北京林业大学学报
JOURNAL OF BEIJING FORESTRY UNIVERSITY

脱氢表雄酮对美国白蛾幼虫G6PD活性及几丁质合成的影响

木其日 邹传山 王子卓

Effects of dehydroepiandrosterone on G6PD activity and chitin synthesis in *Hyphantria cunea* larvae

Muqiri , Zou Chuanshan, Wang Zizhuo

引用本文:
木其日, 邹传山, 王子卓. 脱氢表雄酮对美国白蛾幼虫G6PD活性及几丁质合成的影响[J]. 北京林业大学学报, 2025, 47(10):108–119. doi: 10.12171/j.1000–1522.20240420
Muqiri , Zou Chuanshan, Wang Zizhuo. Effects of dehydroepiandrosterone on G6PD activity and chitin synthesis in *Hyphantria cunea* larvae[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2025, 47(10):108–119. doi: 10.12171/j.1000–1522.20240420

在线阅读 View online: https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20240420

您可能感兴趣的其他文章
Articles you may be interested in

白细胞激肽及其受体对美国白蛾取食和生长发育的影响
Effects of leucokinin neuropeptide and its receptor on feeding and growth of *Hyphantria cunea*
北京林业大学学报, 2025, 47(3): 95–106. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20230313

蜡对美国白蛾的捕食行为观察和捕食能力评价
Observation of predation behavior and evaluation on predation capacity of *Arma chinensis* against *Hyphantria cunea*
北京林业大学学报, 2022, 44(1): 94–102. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20200299

美国白蛾RyR对氯虫苯甲酰胺胁迫响应及分子对接分析
Stress response and molecular docking analysis of ryanodine receptor (RyR) in *Hyphantria cunea* to chlorantraniliprole
北京林业大学学报, 2024, 46(10): 90–99. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20230275

响应槲皮素诱导的美国白蛾GST基因鉴定及表达分析
Identification and expression analysis of GST genes in response to quercetin induction in *Hyphantria cunea*
北京林业大学学报, 2023, 45(11): 110–118. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20220181

三聚氰胺尿素葡萄糖（MUG）生物质树脂/硅酸钠复合改性杨木的性能与机理研究
Properties and mechanism of poplar wood modified by melamine–urea–glucose (MUG) biomass resin and sodium silicate compound
北京林业大学学报, 2022, 44(5): 124–131. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20210535

鸡树条荚果多酚改善胰岛素抵抗HepG2细胞的糖代谢效应
Improvement of insulin resistant HepG2 cells glycometabolism effect by polyphenol from the fruit of *Viburnum sargentii*
北京林业大学学报, 2020, 42(2): 106–113. https://doi.org/10.12171/j.1000–1522.20190243

DOI:10.12171/j.1000−1522.20240420

脱氢表雄酮对美国白蛾幼虫 G6PD 活性及几丁质合成的影响

木其日　　邹传山　　王子卓
（东北林业大学林学院，黑龙江 哈尔滨 150040）

摘要:【目的】以农林业重要害虫美国白蛾为研究对象，明确脱氢表雄酮（DHEA）对幼虫体内葡萄糖-6-磷酸脱氢酶（G6PD）活性及磷酸戊糖途径（PPP）的抑制效果，进而解析 PPP 途径在幼虫生长发育及几丁质合成中的功能。**【方法】**通过基因克隆获得美国白蛾 *HcG6PD* 基因，并利用生物信息学软件分析其氨基酸组成、理化特性及结构特征。采用实时荧光定量 PCR 技术分析 *HcG6PD* 基因在不同发育阶段的表达模式；测定 DHEA 处理后 5 龄幼虫体内 G6PD 活性、PPP 关键基因表达水平及中间产物含量，以明确 DHEA 对 G6PD 及 PPP 的抑制作用；进一步检测几丁质合成通路关键基因的表达水平、表皮几丁质含量及染色情况，分析 G6PD 抑制对美国白蛾 5 龄幼虫几丁质合成的影响。**【结果】**（1）DHEA 处理 5 龄幼虫 72 h 后，G6PD 活性显著降低，PPP 关键基因（*HcG6PD*、*Hc6PGD*、*Hc6PGL*）的转录水平分别降至对照组的 18%、17% 和 13%，PPP 中间产物果糖-6-磷酸（F6P）的含量仅为对照组的 18%。（2）DHEA 处理导致幼虫生长及蜕皮受阻，处理 72 h 后 5 龄幼虫体重增长量仅为对照组的 13%，且幼虫蜕皮时间较对照组延迟约 4.8 d。（3）DHEA 处理抑制了美国白蛾 5 龄幼虫几丁质合成通路关键基因（*HcGNA*、*HcPAGM*、*HcUAP*、*HcCHSA*）的转录水平，导致表皮几丁质结构变薄，且含量仅为对照组的 27%。**【结论】**DHEA 通过抑制 G6PD 的活性、下调 *Hc6PGL* 和 *Hc6PGD* 的转录水平及 F6P 含量，显著抑制了美国白蛾幼虫体内 PPP 代谢途径；DHEA 介导的 G6PD 的活性及 PPP 代谢途径抑制显著抑制了美国白蛾幼虫生长发育及表皮几丁质合成。

关键词：葡萄糖-6-磷酸脱氢酶；脱氢表雄酮；美国白蛾；幼虫生长；几丁质生物合成
中图分类号：S763.42　　**文献标志码：**A　　**文章编号：**1000−1522(2025)10−0108−12
引文格式：木其日，邹传山，王子卓. 脱氢表雄酮对美国白蛾幼虫 G6PD 活性及几丁质合成的影响［J］. 北京林业大学学报，2025，47(10)：108−119. Muqiri, Zou Chuanshan, Wang Zizhuo. Effects of dehydroepiandrosterone on G6PD activity and chitin synthesis in *Hyphantria cunea* larvae［J］. Journal of Beijing Forestry University, 2025, 47(10): 108−119.

Effects of dehydroepiandrosterone on G6PD activity and chitin synthesis in *Hyphantria cunea* larvae

Muqiri　Zou Chuanshan　Wang Zizhuo
(School of Forestry, Northeast Forestry University, Harbin 150040, Heilongjiang, China)

Abstract:［**Objective**］This study investigated the inhibitory effect of dehydroepiandrosterone (DHEA) on glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD) activity and the pentose phosphate pathway (PPP) in larvae of *Hyphantria cunea*, a major agricultural and forestry pest, further examining the role of the PPP in larval growth, development, and chitin biosynthesis.［**Method**］The *HcG6PD* gene was cloned from *Hyphantria cunea*, and the amino acid composition, physicochemical properties and structural characteristics of *HcG6PD* were analyzed by bioinformatics software. The expression pattern of *HcG6PD* at different developmental stages was analyzed by RT-qPCR. The G6PD activity, the expression levels of key genes and

收稿日期: 2024−12−09　**修回日期:** 2025−05−06
基金项目: 国家自然科学基金项目（32371880）。
第一作者: 木其日。主要研究方向：森林保护。Email: 1969238823@qq.com　地址：150040 黑龙江省哈尔滨市东北林业大学林学院。
责任作者: 邹传山，高级工程师。主要研究方向：森林保护。Email: zoucs1980@126.com　地址：同上。
本刊网址: http://j.bjfu.edu.cn；http://journal.bjfu.edu.cn

intermediate product content in PPP in the 5th instar larvae of *H. cunea* were measured after treating with DHEA. Meanwhile, the inhibitory effect of DHEA on G6PD and PPP was analyzed. To evaluate the effects of G6PD inhibition on chitin synthesis, the relative expression levels of key genes in the chitin synthesis pathway and the chitin content in epidermis of the 5th instar *H. cunea* larvae were determined. Meanwhile, chitin in the epidermis was stained after treating with DHEA. [**Result**] (1) After treating the 5th instar larvae with DHEA for 72 hours, the activity of G6PD significantly decreased, and the transcriptional levels of the key genes of PPP (*HcG6PD*, *Hc6PGD*, *Hc6PGL*) were only 18%, 17%, and 13% of control, respectively. The content of fructose-6-phosphoric acid (F6P) of key genes of PPP was only 0.18 times of control. (2) DHEA treatment led to the obstruction of larval growth and molting. After treating with DHEA for 72 hours, the mass gain of the 5th instar larvae was only 13% of control, and the molting time of larvae was delayed by approximately 4.8 days compared with control. (3) The transcription levels of key genes (*HcGNA*, *HcPAGM*, *HcUAP*, *HcCHSA*) in chitin synthesis pathway of the 5th instar *H. cunea* larvae were inhibited by DHEA. This inhibition led to a reduction in epidermal chitin content, which was only 27% of control, as well as a thinning of epidermal chitin structure. [**Conclusion**] DHEA significantly inhibites the PPP metabolic pathway in *H. cunea* larvae by suppressing G6PD activity, reducing the transcriptional levels of *Hc6PGL* and *Hc6PGD*, and the content of F6P. The inhibition of G6PD activity and PPP induced by DHEA significantly depresses the growth and development, and the epidermal chitin biosynthesis in *H. cunea* larvae.

