OsBBTI13* 定位于 3 号染色体(图 1A); 多数 *OsBBTIs* 基因方向为反链(reverse strand), 仅 *OsBBTI8* 基因为正链(forward strand)(图 1B)。根据水稻全基因组注释文件分析 *OsBBTIs* 基因家族的基因结构, 结

果表明: *OsBBTI1~OsBBTI8* 含有 1 个外显子, *OsBBTI11~OsBBTI13* 含有 2 个外显子。利用 SMART 在线工具分析 11 个 *OsBBTIs* 蛋白保守结构域, 发现所有的 *OsBBTIs* 蛋白都含有 N 端信号肽和 1~3 个 BowB 结构域, 其中, *OsBBTI11*、*OsBBTI12*、*OsBBTI13* 只含有 1 个, *OsBBTI1*、*OsBBTI2*、*OsBBTI6*、*OsBBTI7*、*OsBBTI8* 含有 2 个, 而 *OsBBTI3*、*OsBBTI4*、*OsBBTI5* 具有 3 个串联的 BowB 结构域(图 1C)。



A. 染色体定位; B. 基因分布; C. 基因结构与蛋白质保守结构域。

A. Chromosome localization; B. Gene distribution; C. Gene structure and protein conserved domain.

图 1 水稻 *OsBBTIs* 基因家族成员染色体定位、基因结构与蛋白质保守基序

Fig.1 Chromosome location, gene structure, and protein conserved domain of *OsBBTIs* in rice

2.3 水稻 *OsBBTIs* 蛋白家族系统发育

在 NCBI 网站进行 BLAST 比对, 选取来自光稈稻 (*Oryza glaberrima*)、短花稻 (*Oryza brachyantha*)、

芦苇 (*Phragmites australis*)、硬直黑麦草 (*Lolium rigidum*)、野生二粒小麦 (*Triticum dicoccoides*)、大麦 (*Hordeum vulgare* subsp. *vulgare*)、小麦 (*Triticum*

2.6 水稻 *OsBBTIs* 基因表达对干旱、淹涝、低温、渗透胁迫的响应

为探究干旱、淹涝、低温、渗透胁迫下 *OsBBTIs* 基因表达特征,从 TENOR 数据库中获取 11 个 *OsBBTIs* 基因的转录组数据。*OsBBT11*、*OsBBT12* 基因主要在芽中表达,这与激素处理结果相似,其他成员在叶和芽中都有表达。干旱与渗透胁迫诱导整个 *OsBBTIs* 基因家族成员表达趋势较为相似,大部分 *OsBBTIs* 基因能够被干旱和渗透胁迫显著诱

导。淹涝处理抑制芽中 *OsBBT11*、*OsBBT12* 基因表达,诱导芽和根中 *OsBBT13* 基因表达,在处理 3 d 内 *OsBBT13*、*OsBBT14*、*OsBBT15*、*OsBBT16*、*OsBBT18* 基因表达量先升高后降低,其余 *OsBBTIs* 基因表达量基本不变。低温处理下,*OsBBT12* 基因表达量逐渐降低,*OsBBT18*、*OsBBT11*、*OsBBT12*、*OsBBT13* 基因表达量先升高后降低,其余基因表达量则无显著变化(图 5)。

