

Harelish 负向调控棉铃虫性信息素生物合成机制的初步研究

姚双艳, 张耀, 杨越, 舍泽龙, 王焕, 卞会敏,
吴雪明, 魏纪珍, 安世恒*

(小麦玉米作物学国家重点实验室, 河南省害虫绿色防控国际联合实验室, 河南农业大学植物保护学院, 郑州 450002)

摘要 性信息素是蛾类昆虫通讯的关键信号分子, 其生物合成机制已在家蚕 *Bombyx mori*、棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 和亚洲玉米螟 *Ostrinia furnacalis* 等蛾类中明确了, 但其负向调控机制尚不明确。本文探索了 *Harelish* 基因在棉铃虫雌蛾性信息素生物合成中的作用。结果发现, *Harelish* 基因在棉铃虫雌蛾中肠、表皮、脑、触角、脂肪体、肌肉和性信息素腺体等 7 个组织中均有表达, 且在羽化后随着性信息素生物的合成和释放而高丰度表达。基于 RNAi 降低 *Harelish* 基因转录水平的表达量后, 其性信息素含量和钙调磷酸酶活性均显著上升, 表明 *Harelish* 通过抑制钙调磷酸酶活性负向调控了性信息素的生物合成。该研究为利用性信息素生物合成的终止信号为分子靶标来防控害虫奠定理论基础。

关键词 棉铃虫; 性信息素; *Harelish*; 钙调磷酸酶

中图分类号: Q966 文献标识码: A DOI: 10.16688/j.zwbh.2022478

Harelish negatively regulates sex pheromone biosynthesis in *Helicoverpa armigera*

YAO Shuangyan, ZHANG Yao, YANG Yue, SHE Zelong, WANG Huan, BIAN Huimin,
WU Xueming, WEI Jizhen, AN Shiheng*

(State Key Laboratory of Wheat and Maize Crop Science, Henan International Laboratory for Green Pest Control, College of Plant Protection, Henan Agricultural University, Zhengzhou 450002, China)

Abstract Sex pheromone is the key signal molecule in moth communication. The mechanism of sex biosynthesis has been elucidated in several moths, such as *Bombyx mori*, *Helicoverpa armigera* and *Ostrinia furnacalis*. However, the negative regulation mechanism is unknown. In the present study, *Helicoverpa armigera* was employed as a model insect to investigate the role of *Harelish* in sex pheromone biosynthesis. The results showed that the *Harelish* gene was ubiquitously expressed in seven tissues of female moth, including midgut, epidermis, brain, antenna, fat body, muscle and sex pheromone gland. The developmental expression profiling showed that *Harelish* was highly expressed during the biosynthesis and release of sex pheromone. RNAi-mediated knockdown of *Harelish* led to significant decrease in *Harelish* transcripts. After successful knockdown of *Harelish*, the decrease of *Harelish* transcripts caused a significant increase in calcineurin activity and sex pheromone production, suggesting that *Harelish* negatively regulates sex pheromone biosynthesis by inhibiting CaN activity in *H. armigera*. These results provide a theoretical foundation for using the termination signal of sex pheromone biosynthesis as a molecular target to control pests.

Key words *Helicoverpa armigera*; sex pheromone; *Harelish*; CaN

棉铃虫 *Helicoverpa armigera* 属鳞翅目 Lepidoptera 夜蛾科 Noctuidae, 是重要的农业害虫, 为害

棉花、小麦、烟草、花生等多种作物,在世界范围内广泛分布^[1-3]。长期以来,化学防治是防治棉铃虫的重要手段之一,可以在短时间内迅速且有效地控制棉铃虫种群数量,进而确保农作物产量^[1]。但化学防治中产生的诸多问题,尤其是棉铃虫抗药性的快速发展,迫使研究者寻求更安全更有效的防治方法。随着转苏云金芽胞杆菌 *Bacillus thuringiensis* (Bt) 杀虫蛋白棉花的大面积种植,棉铃虫的为害再次得到了很好的控制^[4]。但随着我国农业产业结构的调整,非转 Bt 作物上棉铃虫为害更加猖獗^[5]。同时,在转 Bt 基因作物持续的高压选择下,棉铃虫对 Bt 蛋白的抗性也逐渐凸显^[4]。因此,从多维度研究和探索棉铃虫的防治方法势在必行。

棉铃虫除寄主广、迁移能力强、环境适应能力强等特点外,巨大的繁殖潜能也是其暴发成灾、连年猖獗的重要原因。性信息素是昆虫交配繁殖的关键化学信号^[6]。在蛾类中,主要是由雌蛾释放性信息素吸引雄蛾前来交配^[7]。因此,干扰雌蛾的性信息素生物合成可以有效影响雌雄蛾的交配,进而降低后代种群数目,最终达到防治害虫的目的。所以,探索和开发影响棉铃虫性信息素生物合成的相关基因对其防治具有重要意义。