Key words: glucose-6-phosphate dehydrogenase (G6PD); dehydroepiandrosterone (DHEA); *Hyphantria cunea*; larval growth; chitin biosynthesis

磷酸戊糖途径（pentose phosphate pathway，PPP）是葡萄糖分解代谢的重要途径。作为连接糖代谢与核苷酸代谢的桥梁，该途径由己糖激酶（hexokinase，HK）催化葡萄糖转化为葡萄糖-6-磷酸（G6P）启动，分为氧化阶段和非氧化阶段两个步骤。其氧化阶段的主要产物包括戊糖、还原型辅酶 II（nicotinamide adenine dinucleotide phosphate，NADPH）和核糖-5-磷酸（ribose 5-phosphate，R5P）。其中，R5P 是脂质和核苷酸合成的关键分子，而 NADPH 不仅为生物合成提供还原力，还在维持氧化还原稳态方面发挥重要作用[1−2]。在非氧化阶段，生成的果糖-6-磷酸（fructose-6-phosphate，F6P）和甘油醛-3-磷酸（glyceraldehyde-3-phosphate，G3P）能够与糖酵解、糖异生及三羧酸循环协同作用，维持能量代谢平衡[3]。作为碳水化合物代谢、氧化还原稳态和生物合成的核心枢纽，PPP 在维持细胞代谢平衡中具有多重关键功能。在哺乳动物中，PPP 功能异常与癌症、糖尿病并发症及神经退行性疾病等重大疾病密切相关[3−5]，因此对 PPP 及与其相关通路的研究较为深入。然而，昆虫中 PPP 的研究较少，主要集中于调控葡萄糖代谢、能量代谢、氧化应激响应及免疫反应等方面。在果蝇（*Drosophila melangaster*）KC 细胞中，Ceddia 等[6]利用 ^{14}C 和 [^{3}H] 同位素标记技术研究发现，胰岛素通过 PPP 刺激葡萄糖代谢，为 DNA 合成和细胞复制提供 5′-磷酸提供重要来源。在烟草天蛾（*Manduca sexta*）中，PPP 通过分配膳食碳水化合物代谢维持血淋巴中海藻糖、核糖和 NADPH 的平衡，同时保障能量供应[7]。在家蚕（*Bombyx mori*）BmPer 缺失突变体中，PPP 被证实参与氧化应激反应、还原力供应、细胞正常生理活动及饥饿抗性[8]。此外，近期研究表明，PPP 在果蝇的免疫反应、病原体抗性和宿主保护中也起着重要作用[9]。然而，PPP 在调控昆虫生长发育及几丁质合成中的具体生理功能尚不明确。

葡萄糖-6-磷酸脱氢酶（glucose-6-phosphate dehydrogenase，G6PD）是 PPP 氧化阶段的关键酶，在昆虫免疫代谢、氧化应激响应及生长发育等生理过程中具有重要调控作用。研究表明，尖音库蚊（*Culex pipiens*）摄入疟原虫污染的血液后，其体内 G6PD 的转录水平显著上调，证实了该酶在昆虫免疫防御系统中的关键作用[10]。当昆虫遭受外界环境胁迫时，G6PD 通过催化生成 NADPH，为还原型谷胱甘肽（GSH）的生物合成提供必要的还原力，从而有效清除过量活性氧（ROS），维持细胞氧化还原稳态，避免氧化损伤[11]。基于家蚕杂种优势性状的转录组与蛋白质组联合分析发现，G6PD 基因在滞育期和胚胎发育阶段均呈现持续高表达，提示其可能通过调控能量代谢参与家蚕发育进程[12]。然而，G6PD 是否参与调控昆虫几丁质合成仍需进一步研究。

脱氢表雄酮（Dehydroepiandrosterone，DHEA，化学式为 $C_{19}H_{28}O_2$）是一种甾体化合物，其对哺乳动

物 G6PD 活性及 PPP 的抑制作用已在多项研究中得到验证。例如，在肺腺癌细胞和红细胞中，DHEA 处理导致 $NADP^+$向 NADPH 的转化过程受阻，NADPH 生成量显著减少，G6PD 的活性明显受到抑制[13−14]。在人类及小鼠的子宫内膜基质细胞中，DHEA 对 PPP 表现出显著的抑制作用，其抑制效果与 6-氨基烟碱酰胺（PPP 抑制剂）相当[15]。此外，在小鼠模型的体内试验中也观察到 DHEA 能够有效抑制巨噬细胞的 PPP 通量[16]。进一步研究表明，DHEA 主要通过竞争性结合和非竞争性结合两种方式与 G6PD 结合，从而抑制其催化活性[17−18]。然而，DHEA 对昆虫 G6PD 活性及 PPP 是否具有相似的抑制作用尚未明确。

几丁质是昆虫表皮和中肠围食膜的重要组成部分，其生物合成以海藻糖为初始底物，由海藻糖酶（Tre）、己糖激酶、葡萄糖-6-磷酸异构酶（G6PI）、谷氨酰胺-果糖-6-磷酸氨基转移酶（GFAT）、葡萄糖胺-6-磷酸-N-乙酰基转移酶（GNA）、磷酸乙酰氨基葡萄糖变位酶（PAGM）、UDP-N-乙酰氨基葡糖焦磷酸化酶（UAP）和几丁质合成酶（CHS）等 8 个关键酶共同催化完成[19]。几丁质合成通路属于糖代谢的一个旁路——己糖胺通路（hexosamine biosynthesis pathway，HBP），与糖代谢调控存在紧密联系。在柑橘木虱（*Diaphorina citri*）中，RNAi 介导糖酵解关键酶己糖激酶的沉默显著导致几丁质合成受阻，并出现发育畸形表型[20]。同样地，沉默氨基糖代谢途径的关键酶—磷酸葡萄糖胺异构酶，显著抑制褐飞虱（*Nilaparvata lugens*）体内的海藻糖代谢和几丁质的合成[21]。此外，沉默美国白蛾（*Hyphantria cunea*）幼虫体内氨基糖代谢途径的关键限速酶基因 *HcGFAT*，显著抑制 HBP，导致几丁质合成受阻[22]。在前期的研究中，我们发现糖酵解激活剂（果糖-1，6-双磷酸三钠盐）或抑制剂（3-溴丙酮酸）均对美国白蛾幼虫几丁质合成具有显著影响[23−24]。以上结果充分证明了糖酵解通路和氨基糖代谢途径与昆虫几丁质的合成之间的密切联系。然而，PPP 作为糖代谢的重要分支，其是否参与调控昆虫几丁质生物合成仍不清楚。

美国白蛾隶属鳞翅目（Lepidoptera）目夜蛾科（Erebidae），具有食性杂、传播途径广、繁殖数量大、群居危害等特点，对农林牧业造成严重经济损失[25−27]。本文以美国白蛾幼虫为研究对象，克隆获得 *HcG6PD* 基因，并在此基础上系统探究 DHEA 对美国白蛾幼虫 G6PD 活性及 PPP 的影响，重点分析 DHEA 介导的 PPP 抑制对美国白蛾幼虫几丁质合成的作用。研究结果将为筛选美国白蛾绿色防控新靶点提供基础数据，为进一步揭示昆虫中 PPP 与几丁质合成之间的调控机制奠定理论基础。

1 材料与方法

1.1 昆虫和试剂

供试昆虫：美国白蛾虫卵和人工饲料购自中国林业科学研究院森林生态与环境保护研究所（北京）。使用 15% 甲醛对卵块表面进行熏蒸消毒 10 min，然后将卵块置于（25 ± 1）℃、光周期为 14L∶10D、相对湿度（30 ± 5）% 的人工智能气候箱（杭州惠尔仪器设备有限公司，GZH-800A）中孵化。初孵幼虫放置于塑料养虫盒中，以新鲜人工饲料饲养。试验结束后，使用无水乙醇浸泡对美国白蛾幼虫进行严格消杀处理。

供试试剂：脱氢表雄酮（$C_{19}H_{28}O_2$），纯度≥98%，购自麦克林生化科技股份有限公司（上海）。

1.2 *HcG6PD* 基因克隆及生物信息学分析

基于对美国白蛾基因转录组数据的分析比对，提取完整的 *HcG6PD* 基因序列。利用 Primer 5.0（http://www.PrimerBiosoft.com）软件设计 *HcG6PD* 全长引物，如表 1 所示。采用 Trizol 法提取美国白蛾总 RNA[28]。通过分光光度计测量 260 nm 处的吸光度确定 RNA 浓度，并使用带有 gDNA Eraser 的 PrimeScript®RT 试剂盒（TaKaRa，大连）进行 cDNA