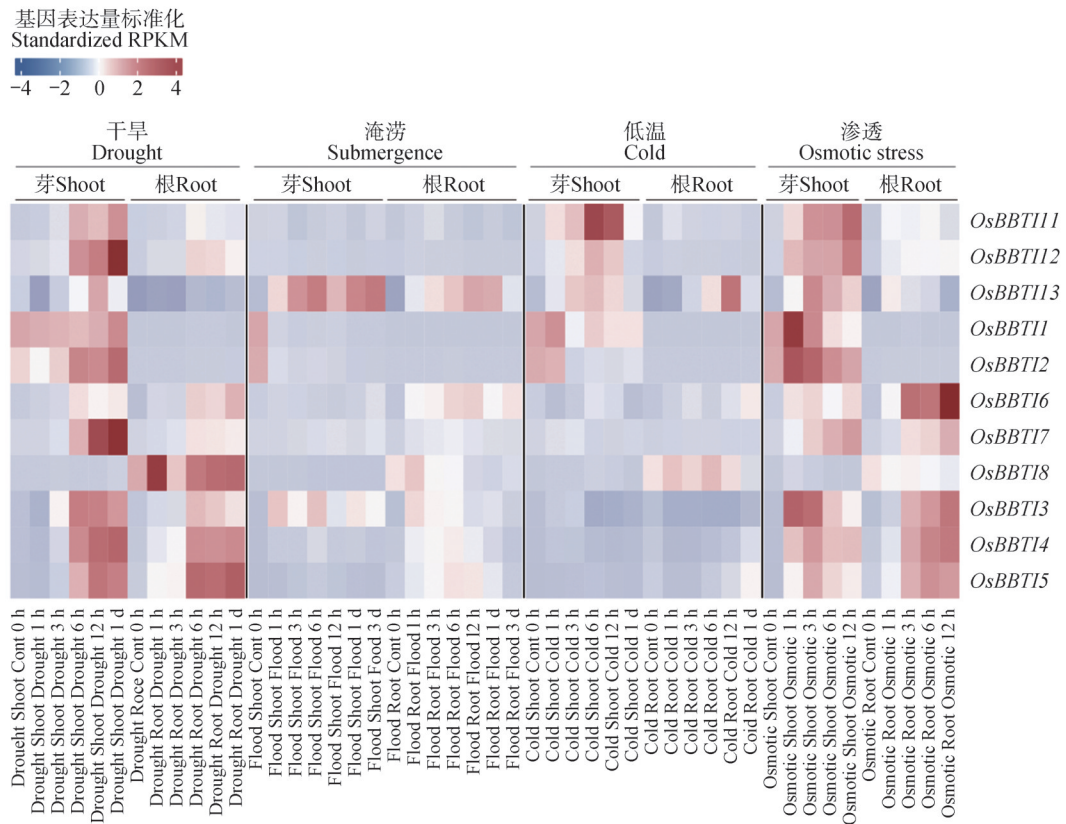


图 5 *OsBBTIs* 基因表达对于干旱、淹涝、低温、渗透胁迫的转录响应

Fig.5 Transcriptional response of *OsBBTIs* gene expression to drought, submergence, cold, and osmotic stress