NF- κ B 是广泛存在于脊椎动物和无脊椎动物中,特异性结合免疫球蛋白,进而促进免疫相关基因表达的细胞核转录因子^[8-9]。大量研究表明,NF- κ B 广泛参与多细胞动物的免疫应答、炎症反应、细胞凋亡和生长发育^[9-10]。NF- κ B 家族主要包括 *Relish*、*Dorsal* 和 *Dif* 3 个成员,这些基因在进化过程中高度保守^[11]。由于获得性免疫系统的缺失,在长期的进化过程中无脊椎动物进化出一套复杂而高效的免疫体系^[12]。在黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster* 中,*Relish* 不仅通过免疫缺陷 (immunodeficiency, IMD) 信号通路介导抗革兰氏阴性菌的免疫过程^[13];还可以通过靶向转化生长因子- β 活化激酶 1 (transforming growth factor- β -activating kinase 1, TAK1) 调控 c-Jun 氨基末端激酶 (c-Jun N-terminal kinase, JNK) 介导的免疫反应^[14];在斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* 中也证实了 IMD 通路下游的 *Relish* 参与调控大肠杆菌 (革兰氏阴性菌) 引起的斜纹夜蛾的免疫反应^[15];在柞蚕 *Antheraea pernyi* 中,*Relish*

通过调控自噬相关基因 5 (autophagy-related gene 5, ATG5) 的活性进而调控其先天性免疫^[11]。在甲壳动物三疣梭子蟹 *Portunus trituberculatus* 等和节肢动物中国明对虾 *Farmeropenaeus chinensis*、罗氏沼虾 *Macrobrachium rosenbergii* 等物种也证实 *Relish* 参与其免疫过程^[16-19]。

目前对 *Relish* 的研究多集中于其在先天性免疫应答中的作用,在蛾类性信息素生物合成中的功能未见报道。本研究对 *Harelish* 在性信息素生物合成中的功能进行研究,分析了 *Harelish* 对棉铃虫性信息素生物合成关键酶钙调磷酸酶 (CaN) 活性和性信息素含量的影响,以期通过性信息素生物合成通路进行防虫控虫提供重要信息。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫饲养

棉铃虫卵购自河南省济源白云实业有限公司,在室内以人工饲料于人工气候箱 [温度 (26 \pm 1) $^{\circ}$ C, 相对湿度 (75 \pm 1)% , 光周期 L//D=14 h//10 h] 中饲养多代^[20-21]。

1.2 时空表达样品准备

不同组织样品准备:解剖羽化后 48 h 的棉铃虫雌蛾,分别取中肠 (midgut, MG)、表皮 (epidermis, EP)、脑 (brain, Br)、触角 (antennae, Ant)、脂肪体 (fat body, FB)、肌肉 (muscle, MS) 和性信息素腺体 (sex pheromone gland, PG) 等组织,用 TRIzol 试剂 (Invitrogen, 美国) 提取其 RNA 并反转录为 cDNA,用于后续荧光定量检测。

不同时期样品准备:解剖分离不同时期,即羽化前 72 h (标记为 -72 h)、羽化前 48 h (标记为 -48 h)、羽化前 24 h (标记为 -24 h)、新羽化 (标记为 0 h)、羽化后 24 h (标记为 24 h)、羽化后 48 h (标记为 48 h) 和羽化后 72 h (标记为 72 h) 的性信息素腺体,以解剖镊在显微镜下处理干净后,用 TRIzol 试剂提取其 RNA 并反转录为 cDNA,用于后续荧光定量检测。

1.3 dsRNA 体外合成和 RNAi

按照 T7 RNAi Transcription 试剂盒 (TR102) (诺唯赞, 中国) 说明书体外合成 dsRNA。首先,以性信息素腺体 cDNA 和包含 T7 启动子的特异

性引物(表 1)进行 PCR 扩增,纯化 PCR 产物作为后续合成 dsRNA 的模板。取纯化 PCR 产物 1 μg , 加入 NTP Mix 8 μL , 10 \times Transcription Buffer 2 μL 和 T7 Enzyme Mix 2 μL , 以 RNase-free H_2O 补足 20 μL 后放入 PCR 仪中 37 $^\circ\text{C}$ 反应 2 h, 以合成 dsRNA。琼脂糖凝胶电泳检测合成的 dsRNA

质量,然后用酚/氯仿对该产物进行抽提纯化,并用 Nanodrop 2000 紫外微量分光光度计(Thermo Fisher Scientific, 美国)测定 dsHarelish 的浓度。以合成的增强绿色荧光蛋白基因(enhanced green fluorescent protein gene, EGFP)的 dsRNA 作为对照。