表 1 本文所用相关基因的引物序列

Tab. 1 Primer sequences of related genes used in this study

基因	正向引物序列（5′—3′）	反向引物序列（5′—3′）	扩增长度/bp	扩增用途	NCBI基因库序列号
HcG6PD	TGGAAAACAAAACAGACTTTCAGTA	TTAACATAGTGTAGGTTTCTTCCATT	1 485	Complete CDS	OR509770.1
HcG6PD	ATGGAAAACAAAACAGACTTTCAG	TTAACATAGTGTAGGTTTCTTCCA	189	RT-qPCR	OR509770.1
Hc6PGD	ATGGCACAAGCTCAAGCTGATA	TTAGTTGTTGTAAGTGGAAGCAG	134	RT-qPCR	OR509771.1
Hc6PGL	CGAGGACTACACAGCAAAAC	AATGGATGACCAGGGAACAA	173	RT-qPCR	PV416882
HcGNA	ACGACACCTACAGAGGCAAA	AGCGTTAGAGTTTCCAGGCT	163	RT-qPCR	ON624327
HcPAGM	GAAGGAGAACCGGAACAACG	CTCATCCACTGCTTGATGCC	148	RT-qPCR	ON624328
HcUAP	CTGACTGTGCAGCCAAAGTT	GCCTGCTGAGAAAGTTAGCC	160	RT-qPCR	MZ485790
HcCHSA	CCCACAACATCGTCGTTGAA	TTTGCAGGCAAACTTTCCGA	187	RT-qPCR	MZ485791
Hcβ-actin	CTACCTCACGCCATTCTC	AGCTTCTCCTTGATGTCAC	193	RT-qPCR	MMH678709.1

合成及 PCR 验证。

利用 NCBI 数据库和 BLAST 服务器(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/gorf.html)分析核苷酸序列及其推导的氨基酸序列。通过 Protparam 工具(http://web.expasy.org/protscale/)分析蛋白质组成、相对分子质量、物理和化学性质。利用在线分析软件 SOPMA 及 SWISS-MODEL 对美国白蛾 G6PD 的二级和三级结构进行预测分析。利用 BioEdit 软件(https://thalljiscience.github.io)对来自美国白蛾、棉铃虫(*Helicoverpa armigera*)、劳氏黏虫(*Mythimna loreyi*)和车前灯蛾(*Arctia plantaginis*)的 G6PD 蛋白序列进行多序列比对。此外，从 GenBank 中获取黑腹果蝇(*Drosophila melanogaster*)、麦双尾蚜(*Diuraphis noxia*)、淡黄美冬夜蛾(*Xanthia icteritia*)、红棒球灯蛾(*Tyria jacobaeae*)、棉铃虫、褐飞虱(*Nilaparvata lugens*)、赤拟谷盗(*Tribolium castaneum*)、毕氏卵角蚁(*Oocerаea biroi*)、筋纹灯蛾(*Spilarctia lutea*)、茶翅蝽(*Halyomorpha halys*)、人类(*Homo sapiens*)、家鼠(*Mus musculus*)的 G6PD 蛋白序列，并使用 MEGA X 软件(https://www.megasoftware.net)构建系统发育树。

1.3　*HcG6PD* 基因表达模式

为分析 *HcG6PD* 在不同发育阶段的表达水平，分别随机选取 1～6 龄健康美国白蛾幼虫各 3 头，用于总 RNA 提取及第一链 cDNA 合成。以获得的 cDNA 为模板，通过荧光定量 PCR 测定 *HcG6PD* 的相对表达水平，每个处理重复 3 次。

1.4　美国白蛾 G6PD 活性测定

随机选取健康且发育阶段一致的美国白蛾 5 龄幼虫，经 12 h 饥饿处理后，分别饲喂含 100、200、300 mg/g DHEA 的混合饲料。分别于处理 24、48、72 h 后取样，采用 G6PD 试剂盒测定 G6PD 活性。以饲喂正常饲料的幼虫为对照，每个处理重复 3 次。

使用 G6PD 试剂盒(索莱宝科技有限公司，北京)对美国白蛾幼虫 G6PD 活性进行测定。其原理是 G6PD 催化 $NADP^+$还原生成 NADPH，通过 NADPH 的增加速率来确定 G6PD 活性。具体步骤如下：称取 0.1 g 昆虫组织，加入 1 mL 提取液，冰上充分匀浆后置于离心机内，8 000 × g，4 ℃，离心 10 min。取上清，置于冰上待测。按照试剂盒说明书依次加入试剂，通过紫外分光光度计在 340 nm 下测定 5 min 内吸光值变化，计算美国白蛾 G6PD 活性。根据 DHEA 对 G6PD 活性的抑制效果，选择 200 mg/g DHEA 用于后续试验。

1.5　生长发育指标测定

随机选取健康且发育阶段一致的美国白蛾 5 龄幼虫，饥饿处理 12 h 后，饲喂含 200 mg/g DHEA 的人工饲料，每隔 12 h 统计幼虫体重及蜕皮率。以正常饲料为对照，试验重复 3 次。

1.6　实时荧光定量分析

随机选取健康且发育阶段一致的美国白蛾 5 龄幼虫，饥饿处理 12 h 后，饲喂含 200 mg/g DHEA 的人工饲料，分别于 24、48 和 72 h 后取样，用于提取总 RNA 并反转录得到 cDNA。实时荧光定量 PCR 反应在 Bio-Rad CFX 96 Real-time PCR 系统上进行，反应条件为：95 ℃ 预变性 30 s(40 个循环)，60 ℃ 退火 30 s，最终从 65～95 ℃ 进行熔解曲线分析，每个样品重复测量 3 次。实时荧光定量 PCR 引物由睿博兴科生物技术有限公司(北京)合成，具体引物序列见表 1。每个处理重复 3 次，目标基因的相对表达量计算以 *Hcβ-actin* 为内参基因，采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法[29]进行归一化处理。

1.7　果糖-6-磷酸（F6P）含量测定

果糖-6-磷酸(F6P)含量采用其试剂盒(格锐思生物科技有限公司，苏州)进行测定。具体步骤如下：称取 0.1 g 昆虫组织，加入 1 mL 提取液，冰上充分匀浆后 4 ℃，12 000 × g，离心 10 min，取上清，置冰上待测。根据试剂盒说明书，将上清液与试剂盒中的试剂依次加入酶标仪检测板中，充分混匀，室温(25 ℃)孵育 20 min 后测定反应液在 340 nm 处吸光值(OD_{340})，并根据 OD_{340} 计算 F6P 含量。

1.8　几丁质染色

将美国白蛾 5 龄幼虫使用 DHEA 处理 72 h 后，置于 4% 的多聚甲醛固定液中，4 ℃ 固定过夜。参照 Petshow 等[30]的方法，将固定后的幼虫包埋于冷冻包埋剂(FSC 22 Blue，徕卡公司)中，利用冷冻切片机(CM1900，徕卡公司)在−25 ℃ 下进行组织切片。在切片中加入 Fluorescent Brightener 28 工作液，室温避光孵育 10 min，玻片置于 PBS(pH 7.4)中，在脱色摇床上避光晃动洗涤 3 次，每次 5 min。切片稍甩干后滴加 PI 染液，室温避光染细胞核 8 min 后，用 PBS(pH7.4)洗涤 3 次，稍甩干后用抗荧光淬灭封片剂封片，荧光显微镜下观察并拍照。

1.9　几丁质含量的测定

几丁质含量测定参照 Zhang 等[31]的方法进行操作，稍作修改。将处理 72 h 后的美国白蛾 5 龄幼虫解剖，取其表皮置于自制消化管中，加入 8 mL 饱和氢氧化钾溶液，置于 160 ℃ 烘箱加热 45 min 至表皮几丁质上的乙酰基脱去，仅剩透明薄膜状的几丁糖。将未消化的几丁糖置于干净培养皿冲洗，依次加入浓度 95% 和 100% 乙醇脱水。称质量并计算几丁质的相对含量。

1.10 统计分析

每个试验独立重复 3 次，数值以 3 次独立试验的平均值 ± 标准差表示。采用 SPSS 统计软件(SPSS Statistics 18 软件，美国)对数据进行分析。方差齐性检验采用 Levene 检验，处理组与对照组差异采用独立样本检验进行统计学分析，*表示差异显著性(*p < 0.05、**p < 0.01、***p < 0.001、****p < 0.000 1)。

2 结果与分析

2.1 *HcG6PD* 基因克隆及生物信息学分析

将 *HcG6PD* 基因进行 PCR 扩增后，产物经 1.0% 琼脂糖凝胶电泳检测，凝胶成像显示基因片段长度与预期结果一致(图 1a)。*HcG6PD* 基因的完整编码序列长 1 485 bp，编码 494 个氨基酸，预测的蛋白分子量为 57.335 kDa，蛋白质分子式为 $C_{2608}H_{4042}N_{690}O_{741}S_{13}$，理论等电点为 8.06。二级和三级结构分析表明，美国白蛾 G6PD 蛋白结构包括 40.69% 的 α-螺旋、14.37% 的 β-折叠以及 44.94% 延伸主链(包括无规则卷曲和 β-转角)(图 1b ~ c)。HcG6PD 的 α-螺旋占比高达 40.69%，其折叠方式与经典脱氢酶的 Rossmann 折叠一致，支持其辅酶结合功能；大量无规则卷曲(44.94%)赋予底物通道动态适应性；等电点偏碱性(pI = 8.06)优化了与 $NADP^+$的静电相互作用。这些特征共同构成其作为 PPP 限速酶的结构基础。