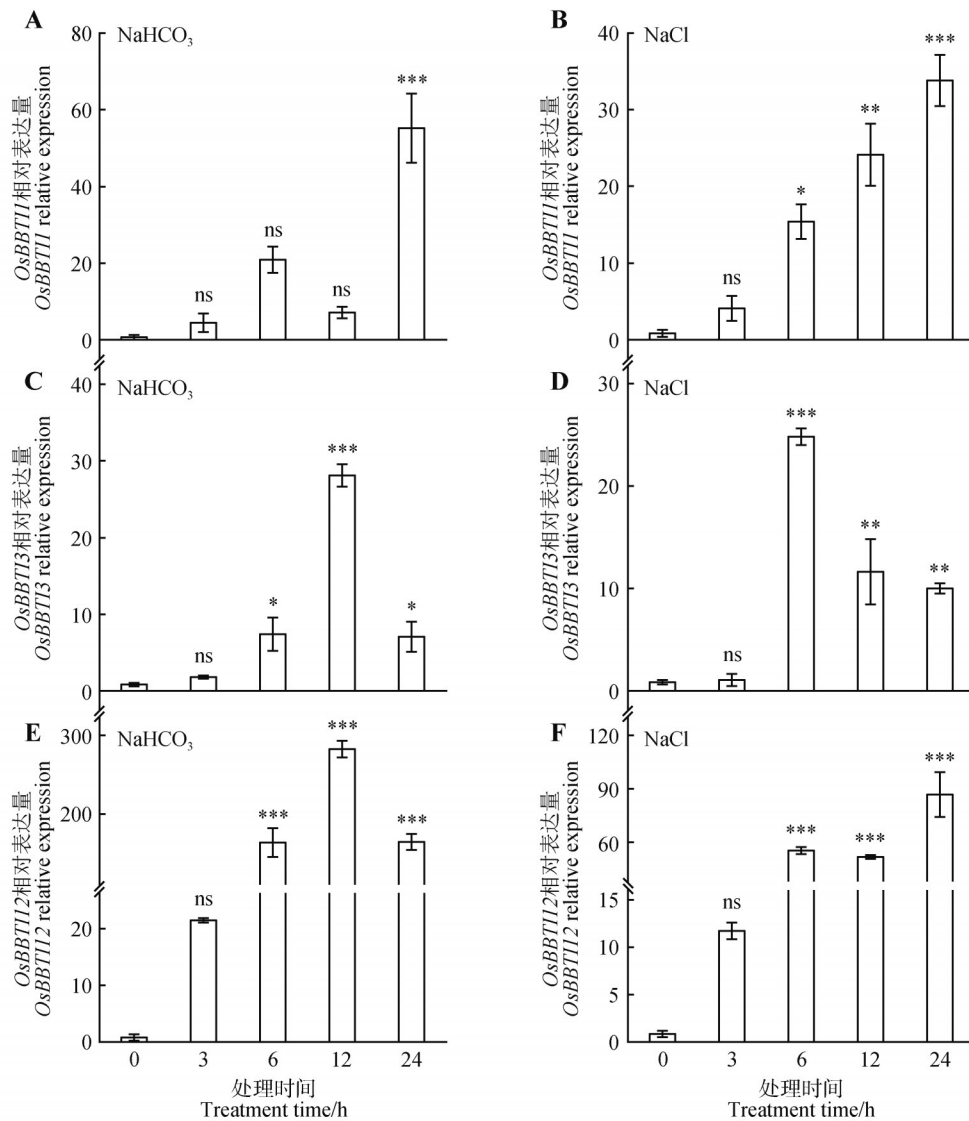
2.7 水稻 *OsBBTIs* 基因表达对盐碱胁迫的响应

使用 NaHCO_3 和 NaCl 处理三叶期水稻幼苗,利用 qRT-PCR 方法检测基因表达量,结果显示: NaHCO_3 和 NaCl 处理显著上调 *OsBBT11*、*OsBBT13*、*OsBBT12* 基因表达水平。*OsBBT11* 基因表达量在 NaHCO_3 胁迫 24 h 后显著上调(图 6A),在 NaCl 胁迫下呈现逐渐上升趋势(图 6B);*OsBBT13* 基因表达水平在处理 24 h 内呈先上升后下降的变化趋势,其中, NaHCO_3 处理下 *OsBBT13* 基因表达量在 12 h 时达到最高,约为对照的 28 倍(图 6C),而 NaCl 处理下 *OsBBT13* 基因表达量在 6 h 时迅速升高,

约为对照的 25 倍,随后缓慢下降(图 6D);盐碱胁迫下 *OsBBT12* 基因表达量在 6 h 内迅速升高,并在 24 h 内持续保持较高水平, NaHCO_3 处理 6 h 后 *OsBBT12* 基因表达量约为对照的 165 倍(图 6E),而 NaCl 处理 6 h 后 *OsBBT12* 基因表达量约为对照的 56 倍(图 6F)。

3 讨论与结论

为全面了解水稻 *OsBBTIs* 蛋白家族成员,本研究基于粳稻全基因组数据共挖掘 11 个 *OsBBTIs* 基因,这些基因与已有研究中籼稻的 11 个 *BBTIs*



*. $P < 0.05$; **. $P < 0.01$; ***. $P < 0.001$; ns. 无显著性差异。

*. $P < 0.05$; **. $P < 0.01$; ***. $P < 0.001$; ns. No significant difference.

图6 盐碱胁迫下 *OsBBT11*、*OsBBT13*、*OsBBT12* 基因表达量

Fig.6 Relative expression levels of *OsBBT11*, *OsBBT13*, *OsBBT12* under saline-alkali stress

基因一一对应,因此沿用其命名^[5]。每个BBTI都有1个N末端信号肽序列及1~3个BowB结构域。预测OsBBTIs蛋白的亚细胞定位,发现大部分成员位于胞外基质,这表明OsBBTIs蛋白可能参与胞外外界信号的感受或传递等生物学过程。分析启动子顺式作用元件发现,*OsBBTIs*基因能够响应多种环境刺激,其中包含多种环境胁迫相关响应元件,如MYC、as-1、ARE等。每个*OsBBTIs*基因的启动子都含有ABA和MeJA响应元件,ABA在植物应对严酷外界环境的自我调控中发挥重要作用,而MeJA作为JA的甲基化衍生物,能够介导植物对昆虫和病原菌的抗性反应,调控植物对干旱、