表 1 本试验所用的引物
Table 1 Primers used in this study

引物 Primer	登录号 GenBank accession no.	引物序列(5'-3') Primer sequence	产物长度/bp Length of products	扩增效率 Efficiency	用途 Usage
<i>Actin</i> -F <i>Actin</i> -R	HM629437.1	CCTGGTATTCTGACCGTATGC CTGTTGGAAGGTGGAGAGGGAA	151	1.07	
<i>EF-1α</i> -F <i>EF-1α</i> -R	FJ768770.1	GAAGTCAAGTCCGTGGAGATG GACCTGTGCTGTGAAGTCG	171	1.03	qRT-PCR
<i>Harelish</i> -F <i>Harelish</i> -R	JN315690.1	CACTTCAGATTTCGGTATGT GACACCTTATCAGAGCCTTA	139	1.07	
<i>Harelish</i> -T7-F <i>Harelish</i> -T7-R		TCCCAAAGATGAGGGCGAAC TTGGGTTTCGATCCTTTCGA	383		RNAi

将新羽化的棉铃虫雌蛾头部剪除,并置于室温 24 h。将体外合成的 dsHarelish 以 10 μg /头的量注射入预处理的雌蛾体内,置于室温 24 h 后取其性信息素腺体, -20 $^\circ\text{C}$ 保存,用于后续荧光定量检测、GC-MS 和酶活测定。以注射 dsEGFP 的雌蛾作为对照。每处理注射 15 头,3 次重复。

1.4 荧光定量 PCR 检测

使用 TRIzol 试剂提取样品总 RNA,并通过 Nanodrop2000 紫外微量分光光度计和琼脂糖凝胶电泳检测其浓度和质量。采用 HiScript III RT SuperMix 试剂盒(诺唯赞,中国)合成 cDNA,作为荧光定量 PCR 的模板。采用 Actin (*ACT*)和 Elongation factor 1 alpha (*EF-1 α*)作为内参基因,在 ABI 7500 PCR 仪器上使用 ChamQ Universal SYBR qPCR Master Mix(诺唯赞,中国)对 *Harelish* 的相对表达量进行实时荧光定量 PCR 检测。荧光定量 PCR 反应程序为:95 $^\circ\text{C}$ 预变性 5 min; 95 $^\circ\text{C}$ 变性 15 s 和 60 $^\circ\text{C}$ 延伸 20 s,循环 40 次。采用双内参法对 *Harelish* 基因的相对表达量进行量化^[22]。

1.5 性信息素 Z11-16:Ald 含量检测

处理组和对照组分别注射 dsHarelish 和 dsEGFP 后继续培养 24 h,再依次按照 10 pmol/头的量注射体外合成的具有活性的性信息素合成激活肽

(pheromone biosynthetic activating neuropeptide, PBAN)溶液,并于 28 $^\circ\text{C}$ 培养 1 h,取性信息素腺体置于 200 μL 正己烷中。将萃取后的正己烷样品上机(安捷伦 7890B),参照 Yao 等的方法设定检测程序^[23],快速升温至 60 $^\circ\text{C}$ 保持 2 min,然后以 5 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 升温至 230 $^\circ\text{C}$,在此期间性信息素组分全部洗脱;随后以 20 $^\circ\text{C}/\text{min}$ 的速度将柱子(安捷伦 HP-5MS)加热至 245 $^\circ\text{C}$,并在此温度下保持 15 min;最后将氢火焰离子检测器(FID 检测器)保持在 250 $^\circ\text{C}$,对样品组分进行检测。采用面积归一法对性信息素主要组分 Z11-16:Ald 的含量进行量化。进行 3 个生物学重复,每个生物学重复的样品由 15 头性信息素腺体组成。

1.6 CaN 酶活测定

断头处理的雌蛾按 10 μg /头分别注射 dsHarelish 和 dsEGFP,室温继续饲养 24 h。解剖性信息素腺体,置于昆虫细胞培养液(Grace's Insect Cell Culture Medium)中,用 PBAN(10 pmol/L)孵育 30 min 后将性信息素腺体收集到 1.5 mL 的离心管中进行研磨和离心,上清分为两份置于冰上。取其中一份,以蛋白定量测定试剂盒(南京建成,中国)测定其蛋白浓度;另一份则按照钙调磷酸酶(CaN)检测试剂盒(南京建成,中国)说明书和 Du 等^[6]的方法进行 CaN 活性检测。进行 3 个生物学重复,每个重复包