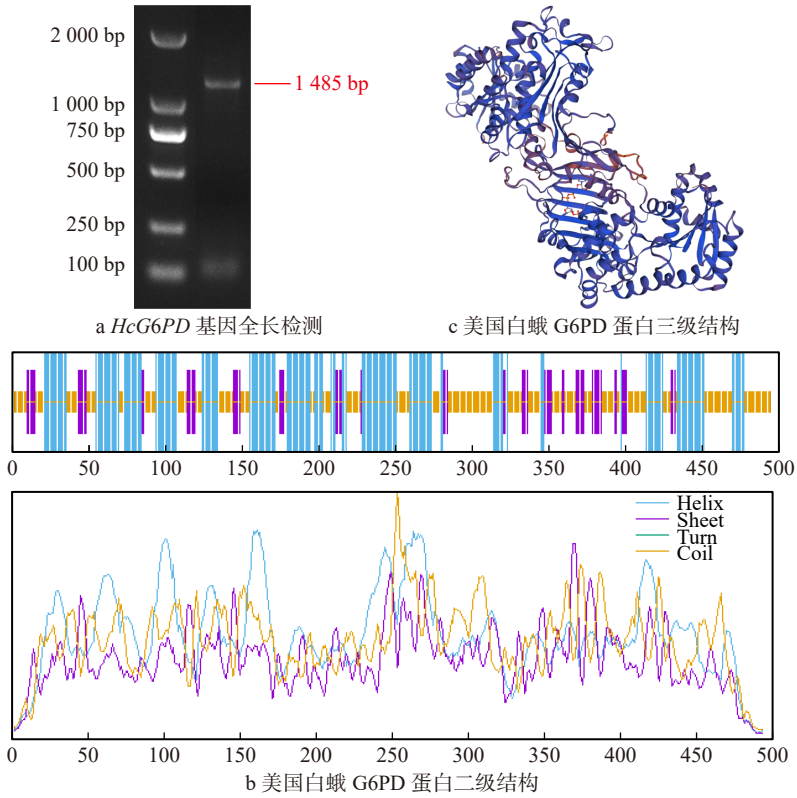
美国白蛾、棉铃虫、劳氏黏虫及车前灯蛾的 G6PD 氨基酸序列的多序列比对分析表明，美国白蛾 G6PD 蛋白与其他几种昆虫的氨基酸序列的同源性为 91.09% ~ 94.33%，表明 G6PD 蛋白具有较高的保守性(图 2a)。基于 13 种不同昆虫及哺乳动物的 G6PD 氨基酸序列构建的系统发育进化树(图 2b)显示，美国白蛾 G6PD 与其他 4 种鳞翅目昆虫的 G6PD 同源物具有较高相似性，包括筋纹灯蛾、红棒球灯蛾、淡黄美冬夜蛾及棉铃虫，其中与淡黄美冬夜蛾和棉铃虫同源性最高。此外，美国白蛾 G6PD 与哺乳动物 G6PD 氨基酸序列也表现出一定的相似性。

2.2 *HcG6PD* 表达模式分析

通过实时荧光定量 PCR 技术分析 *HcG6PD* 基因在不同发育时期的 mRNA 表达水平(图 3)，结果显示，该基因在幼虫各龄期均有表达，其中 5 龄幼虫中的相对表达量最高，而 2 龄和 3 龄幼虫中相对表达量较低，仅为 5 龄幼虫表达量的 53% 和 74%。基于上述结果，选择美国白蛾 5 龄幼虫进行 DHEA 处理及相关后续分析。

2.3 DHEA 对于美国白蛾 G6PD 活性的影响

不同含量 DHEA 人工饲料处理美国白蛾 5 龄幼虫后，其 G6PD 活性如图 4 所示。在处理 24、48 和



a *HcG6PD* 基因全长检测　c 美国白蛾 G6PD 蛋白三级结构

b 美国白蛾 G6PD 蛋白二级结构

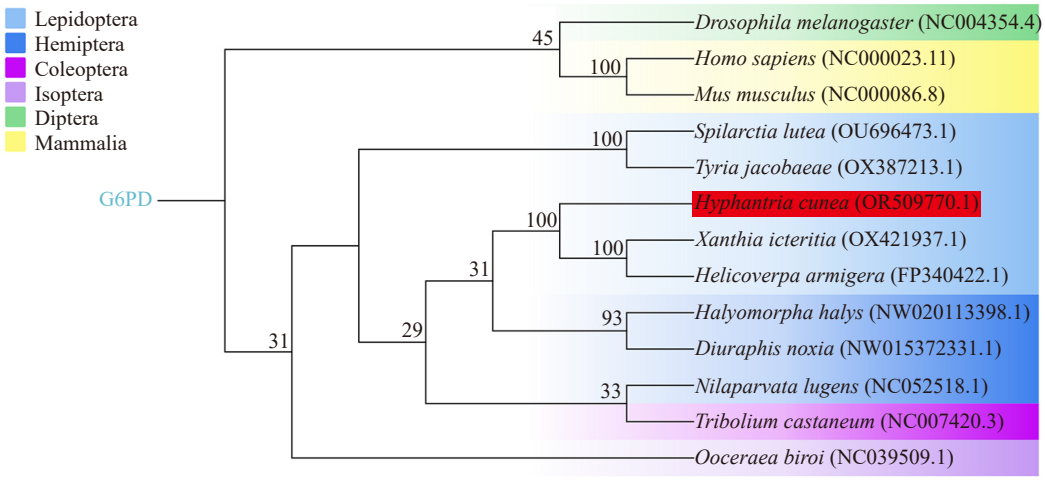
Helix 表示 α-螺旋，Sheet 表示 β-折叠，Turn 表示 β-转角，Coil 表示无规则卷曲。

图 1 美国白蛾 *HcG6PD* 基因克隆及蛋白二级、三级结构预测

Fig. 1 *HcG6PD* gene cloning and prediction of secondary and tertiary structures of G6PD protein in *Hyphantria cunea*



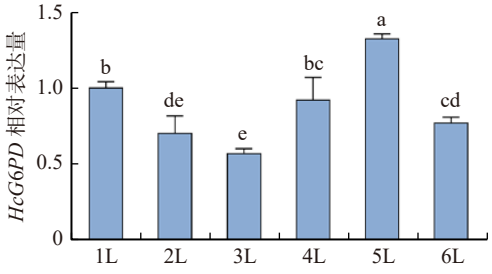
a G6PD 多序列比对



b G6PD 系统发育进化树

图 2　美国白蛾 G6PD 生物信息学分析

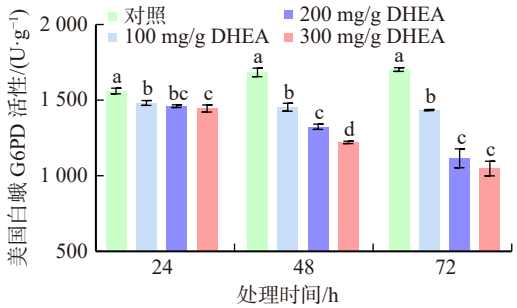
Fig. 2　Bioinformatics analysis of G6PD in *H. cunea*



1L ~ 6L 表示 1 ~ 6 龄幼虫；使用 Duncan 方法分析差异显著性，不同小写字母表示不同处理组间差异显著（$p < 0.05$）。

图 3　美国白蛾幼虫 *HcG6PD* 在不同发育阶段的表达水平

Fig. 3　*HcG6PD* expression levels in different development stages of *H. cunea* larvae



采用 Duncan 方法分析差异显著性，不同小写字母表示各处理组间差异显著（$p < 0.05$）。

图 4　DHEA 处理后美国白蛾幼虫体内 G6PD 活性

Fig. 4　G6PD activity in *H. cunea* larvae after treating with DHEA

72 h 时，G6PD 活性均显著低于对照组，且 DHEA 质量浓度与抑制效果呈正相关，而处理时间与 G6PD 活性呈负相关。其中，100、200 和 300 mg/g DHEA 处理 24 h 后，美国白蛾幼虫体内 G6PD 活性仅为对照组的 95%、94% 和 93%；而在处理 72 h 时，G6PD 活性的抑制效果最为显著，其中 100 mg/g DHEA 处理组的 G6PD 活性为对照组的 84%，200 和 300 mg/g DHEA 处理后，G6PD 活性分别下降至对照组的 66% 和 62%，表现出最强的抑制效果（图 4）。