高温、臭氧和紫外线辐射等逆境的应答反应^[15-16],因此,*OsBBTIs*蛋白家族可能在植物激素信号转导和胁迫反应中起作用。

分别使用ABA和JA处理水稻幼苗获取基因表达量数据,结果发现,*OsBBTIs*基因表达对JA的响应明显更广泛、更强烈,这与BBTI合成酶基因可作为JA信号途径标志基因的结果^[17]一致。干旱、淹涝、低温和渗透胁迫都可以导致*OsBBTIs*基因成员表达水平的改变,其中,干旱和渗透胁迫对所有成员的表达都产生了影响,说明*OsBBTIs*基因表达受非生物胁迫诱导,可能在植物非生物胁迫适应中起到一定作用。已有研究^[18]表明,日本黄

连 (*Coptis japonica*) 细胞的镉耐受性来源于镉处理下 *CjBBTI* 基因被诱导表达, 将 *CjBBTI* 基因转化至酵母中, 能赋予其对过量镉的耐受性。小麦 BBTI 蛋白编码基因 *wali3*、*wali5* 和 *wali6* 都能够被机械损伤、铝离子或有毒金属胁迫诱导^[19-20]。此外, 小麦 BBTI 蛋白编码基因 *WRS15* 表达水平在盐、干旱和氧化胁迫下升高, 过表达 *WRS15* 能够提高拟南芥 (*Arabidopsis thaliana*) 幼苗的耐盐性生长^[21]。本研究中, *OsBBT11*、*OsBBT13*、*OsBBT12* 基因表达可以被 NaHCO_3 、 NaCl 胁迫显著诱导, 表明 *BBTIs* 基因参与盐碱胁迫应答, 可能在水稻盐碱胁迫中发挥作用。BBTI 蛋白能够在植物受到机械损伤和生物咬食的位置积累, 本研究发现, 部分 *OsBBTIs* 基因在 JA 处理及非生物胁迫下的表达量在一定时间内呈现先上升后下降趋势, 表明 BBTI 蛋白可能在胁迫信号的早期响应中发挥作用。推测 BBTI 蛋白家族可能参与异物入侵植物细胞损伤时超敏反应, 参与相关激素信号, 如茉莉酸的产生与传导, 促使植物及时启动防御反应系统, 从而保护植物并应对外界环境变化。其中, BBTI 蛋白可能作为细胞机械损伤的信号传感器, 或作为信号因子与胞外表面受体相互作用来参与植物抗逆。BBTI 蛋白作为水稻对抗病原菌及虫害过程的重要成员, 在植物新品种选育中具有重要价值, 对 *OsBBTIs* 蛋白家族进行广泛而深入的研究, 探寻其在各种胁迫下的表达及功能, 对探索生物与非生物胁迫的联系及协同性, 以及培育水稻抗性新品种具有重要的理论与实际意义。