含 40 头性信息素腺体样品。

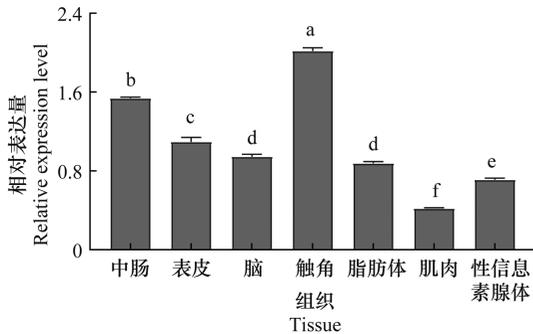
1.7 数据处理

本研究中,所有试验均进行 3 次生物学重复,数据采用 Microsoft Excel 2010 整理,统计结果后使用 GraphPad Prism 8. 3. 0 绘制柱状图。不同时期和不同组织中 *Harelish* 的表达量差异采用 Tukey's test 进行多重比较 ($\alpha = 0.05$, DPS 7.05)。*Harelish* 基因的 RNAi 效果及后续的性信息素含量和 CaN 活性检测均以 IBM SPSS Statistics 23 中的 Student's *t* 测验分析数据之间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 不同组织中 *Harelish* 表达量分析

实时荧光定量 qRT-PCR 检测结果显示, *Harelish* 基因在棉铃虫雌蛾中肠、表皮、脑、触角、脂肪体、肌肉和性信息素腺体中均有表达,在触角中表达量最高,肌肉组织中表达量最低,在性信息素腺体中具有较高的表达量(图 1)。



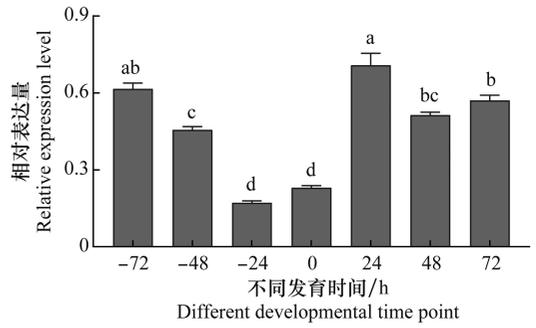
图中数据均为平均值±标准误。不同小写字母表示 *Harelish* 基因的表达量在不同组织间有显著差异 ($P < 0.05$)。下同
The data are mean±SE. Different lowercase letters indicate significant difference at 0.05 level in *Harelish* gene expression. The same applies below

图 1 棉铃虫雌蛾不同组织 *Harelish* 基因的表达量

Fig. 1 Relative expression levels of *Harelish* in different tissues of *Helicoverpa armigera* female adults

2.2 不同发育时期 *Harelish* 表达量分析

对 *Harelish* 基因在棉铃虫性信息素腺体不同发育时期的相对表达量进行分析,结果显示 *Harelish* 在羽化前 72 h 和羽化前 48 h 具有较高的表达量,在羽化前 24 h 表达量最低,之后,随着性信息素腺体发育成熟以及羽化后性信息素的释放, *Harelish* 的表达量不断升高,在羽化后 24 h 达到最高(图 2)。



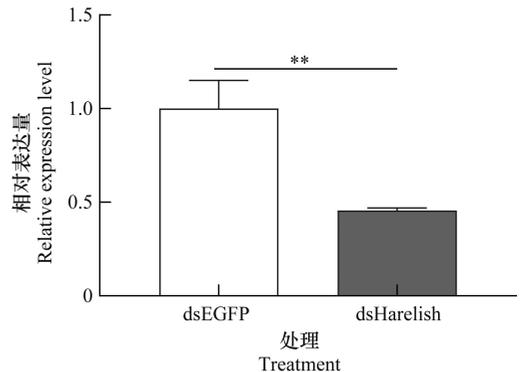
-72 h: 羽化前 72 h; -48 h: 羽化前 48 h; -24 h: 羽化前 24 h; 0 h: 新羽化; 24 h: 羽化后 24 h; 48 h: 羽化后 48 h; 72 h: 羽化后 72 h; 图中数据均为平均值±标准误

-72 h: 72 h before emergence; -48 h: 48 h before emergence; -24 h: 24 h before emergence; 0 h: Newly emerged; 24 h: 24 h after emergence; 48 h: 48 h after emergence; 72 h: 72 h after emergence; The data are mean±SE

图 2 不同发育时间性信息素腺体中 *Harelish* 基因的表达量
Fig. 2 Relative expression levels of *Harelish* in pheromone glands at different developmental time points

2.3 对 *Harelish* 的干扰效果

将体外合成的 *EGFP* 和 *Harelish* 的 dsRNA 注射入新羽化并断头的棉铃虫雌蛾体内,以 qRT-PCR 检测 RNAi 效果。结果显示,与注射 dsEGFP 的对照相比,注射 ds*Harelish* 显著降低 *Harelish* 的相对表达量约 54%(图 3)。



图中数据均为平均值±标准误, **表示差异极显著 $P < 0.01$ (Student's *t* 测验)