2.4　DHEA 对美国白蛾幼虫 PPP 的影响

实时荧光定量 PCR 的结果表明，经 DHEA 处理后，美国白蛾幼虫体内 *HcG6PD* 的转录水平显著下降（图 5a）。由图 5a 可知，在处理 24、48 和 72 h 后，

美国白蛾幼虫体内 *HcG6PD* 表达量分别为对照组的 52%、25% 和 18%，这与美国白蛾 G6PD 活性的下降趋势一致。此外，DHEA 处理还显著下调了 PPP 氧化阶段中 6-磷酸葡萄糖酸脱氢酶（6-Phosphogluconate Dehydrogenase，6PGD）和 6-磷酸葡萄糖酸内酯酶（6-Phosphogluconolactonase，6PGL）的转录水平。在 DHEA 处理 24、48 和 72 h 后，*Hc6PGD* 的转录水平分别为对照组的 72%、21% 和 17%（图 5b）；*Hc6PGL* 的转录水平分别为对照组的 30%、17% 和 13%（图 5c）。此外，DHEA 处理还显著降低了 PPP 中间产物 F6P 的含量。如图 5d 所示，在 24、48 和 72 h 时，DHEA 处理组中 F6P 含量仅为对照组的 24%、21% 和 18%。上述结果表明，DHEA 显著抑制了美国白蛾幼虫体内 G6PD 活性，并导致 PPP 代谢受阻。

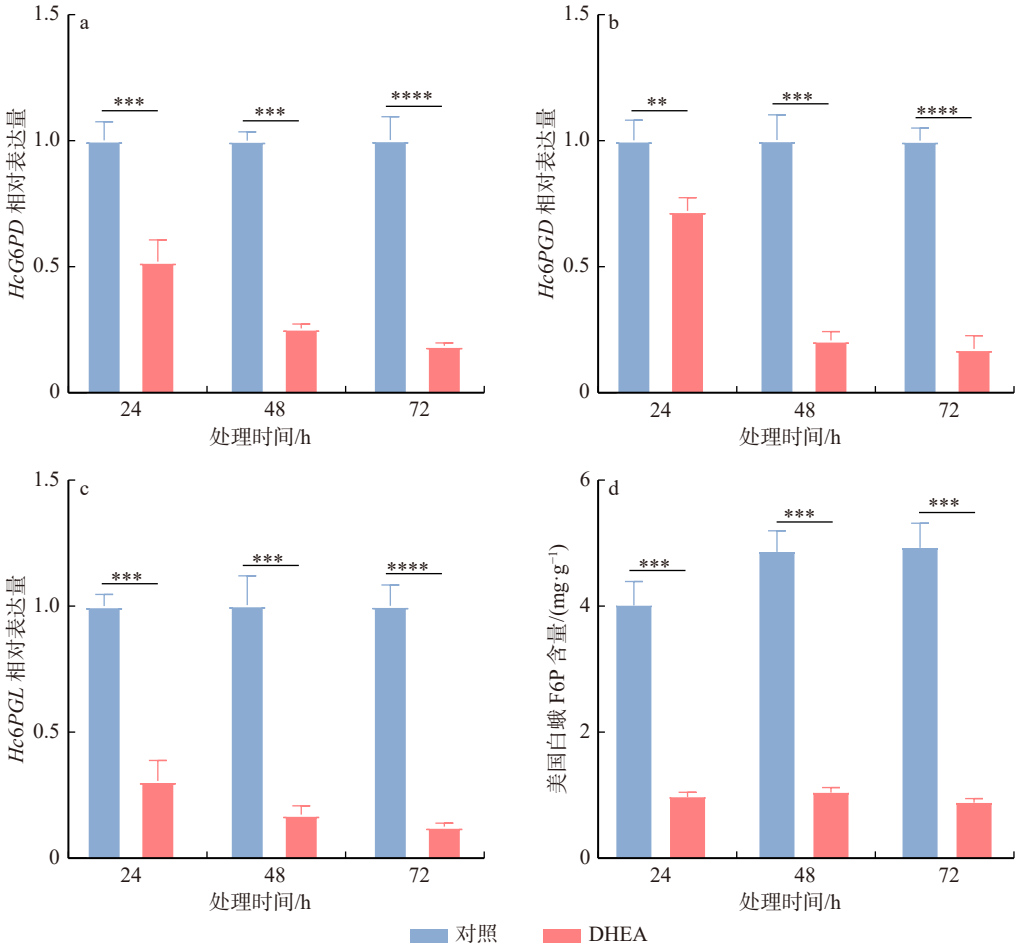
2.5 DHEA 对美国白蛾幼虫生长发育的影响

生物测定结果表明，DHEA 显著抑制了美国白蛾 5 龄幼虫体重的增长，并延缓其生长发育（图 6a，6b），同时导致幼虫蜕皮显著延迟（图 6c）。如图 6b 所示，DHEA 处理 72 h 后，美国白蛾幼虫体重平均增长量为 0.008 g，而对照组为 0.063 g；在处理 120 h 后，试验组幼虫体重平均增长量为 0.019 g，对照组为 0.074 g；处理 168 h 后，试验组幼虫体重平均增长量为 0.023 g，对照组为 0.133 g。此外，DHEA 处理明显延缓了美国白蛾幼虫的蜕皮过程，5 龄至 6 龄蜕皮时间延迟约 4.8 d，显著影响了幼虫的发育周期（图 6c）。

2.6 DHEA 对美国白蛾幼虫表皮几丁质合成的影响

DHEA 处理 72 h 后，美国白蛾幼虫表皮几丁质含量较对照组下降了 26.9%（图 7a）。荧光染色结果显示，与对照组相比，经 DHEA 处理后的幼虫表皮中几丁质层更薄（图 7b）。

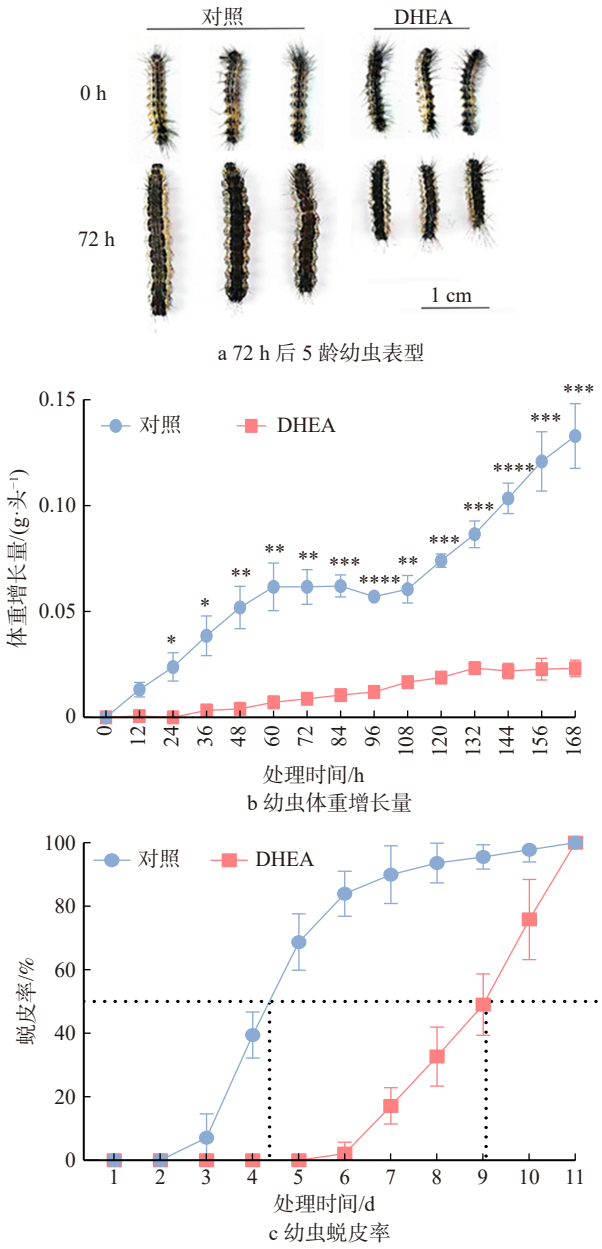
同时，DHEA 处理 24、48 和 72 h 后，美国白蛾幼虫体内几丁质合成通路中 4 个关键基因 *HcGNA*、*HcPAGM*、*HcUAP* 和 *HcCHSA* 的表达量均低于对照组。尤其在处理 72 h 时，这 4 个关键基因的表达量分别仅为对照组的 50%、83%、29% 和 67%，下调极为显著（图 8）。这表明，DHEA 抑制了美国白蛾幼



数据以 3 个独立生物重复的平均值 ± SE 表示。*号表示显著差异（*p < 0.05、**p < 0.01、***p < 0.001、****p < 0.001）。下同。