参 考 文 献

- [1] MAJOR I T, CONSTABEL C P. Functional analysis of the Kunitz trypsin inhibitor family in poplar reveals biochemical diversity and multiplicity in defense against herbivores[J]. *Plant Physiology*, 2008, 146(3): 888-903.
- [2] RAWLINGS N D, BARRETT A J. Evolutionary families of peptidases[J]. *The Biochemical Journal*, 1993, 290(1): 205-218.
- [3] ZHANG C Y, FANG H, SHI X T, *et al.* A fungal effector and a rice NLR protein have antagonistic effects on a Bowman-Birk trypsin inhibitor[J]. *Plant Biotechnology Journal*, 2020, 18(11): 2354-2363.
- [4] 陈军, 毛盛勤, 谢阳, 等. 水稻中一个 25 kD Bowman-Birk 蛋白酶抑制剂的表达和抑制活性分析[J]. *科学通报*, 2005, 50(22): 2501-2508.
CHEN J, MAO S J, XIE Y, *et al.* Expression and inhibitory activity analysis of a 25 kD Bowman-Birk protease inhibitor in rice[J]. *Chinese Science Bulletin*, 2005, 50(22): 2501-2508.
- [5] 徐文静, 李莉云, 史佳楠, 等. Bowman-Birk 胰蛋白酶抑制剂在水稻叶片生长和种子萌发过程中的表达[J]. *农业生物技术学报*, 2012, 20(3): 246-253.
XU W J, LI L Y, SHI J N, *et al.* Expression of Bowman-Birk trypsin inhibitor at different development stages in rice leaves and seed germination[J]. *Journal of Agricultural Biotechnology*, 2012, 20(3): 246-253.
- [6] SONG H K, KIM Y S, YANG J K, *et al.* Crystal structure of a 16 kDa double-headed Bowman-Birk trypsin inhibitor from barley seeds at 1.9 Å resolution[J]. *Journal of Molecular Biology*, 1999, 293(5): 1133-1144.
- [7] QI R F, SONG Z W, CHI C W. Structural features and molecular evolution of Bowman-Birk protease inhibitors and their potential application [J]. *Acta Biochimica et Biophysica Sinica*, 2005, 37(5): 283-292.
- [8] XU T, ZHOU Q, CHEN W, *et al.* Involvement of jasmonate-signaling pathway in the herbivore-induced rice plant defense [J]. *Chinese Science Bulletin*, 2003, 48: 1982-1987.
- [9] QU L J, CHEN J, LIU M H, *et al.* Molecular cloning and functional analysis of a novel type of Bowman-Birk inhibitor gene family in rice[J]. *Plant Physiology*, 2003, 133(2): 560-570.
- [10] PANG Z Q, ZHOU Z Z, YIN D D, *et al.* Transgenic rice plants overexpressing BBTI4 confer partial but broad-spectrum bacterial blight resistance [J]. *Journal of Plant Biology*, 2013, 56: 383-390.
- [11] ZHU F J, WANG K, LI D N, *et al.* *OsSAP6* positively regulates soda saline-alkaline stress tolerance in rice [J]. *Rice*, 2022, 15(1): 69.
- [12] CHEN C J, WU Y, LI J W, *et al.* TBtools- II : a “one for all, all for one” bioinformatics platform for biological big-data mining [J]. *Molecular Plant*, 2023, 16(11): 1733-1742.
- [13] KAWAHARA Y, OONO Y, WAKIMOTO H, *et al.* TENOR: database for comprehensive mRNA-Seq experiments in rice [J]. *Plant & Cell Physiology*, 2016, 57(1): e7.
- [14] 荀宝茹, 秦洪涛, 马蕊, 等. 羽衣甘蓝类受体激酶 FERONIA 基因克隆、表达及与相互作用蛋白分析 [J]. *植物研究*, 2024, 44(2): 298-306.
XUN B R, QIN H T, MA R, *et al.* Gene cloning, expression and interaction protein analysis of FERONIA in *Brassica oleracea* var. *acephala* [J]. *Bulletin of Botanical*

- Research, 2024, 44(2): 298-306.
- [15] 陈坤, 方功桂, 穆怀志, 等. 白桦 *BpPIN3* 基因启动子序列及应答特性分析[J]. 植物研究, 2022, 42(4): 592-601.
CHEN K, FANG G G, MU H Z, *et al.* Analysis of the promoter sequence and response characteristics of the *BpPIN3* gene in *Betula platyphylla* [J]. Bulletin of Botanical Research, 2022, 42(4): 592-601.
- [16] 杨蕴力, 渠畅, 王阳, 等. 白桦 *BpPIN5* 基因启动子组织定位及外源激素应答分析[J]. 植物研究, 2022, 42(1): 104-111.
YANG Y L, QU C, WANG Y, *et al.* Tissue-specific expression and analysis of exogenous hormone response of *BpPIN5* gene promoter in *Betula platyphylla* [J]. Bulletin of Botanical Research, 2022, 42(1): 104-111.
- [17] 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.
XIE X J, GAO Y Y, QI S, *et al.* Rice Bowman Birk protease inhibitor response to oviposition stimulation of *Nilaparvata lugens* (Stål) [J]. Acta Scientiarum Naturalium Universitatis Sunyatseni, 2011, 50(5): 104-109.
- [18] SHITAN N, HORIUCHI K I, SATO F, *et al.* Bowman-Birk proteinase inhibitor confers heavy metal and multiple drug tolerance in yeast [J]. Plant & Cell Physiology, 2007, 48(1): 193-197.
- [19] RICHARDS K D, SNOWDEN K C, GARDNER R C. *Wali6* and *wali7* (genes induced by aluminum in wheat (*Triticum aestivum* L.) roots) [J]. Plant Physiology, 1994, 105(4): 1455-1456.
- [20] SNOWDEN K C, RICHARDS K D, GARDNER R C. Aluminum-induced genes (induction by toxic metals, low calcium, and wounding and pattern of expression in root tips) [J]. Plant Physiology, 1995, 107(2): 341-348.
- [21] SHAN L, LI C L, CHEN F, *et al.* A Bowman-Birk type protease inhibitor is involved in the tolerance to salt stress in wheat [J]. Plant, Cell & Environment, 2008, 31(8): 1128-1137.