The data are mean±SE. **: $P < 0.01$ (Student's *t*-test)

图 3 RNAi 诱导的 *Harelish* 基因在性信息素腺体中的干扰效果

Fig. 3 Effects of RNAi treatment on *Harelish* gene expression in pheromone glands

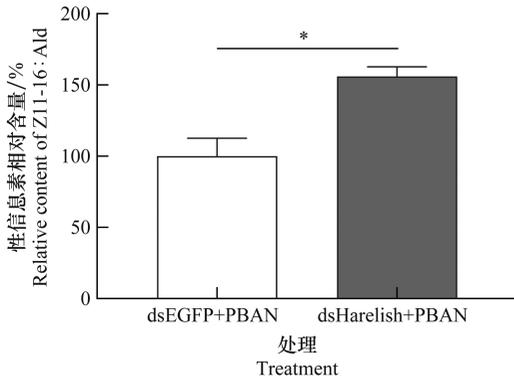
2.4 *Harelish* 对性信息素生物合成量的影响

确认体外合成的 dsRNA 具有良好的 RNAi 效果后,进一步以 GC-MS 检测 *Harelish* 转录水平的降低对棉铃虫性信息素 Z11-16:Ald 含量的影响。结果显示, *Harelish* 转录水平降低后, Z11-16:Ald 相

对含量也显著上调约 56% (图 4)。

2.5 *Harelish* 对 CaN 活性的影响

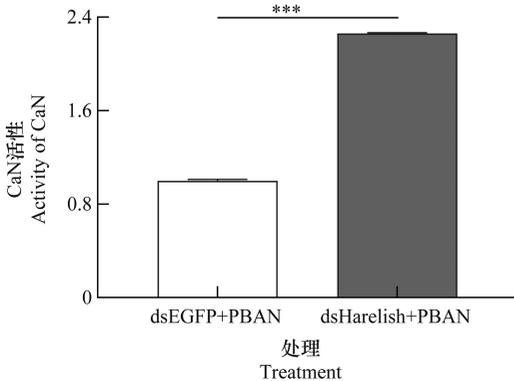
对 dsEGFP 和 ds*Harelish* 处理后棉铃虫雌蛾性信息素腺体中的 CaN 活性进行检测。结果显示,与对照组相比,*Harelish* 转录水平的降低可以引起 CaN 活性的显著上调 (图 5)。



图中数据均为平均值±标准误。*表示差异显著 $P < 0.05$ (Student's *t* 测验)
The data are mean±SE. * indicates significant difference at 0.05 level (Student's *t*-test)

图 4 RNAi 诱导的 *Harelish* 基因沉默对性信息素生物合成的影响

Fig. 4 Effects of RNAi-mediated knockdown of *Harelish* on sex pheromone biosynthesis



图中数据均为平均值±标准误。***表示差异极显著 ($P < 0.001$, Student's *t* 测验)
The data are mean±SE. *** indicates extremely significant difference at 0.001 level (Student's *t*-test)

图 5 RNAi 诱导的 *Harelish* 基因沉默对 CaN 活性的影响

Fig. 5 Effects of RNAi-mediated knockdown of *Harelish* on CaN activity

3 结论与讨论

通过分析 *Harelish* 基因在棉铃虫雌蛾不同组织中的表达量,发现其在棉铃虫雌蛾中肠、表皮、脑、触角、脂肪体、肌肉和性信息素腺体等 7 个组织中均

有表达,但表达量有所差异。该结果与斜纹夜蛾、三疣梭子蟹、中国明对虾、罗氏沼虾等物种中的研究结果相似^[16-19],均表明了该基因在不同组织中的普遍表达。*Relish* 是 NF- κ B 家族的重要成员,参与了斜纹夜蛾、黑腹果蝇、柞蚕等昆虫的 IMD 免疫信号通路^[11, 13, 15]。脂肪体是昆虫重要的免疫组织,*Harelish* 基因在脂肪体中具有较高表达量说明该基因参与了棉铃虫的免疫反应,该结果同家蚕 *Bombyx mori*、斜纹夜蛾中的研究结果一致^[15, 24]。尽管 *Harelish* 基因在各个组织或器官中均广泛存在,但目前关于该基因的研究则集中于其参与生物体的免疫过程,对该基因在其他组织中的功能鲜有研究。该基因在棉铃虫雌蛾性信息素腺体中具有较高的表达量,表明其在性信息素腺体中可能行使特定的生物学功能。