图 5 DHEA 处理后 PPP 关键基因表达量及 F6P 含量

Fig. 5 Expression levels of key PPP genes and F6P content after DHEA treatment



a 72 h 后 5 龄幼虫表型
b 幼虫体重增长量
c 幼虫蜕皮率

图 6　DHEA 处理对美国白蛾幼虫生长发育的影响

Fig. 6　Effects of DHEA treatment on growth and development of *H. cunea* larvae

虫 G6PD 的活性及 PPP，并降低了几丁质合成途径中的关键基因的表达，最终导致幼虫表皮几丁质含量的减少。

3　结　　论

基于上述研究结果，绘制了 DHEA 调控美国白蛾幼虫体内 PPP 和几丁质合成通路机制的模式图（图 9）。由图 9 可知，经 DHEA 处理后，美国白蛾幼虫体内 PPP 关键酶 G6PD 活性受到抑制，导致 PPP 氧化阶段两个关键酶 6PGL 和 6PGD 的转录水平显著降低；同时，PPP 中间产物 F6P 含量也显著下降，并显著下调了几丁质合成通路中 *HcGNA*、*HcPAGM*、*HcUAP*、*HcCHSA* 等基因的表达水平，最终导致美国白蛾幼虫表皮几丁质含量显著减少。

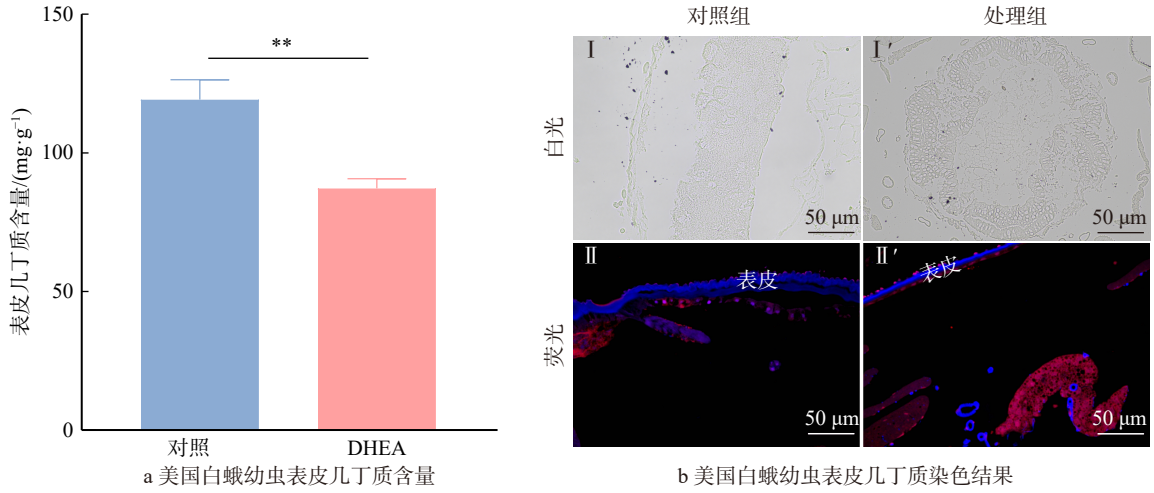
4　讨　　论

PPP 作为糖代谢的重要分支，不仅参与生物体的能量代谢，还在生长发育调控中发挥关键作用。本研究发现，DHEA 显著抑制了美国白蛾幼虫体内 G6PD 活性，从而抑制了 PPP，导致其生长发育受阻、蜕皮延迟（图 4、6）。一方面，DHEA 可能通过抑制 PPP 产物 R5P 的生成，直接影响美国白蛾幼虫体内 DNA/RNA 的生物合成及细胞分裂，从而抑制生长发育[32−33]。另一方面，PPP 生成的 NADPH 作为还原力，在脂肪酸、胆固醇、核酸等物质的合成中也具有重要作用。DHEA 可能通过抑制 NADPH 的生成，进一步限制脂肪酸、核酸等物质的合成，从而抑制幼虫生长[34]。此外，TOR 信号通路的活性依赖于 PPP 提供的 NADPH/$NADP^+$、氧化还原稳态及 R5P（核苷酸合成前体）。因此，DHEA 还可能通过抑制 PPP 代谢产物的生成，进而抑制 mTOR 信号通路，最终导致幼虫生长停滞[35−37]。另外，DHEA 抑制 PPP 破坏了细胞的氧化还原稳态，导致活性氧（ROS）积累，而高水平的 ROS 通过调控 4EBP 和 S6K 限制细胞生长，这可能是幼虫生长受抑制的另一原因[38]。

此外，本研究发现 DHEA 显著延迟了美国白蛾幼虫的蜕皮过程（图 6c）。这可能是由于 DHEA 抑制 PPP 导致 ROS 积累，上调蛋白激酶 B（AKT）的磷酸化水平（p-AKT），从而降低糖原合成酶激酶 3β（GSK3β）活性，而低 GSK3β 活性通过下调 Smad1 活性抑制了蜕皮激素受体 EcR 表达，削弱蜕皮激素级联信号，最终导致幼虫蜕皮延迟[39−41]。然而，DHEA 对 TOR 信号通路及 ROS 水平的影响仍需进一步验证。

几丁质作为昆虫表皮和中肠围食膜的主要成分，其生物合成与糖代谢调控之间存在着紧密联系[42−43]。研究表明，在马铃薯甲虫（*Leptinotarsa decemlineata*）和褐飞虱中，干扰几丁质合成初始底物——海藻糖的代谢，会直接影响其几丁质合成乃至蜕皮与发育过程[44]。同样地，在我们前期的研究中发现，抑制或激活糖酵解通路均显著影响美国白蛾幼虫几丁质的合成[23−24]。与此类似，DHEA 抑制 PPP 也显著抑制了美国白蛾幼虫表皮几丁质的合成（图 7）。这可能主要是由于 DHEA 抑制了 PPP 中 F6P 的生成（图 5d）。由于 F6P 是几丁质合成通路中的关键中间底物，其含量减少导致几丁质合成底物不足，最终影响了表皮中几丁质的含量。

此外，几丁质合成通路基因的表达不仅直接受底物浓度水平的影响[45]，还受到 20E 信号及其诱导



a 美国白蛾幼虫表皮几丁质含量　　b 美国白蛾幼虫表皮几丁质染色结果

图 b 中白光下显示对照组与处理组的染色结果(Ⅰ、Ⅰ′),荧光显微镜下观察到幼虫表皮几丁质被 FB28 染成蓝色(Ⅱ、Ⅱ′)。

图 7　DHEA 处理对美国白蛾幼虫表皮几丁质含量的影响

Fig. 7　Effects of DHEA treatment on chitin content in epidermis of *H. cunea* larvae

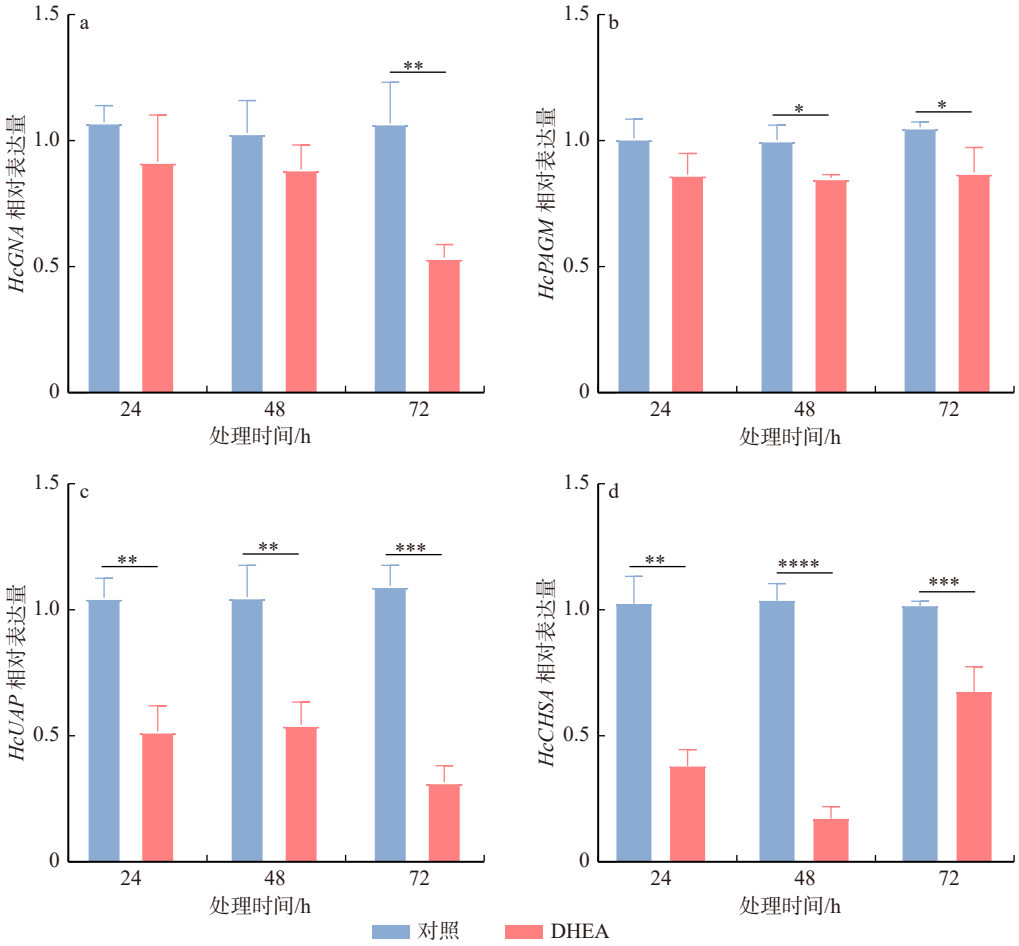
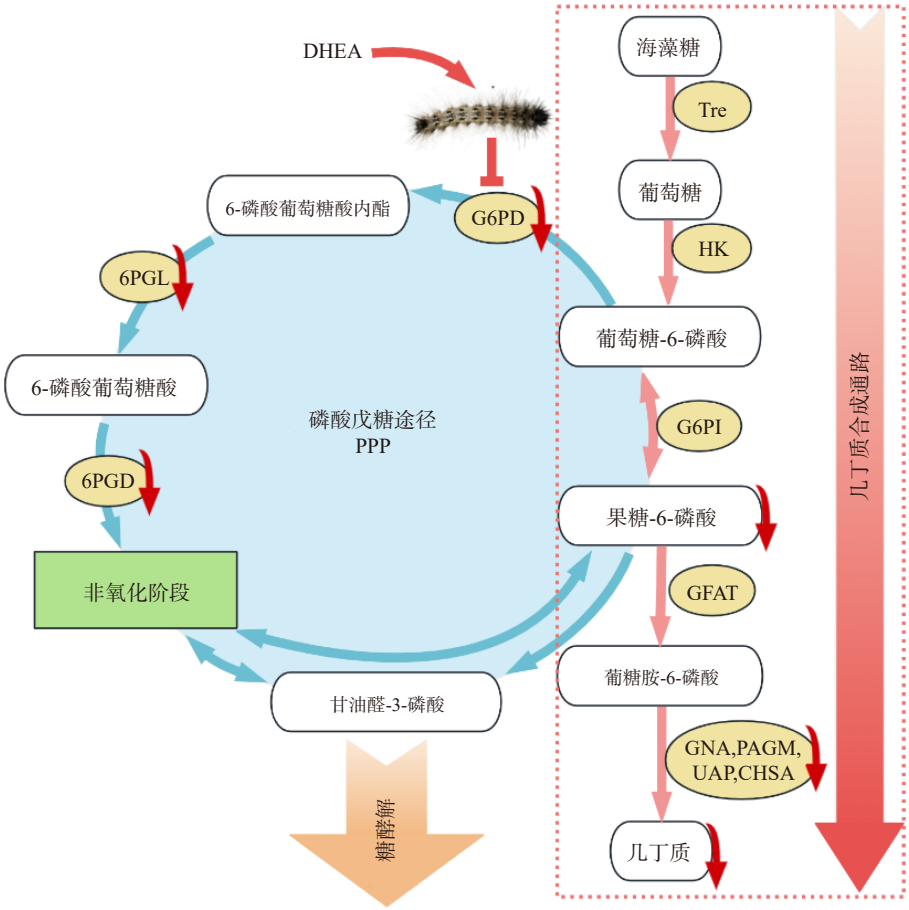


图 8　几丁质合成通路相关基因表达量

Fig. 8　Expression levels of genes related to chitin synthesis pathway

下游转录因子的转录调控[18,46−47]。在果蝇变态过程中,几丁质合成酶的表达分析表明,蜕皮激素在转录水平上调控 DmeChSB 和 DmeChSA 的表达[48]。同样,在甜菜夜蛾(*Spodoptera exigua*)中,20E 通过诱导下游转录因子在调控几丁质通路关键基因 *Tre*-1、*G6PI*、*UAP* 和 *CHSB* 的表达[49]。Zhao 等[50]发现,20E 诱导的转录因子 LmHR3 对东亚飞蝗(*Locusta migratoria*)几丁质合成通路基因 *LmUAP*1 和 *LmCHS*1 转录水平具有调控作用。此外,20E 诱导的转录因子 E74 和 Br-C 先后被证实能够调控几丁质



左侧为糖代谢的 PPP 途径，其氧化阶段以 G6P 为起点，在 G6PD 催化下生成 6-磷酸葡糖酸内酯，随后在 6PGL 作用下转化为 6-磷酸葡萄糖酸，再经 6PGD 作用生成 5-磷酸核酮糖，进入非氧化阶段后最终生成 F6P 与 G3P。右侧虚线方框为几丁质合成通路，起始于海藻糖，在海藻糖酶(Tre)作用下生成葡萄糖；接着，葡萄糖在己糖激酶(HK)催化下转化为 G6P。G6P 经葡萄糖-6-磷酸异构酶(G6PI)转化为果糖-6 磷酸(F6P)，再经 GFAT 作用生成葡糖胺-6-磷酸。最后，经过葡萄糖胺-6-磷酸-N-乙酰转移酶(GNA)、磷酸乙酰氨基葡萄糖变位酶(PAGM)、UDP-N-乙酰葡糖胺焦磷酸化酶(UAP)以及几丁质合成酶 A(CHSA)等一系列酶的催化，最终生成几丁质。

图 9　DHEA 对美国白蛾幼虫 PPP 和几丁质合成的作用机制图

Fig. 9　Mechanism diagram of DHEA on PPP and chitin synthesis in *H. cunea* larvae

合成通路基因的表达[51−52]。然而，关于 20E 信号及其诱导下游转录因子调控几丁质合成通路基因确切的分子机制目前尚不清楚。在本研究中，DHEA 处理显著抑制了几丁质合成通路基因的表达(图 8)。这可能由于 DHEA 抑制 PPP，导致几丁质合成通路中间底物(F6P)的减少，而直接抑制了 F6P 下游几丁质合成通路基因 *HcGNA*、*HcPAGM*、*HcUAP* 和 *HcCHSA* 的表达。另一方面，DHEA 可能通过抑制 20E 的合成或减弱 20E 信号，间接抑制几丁质合成通路基因的表达，最终导致几丁质合成被抑制。然而，DHEA 对 20E 信号通路及几丁质的生物合成的调控机制仍需进一步研究。同时，PPP 信号通路的基因是否直接调控几丁质合成通路也是值得深入探讨的问题。

综上所述，本文首先探究了 PPP 抑制剂 DHEA 对美国白蛾幼虫生长发育、G6PD 活性的影响；在此基础上，重点分析了 PPP 的抑制对美国白蛾幼虫几丁质合成的影响机制。研究结果为进一步解析糖代谢与昆虫几丁质合成间的调控机制提供基础数据，为昆虫生长调节剂类杀虫剂新靶标的筛选提供新思路。

参　考　文　献

[1] Gansemer E R, McCommis K S, Martino M, et al. NADPH and glutathione redox link TCA cycle activity to endoplasmic reticulum homeostasis[J]. iScience, 2020, 23(5): 101116.

[2] Teslaa T, Ralser M, Fan J, et al. The pentose phosphate pathway in health and disease[J]. Nature Metabolism, 2023, 5(8): 1275−1289.

[3] Ge T, Yang J, Zhou S, et al. The role of the pentose phosphate pathway in diabetes and cancer[J]. Frontiers in Endocrinology, 2020, 11: 365.

[4] Patra K C, Hay N. The pentose phosphate pathway and cancer[J]. Trends in Biochemical Sciences, 2014, 39(8): 347−354.

[5] Tang B L. Glucose, glycolysis, and neurodegenerative diseases[J]. Journal of Cellular Physiology, 2020, 235(11): 7653−7662.

[6] Ceddia R B, Bikopoulos G J, Hilliker A J, et al. Insulin stimulates glucose metabolism via the pentose phosphate pathway in

Drosophila Kc cells[J]. FEBS Letters, 2003, 555(2): 307−310.

[7] Thompson S N. Blood sugar formation from dietary carbohydrate is facilitated by the pentose phosphate pathway in an insect *Manduca sexta* Linnaeus[J]. Biochimica et Biophysica Acta (BBA)-General Subjects, 1999, 1472(3): 565−575.

[8] Dai T M, Qiu J F, Luo C, et al. The circadian clock affects starvation resistance through the pentose phosphate pathway in silkworm, *Bombyx mori*[J]. Insect Science, 2025, 32(1): 55−68.

[9] Kazek M, Chodáková L, Lehr K, et al. Glucose and trehalose metabolism through the cyclic pentose phosphate pathway shapes pathogen resistance and host protection in *Drosophila*[J]. PLoS Biology, 2024, 22(5): e3002299.

[10] Delhaye J, Aletti C, Glaizot O, et al. Exposure of the mosquito vector *Culex pipiens* to the malaria parasite *Plasmodium relictum*: effect of infected blood intake on immune and antioxidant defences, fecundity and survival[J]. Parasites & Vectors, 2016, 9(1): 616.