NF- κ B 家族是一种具有多种生理功能的转录因子,除参与机体的免疫反应和炎症反应外,还参与了细胞的分化、增殖和凋亡等有关基因的转录^[25]。昆虫蛹期时其内部进行着剧烈的组织解离和组织发生的生理活动,这也和本研究中 *Harelish* 基因在蛹期具有较高的表达量相一致。随着成虫羽化后,其表达量逐渐升高,在 24 h 达到最高,48 h 和 72 h 亦具有较高表达量。在家蚕、棉铃虫、亚洲玉米螟、黏虫 *Mythimna separata*、斜纹夜蛾等鳞翅目蛾类中,雌蛾羽化后其性信息素开始合成和释放,但是性信息素释放的模式却不尽相同^[6, 23, 25-26]。其中家蚕羽化后立即释放性信息素^[26-27],斜纹夜蛾在羽化后第 1 个暗夜其性信息素释放达到高峰^[27],棉铃虫和亚洲玉米螟在羽化后 3 d 均大量释放性信息素,在第 2 个暗夜其性信息素释放和交配率均达到高峰^[6, 23]。*Harelish* 基因在不同发育时期的表达模式与其性信息素释放模式相一致。同时,棉铃虫、家蚕和亚洲玉米螟性信息素合成相关基因 *PBANR*、*CaN*、*ACC*、去饱和酶、*FAR* 等均具有相似的表达模式^[6, 23, 27]。最后,基于 RNAi 诱导的 *Harelish* 基因沉默对性信息素含量的影响,进一步证实了 *Harelish* 基因参与了棉铃虫性信息素生物合成。

在家蚕、棉铃虫、亚洲玉米螟等蛾类性信息素生物合成的研究中,*PBANR*、*CaN*、*ACC*、去饱和酶、*FAR* 等基因转录水平下降引起雌蛾性信息素含量下降,即这些基因正向调控了蛾类性信息素的生物

合成^[6, 23, 27]。而在本研究中, *Harelish* 基因转录水平降低时, 其性信息素含量上升。该结果意味着 *Harelish* 基因负向调控了棉铃虫的性信息素生物合成, 这也是鳞翅目蛾类性信息素生物合成中首次关于抑制因子的研究。

在棉铃虫中, 其性信息素的生物合成通路已进行了明确而详尽的阐述。主要的通路为: CaN 由相应的第二信使 Ca^{2+} 激活后, 通过激活下游信号乙酰辅酶 A 羧化酶 (acetyl CoA carboxylase, ACC), 进而调控了其性信息素的生物合成过程^[6]。同时 CaN 也被证实参与了家蚕、美洲棉铃虫 *Helicoverpa zea*、黏虫、亚洲玉米螟等多种蛾类的性信息素生物合成^[6, 23, 27]。本研究中, *Harelish* 基因转录水平降低时, CaN 活性升高。该结果与性信息素检测结果一致, 即 *Harelish* 基因通过抑制性信息素生物合成关键酶 CaN, 进而抑制了棉铃虫性信息素的生物合成。但是 *Harelish* 基因如何调控 CaN 还需要进一步研究。

参考文献

[1] WU Kongming, GUO Yuyuan. The evolution of cotton pest management practices in China [J]. Annual Review of Entomology, 2005, 50(1): 31 - 52.

[2] WU Kongming. Monitoring and management strategy for *Helicoverpa armigera* resistance to Bt cotton in China [J]. Journal of Invertebrate Pathology, 2007, 95(3): 220 - 223.

[3] 任苏伟, 赵洁, 刘宁, 等. 棉铃虫脂肪酸结合蛋白的克隆与表达 [J]. 植物保护学报, 2019, 46(3): 522 - 529.

[4] WU Kongming, LU Yanhui, FENG Hongqiang, et al. Suppression of cotton bollworm in multiple crops in China in areas with Bt toxin-containing cotton [J]. Science, 2008, 321(5896): 1676 - 1678.

[5] 陆宴辉, 蒋玉英, 刘杰, 等. 种植结构调整增加棉铃虫的灾变风险 [J]. 应用昆虫学报, 2018, 55(1): 19 - 24.

[6] DU Mengfang, LIU Xiaoming, MA Nana, et al. Calcineurin-mediated dephosphorylation of acetyl-coA carboxylase is required for pheromone biosynthesis activating neuropeptide (PBAN)-induced sex pheromone biosynthesis in *Helicoverpa armigera* [J]. Molecular Cellular Proteomics, 2017, 16(12): 2138 - 2152.

[7] DU Mengfang, ZHAO Wenhui, JURENKA R, et al. Transcriptome analysis of *Helicoverpa armigera* male hairpencils: Alcohol biosynthesis and requirement for mating success [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2017, 87: 154 - 164.

[8] HEDENGREN M, ASLING B, DUSHAY M S, et al. Relish, a central factor in the control of humoral but not cellular immunity in *Drosophila* [J]. Molecular Cell, 1999, 4(5): 827 - 837.

[9] SUN Shaocong. The non-canonical NF- κ B pathway in immunity and inflammation [J]. Nature Reviews Immunology, 2017, 17(9): 545 - 558.

[10] SEN R, BALTIMORE D. Multiple nuclear factors interact with the immunoglobulin enhancer sequences [J]. Cell, 1986, 46(5): 705 - 716.

[11] CHEN Chen, YANG Liangli, ABBAS M N, et al. Relish regulates innate immunity via mediating ATG5 activity in *Antheraea pernyi* [J/OL]. Developmental and Comparative Immunology, 2022, 132, 104406. DOI: 10.1016/j.dci.2022.104406.

[12] HOFFMANN J A, KAFATOS F C, JANEWAY C A, et al. Phylogenetic perspective in innate immunity [J]. Science, 1999, 284(5418): 1313 - 1318.

[13] TANJI T, HU Xiaodi, WEBER A N R, et al. Toll and IMD pathways synergistically activate an innate immune response in *Drosophila melanogaster* [J]. Molecular and Cellular Biology, 2007, 27(12): 4578 - 4588.

[14] PARK J M, BRADY H, RUOCCO M G, et al. Targeting of TAK1 by the NF-kappa B protein Relish regulates the JNK-mediated immune response in *Drosophila* [J]. Genes & Development, 2004, 18(5): 584 - 594.

[15] CAI Yangyang, GUO Zimo, MA Chungping, et al. Knockdown of dorsal/relish increases larvae susceptibility to microbes in *Spodoptera litura* [J]. Journal of Asia-Pacific Entomology, 2019, 22(1): 87 - 95.

[16] 王国良, 金珊, 李政, 等. 三疣梭子蟹 (*Portunus trituberculatus*) 乳化病的组织病理和超微病理研究 [J]. 海洋与湖沼, 2006, 37(4): 297 - 303.

[17] SHI Yanru, JIN Min, MA Futong, et al. Involvement of relish gene from *Macrobrachium rosenbergii* in the expression of anti-microbial peptides [J]. Developmental and Comparative Immunology, 2015, 52(2): 236 - 244.

[18] VISETNAN S, SUPUNGUL P, HIRONO I, et al. Activation of *Pmrelish* from *Penaeus monodon* by yellow head virus [J]. Fish & Shellfish Immunology, 2015, 42(2): 335 - 344.

[19] LI Fuhua, YAN Hui, WANG Dongdong, et al. Identification of a novel relish homolog in Chinese shrimp *Fenneropenaeus chinensis* and its function in regulating the transcription of anti-microbial peptides [J]. Developmental and Comparative Immunology, 2009, 33(10): 1093 - 1101.

[20] ZHAO Xincheng, MA Baiwei, BERG G B, et al. A global-wide search for sexual dimorphism of glomeruli in the antennal lobe of female and male *Helicoverpa armigera* [J/OL]. Scientific Reports, 2016, 6: 35204. DOI: 10.1038/srep35204.

- tors [J/OL]. BMC Molecular Biology, 2007, 8: 53. DOI: 10.1186/1471-2199-8-53.
- [19] PARRA-PERALBO E, CULI J. *Drosophila* lipophorin receptors mediate the uptake of neutral lipids in oocytes and imaginal disc cells by an endocytosis-independent mechanism [J/OL]. PLoS Genetics, 2011, 7, e1001297. DOI: 10.1371/journal.pgen.1001297.
- [20] LU Kai, CHEN Xia, LI Yue, et al. Lipophorin receptor regulates *Nilaparvata lugens* fecundity by promoting lipid accumulation and vitellogenin biosynthesis [J]. Comparative Biochemistry and Physiology, 2018, 219/220: 28–37.
- [21] QIAO Jianwen, FA Yongliang, BAI Tianian, et al. Lipophorin receptor regulates the cuticular hydrocarbon accumulation and adult fecundity of the pea aphid *Acyrtosiphon pisum* [J]. Insect Science, 2021, 28(4): 1018–1032.
- [22] 郭予元. 棉铃虫的研究[M]. 北京: 中国农业出版社, 1998.
- [23] ZHANG Wanna, MA Long, XIAO Haijun, et al. Molecular characterization and function analysis of the vitellogenin receptor from the cotton bollworm, *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera, Noctuidae) [J/OL]. PLoS ONE, 2016, 11(5): e0155785. DOI: 10.1371/journal.pone.0155785.
- [24] JIANG Ting, MA Long, LIU Xiangya, et al. Effects of starvation on respiratory metabolism and energy metabolism in the cotton bollworm *Helicoverpa armigera* (Hübner) (Lepidoptera; Noctuidae) [J/OL]. Journal of Insect Physiology, 2019, 119: 103951. DOI: 10.1016/j.jinsphys.2019.103951.
- [25] 梁革梅, 谭维嘉, 郭予元. 人工饲养棉铃虫技术的改进[J]. 植物保护, 1999, 25(2): 15–17.
- [26] LIVAK K J, SCHMITTGEN T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta C_T}$ method [J]. Methods, 2001, 25(4): 402–408.
- [27] 刘鹏程, 刁跃琿, 郭嘉雯, 等. 昆虫迁飞行为及其调控机制[J]. 应用昆虫学报, 2021, 58(3): 520–529.
- [28] ESSER V, LIMBIRD L E, BROWN M S, et al. Mutational analysis of the ligand binding domain of the low density lipoprotein receptor [J]. Journal of Biological Chemistry, 1988, 263(26): 13282–13290.
- [29] 赵艺妍, 赵小明, 杨洋, 等. 飞蝗载脂蛋白受体基因 *LmLPR* 的表达及功能分析[J]. 应用昆虫学报, 2020, 57(2): 310–320.
- [30] YIN Jun, SPILLMAN E, CHENG E S, et al. Brain-specific lipoprotein receptors interact with astrocyte derived apolipoprotein and mediate neuron-glia lipid shuttling [J/OL]. Nature Communications, 2021, 12: 2408. DOI: 10.1038/s41467-021-22751-7.
- [31] 冯波, 朱晓明, 钟玲, 等. 补充营养对草地贪夜蛾成虫存活和繁殖的影响[J]. 中国生物防治学报, 2021, 37(6): 1172–1178.
- [32] 江幸福, 姚瑞, 张蕾, 等. 补充营养对二点委夜蛾成虫生殖与寿命的影响[J]. 植物保护学报, 2015, 42(6): 1004–1008.
- [33] 鲍晓文, 郑峰, 蔡明飞, 等. 补充营养对梨小食心虫成虫生殖与寿命的影响[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2010, 38(8): 119–123.
- [34] HANDEL E V. Fuel metabolism of the mosquito (*Culex quinquefasciatus*) embryo [J]. Journal of Insect Physiology, 1993, 39(10): 831–833.
- [35] KÜHNLEIN R P. The contribution of the *Drosophila* model to lipid droplet research [J]. Progress in Lipid Research, 2011, 50(4): 348–356.
- [36] 王竑晟, 徐洪富, 崔峰. 高温处理对甜菜夜蛾雌成虫期生殖力及卵巢发育的影响 [J]. 西南农业学报, 2004, 17(1): 34–37.
- [37] KHAN M T, DALVIN S, WAHEED Q, et al. Molecular characterization of the lipophorin receptor in the crustacean ectoparasite *Lepeophtheirus salmonis* [J/OL]. PLoS ONE, 2018, 13(4): e0195783. DOI: 10.1371/journal.pone.0195783.

(责任编辑: 杨明丽)

(上接 212 页)

- [21] YAO Shuangyan, ZHANG Yunhui, CHANG Yanpeng, et al. Pyruvate kinase is required for sex pheromone biosynthesis in *Helicoverpa armigera* [J/OL]. Frontiers in Physiology, 2021, 12: 707389. DOI: 10.3389/fphys.2021.707389.
- [22] ZHANG Songdou, AN Shiheng, LI Zhen, et al. Identification and validation of reference genes for normalization of gene expression analysis using qRT-PCR in *Helicoverpa armigera* (Lepidoptera; Noctuidae) [J]. Gene, 2015, 555(2): 393–402.
- [23] YAO Shuangyan, ZHOU Shuai, LI Xiang, et al. Transcriptome analysis of *Ostrinia furnacalis* female pheromone gland: esters biosynthesis and requirement for mating success [J/OL]. Frontiers in Endocrinology, 2021, 12: 736906. DOI: 10.3389/fendo.2021.736906.
- [24] 杨晓冰. 家蚕自噬基因表达与 BmCPV 病毒感染模型的研究 [D]. 杨凌: 西北农林科技大学, 2003.
- [25] BURKITT M D, WILLIAMS J M, DUCKWORTH C A, et al. Signaling mediated by the NF- κ B sub-units NF- κ B1, NF- κ B2 and c-Rel differentially regulate *Helicobacter felis*-induced gastric carcinogenesis in C57BL/6 mice [J]. Oncogene, 2013, 32(50): 5563–5573.
- [26] DU Mengfang, LIU Xiaoming, LIU Xiaoguang, et al. Glycerol-3-phosphate O-acyltransferase is required for PBAN-induced sex pheromone biosynthesis in *Bombyx mori* [J/OL]. Scientific Reports, 2015, 5: 8110. DOI: 10.1038/srep08110.
- [27] 孔凡, 胡隐月, 杜家纬. 斜纹夜蛾性信息素通讯系统[J]. 昆虫学报, 2001, 45(3): 404–407.

(责任编辑: 杨明丽)