[11] Ghaini M U, Yang Z, Feng T, et al. Comprehensive review on glucose 6 phosphate dehydrogenase: a critical immunometabolic and redox switch in insects[J]. International Journal of Biological Macromolecules, 2024, 273: 132867.

[12] Xiao R, Yuan Y, Zhu F, et al. Transcriptomics and proteomics-based analysis of heterosis on main economic traits of silkworm, *Bombyx mori*[J]. Journal of Proteomics, 2020, 229: 103941.

[13] Zhang Y F, Yuan L L, Wang Z C, et al. DHEA down-regulates mitochondrial dynamics and promotes apoptosis of lung adenocarcinoma cells through FASTKD2[J]. Journal of Cancer, 2024, 15(8): 2110−2122.

[14] Handala L, Domange B, Ouled-Haddou H, et al. DHEA prevents ribavirin-induced anemia via inhibition of glucose-6-phosphate dehydrogenase[J]. Antiviral Research, 2017, 146: 153−160.

[15] Frolova A I, O'Neill K, Moley K H. Dehydroepiandrosterone inhibits glucose flux through the pentose phosphate pathway in human and mouse endometrial stromal cells, preventing decidualization and implantation[J]. Molecular Endocrinology, 2011, 25(8): 1444−1455.

[16] 陈宏, 王素平, 王佳薇, 等. 脱氢表雄酮通过抑制巨噬细胞戊糖磷酸途径促进糖尿病创面愈合 [J]. 免疫学杂志, 2024, 40(6): 503−508.
Chen H, Wang S P, Wang J W, et al. Dehydroepiandrosterone promotes diabetic wound healing by inhibiting the pentose phosphate pathway in macrophages[J]. Immunology Journal, 2024, 40(6): 503−508.

[17] Nenezic N, Kostic S, Strac D S, et al. Dehydroepiandrosterone (DHEA): pharmacological effects and potential therapeutic application[J]. Mini Reviews in Medicinal Chemistry, 2023, 23(8): 941−952.

[18] Ochi R A, Chettimada S, Kizub I, et al. Pharmacological inhibition of glucose-6-phosphate dehydrogenase produces inhibition of L-type calcium channel current in arterial smooth muscle cells[J]. The FASEB Journal 2019, 33(Suppl. 1): 827.1.

[19] Merzendorfer H, Zimoch L. Chitin metabolism in insects: structure, function and regulation of chitin synthases and chitinases[J]. Journal of Experimental Biology, 2003, 206(24): 4393−4412.

[20] Yang S, Zou Z, Xin T, et al. Knockdown of hexokinase in *Diaphorina citri* Kuwayama (Hemiptera: Liviidae) by RNAi inhibits chitin synthesis and leads to abnormal phenotypes[J]. Pest Management Science, 2022, 78(10): 4303−4313.

[21] Pan B Y, Liu Y K, Wu H K, et al. Role of phosphoglucomutase in regulating trehalose metabolism in *Nilaparvata lugens*[J]. 3 Biotech, 2020, 10(2): 61.

[22] Zou H, Zhang B, Zou C, et al. Knockdown of GFAT disrupts chitin synthesis in *Hyphantria cunea* larvae[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2022, 188: 105245.

[23] Qiu Q, Zou H, Jing T, et al. 3-Bromopyruvate-induced glycolysis inhibition impacts larval growth and development and carbohydrate homeostasis in fall webworm, *Hyphantria cunea* Drury[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2021, 179: 104961.

[24] Zhang S, Zhang Y, Zou H, et al. FDP-Na-induced enhancement of glycolysis impacts larval growth and development and chitin biosynthesis in fall webworm, *Hyphantria cunea* (Lepidoptera: Arctiidae)[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2023, 195: 105560.

[25] 韩辉林. 中国东北目夜蛾科 (部分)、尾夜蛾科、瘤蛾科和夜蛾科 (鳞翅目) 分类学研究进展 [J]. 环境昆虫学报, 2019, 41(6): 1181−1195.
Han H L. Research progress on the taxonomy of Noctuidae (part), Euteliidae, Nolidae, and Noctuidae (Lepidoptera) in Northeast China[J]. Journal of Environmental Entomology, 2019, 41(6): 1181−1195.

[26] 刘海军, 骆有庆, 温俊宝, 等. 北京地区红脂大小蠹、美国白蛾和锈色粒肩天牛风险评价 [J]. 北京林业大学学报, 2005, 27(2): 81−87.
Liu H J, Luo Y Q, Wen J B, et al. Pest risk assessment of *Dendroctonus valens*, *Hyphantria cunea* and *Apriona swainsoni* in Beijing area[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2005, 27(2): 81−87.

[27] 赵铁珍, 高岚, 柯水发, 等. 美国白蛾入侵损失评估指标体系的构建 [J]. 北京林业大学学报, 2007, 29(2): 156−160.
Zhao T Z, Gao L, Ke S F, et al. Construction of the evaluation index system for the invasion losses caused by the fall webworm (*Hyphantria cunea*)[J]. Journal of Beijing Forestry University, 2007, 29(2): 156−160.

[28] 邹航. 外源胁迫调控美国白蛾几丁质合成机制及其合成信号通路基因功能分析 [D]. 哈尔滨: 东北林业大学, 2023.
Zou H. Analysis of the mechanism of exogenous stress regulating chitin synthesis in *Hyphantria cunea* and the functional analysis of genes in its chitin synthesis signaling pathway[D]. Harbin: Northeast Forestry University, 2023.

[29] Livak K J, Schmittgen T D. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$method[J]. Methods, 2001, 25: 402−408.

[30] Petshow S, Wehrli M. Preparation of precisely oriented cryosections of undistorted drosophila wing imaginal discs for high resolution confocal imaging[J]. Bio-Protocol, 2018, 8(3): e2725.

[31] Zhang G, Zou H, Geng N, et al. Fenoxycarb and methoxyfenozide (RH-2485) affected development and chitin synthesis through disturbing glycometabolism in *Lymantria dispar* larvae[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2020, 163: 64−75.

[32] 孙焕然, 张琦军, 山长亮. 靶向氧化磷酸戊糖途径代谢酶小分子抑制剂的研究进展 [J]. 药学进展, 2024, 48(12): 908−916.
Sun H R, Zhang Q J, Shan C L. Research progress on small molecule inhibitors targeting oxidative pentose phosphate pathway metabolic enzymes[J]. Progress in Pharmaceutical Sciences, 2024, 48(12): 908−916.

[33] Mele L, Paino F, Papaccio F, et al. A new inhibitor of glucose-6-phosphate dehydrogenase blocks pentose phosphate pathway and suppresses malignant proliferation and metastasis in vivo[J]. Cell Death & Disease, 2018, 9(5): 572.

[34] Xue J, Balamurugan S, Li D W, et al. Glucose-6-phosphate dehydrogenase as a target for highly efficient fatty acid biosynthesis in microalgae by enhancing NADPH supply[J]. Metabolic Engineering, 2017, 41: 212−221.

[35] Simcox J, Lamming D W. The central moTOR of metabolism[J]. Developmental Cell, 2022, 57(6): 691−706.

[36] Schmelzle T, Hall M N. TOR, a central controller of cell growth[J]. Cell, 2000, 103(2): 253−262.

[37] Mao Z, Tan Y, Tao J, et al. mTORC1 activation induced proximal tubular damage via the pentose phosphate pathway in lupus nephritis[J]. Free Radical Biology and Medicine, 2022, 189: 91−101.

[38] Toshniwal A G, Gupta S, Mandal L, et al. ROS inhibits cell growth by regulating 4EBP and S6K, independent of TOR, during development [J]. Developmental Cell, 2019, 49 (3): 473−489.

[39] Song Z, Tang L, Liu Z, et al. Low GSK3β activity is required for insect diapause through responding to ROS/AKT signaling and down-regulation of Smad1/EcR/HR3 cascade[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2023, 154: 103909.

[40] Liu X J, Sun Y W, Li D Q, et al. Identification of LmUAP1 as a 20-hydroxyecdysone response gene in the chitin biosynthesis pathway from the migratory locust, *Locusta migratoria*[J]. Insect Science, 2018, 25(2): 211−221.

[41] Gwóźdź T, Dutko-Gwóźdź J, Nieva C, et al. EcR and Usp, components of the ecdysteroid nuclear receptor complex, exhibit differential distribution of molecular determinants directing subcellular trafficking[J]. Cellular Signalling, 2007, 19(3): 490−503.

[42] Tang B, Wang S, Wang S G, et al. Invertebrate trehalose-6-phosphate synthase gene: genetic architecture, biochemistry, physiological function, and potential applications[J]. Frontiers in Physiology, 2018, 9: 30.

[43] Chen J X, Lyu Z H, Wang C Y, et al. RNA interference of a trehalose-6-phosphate synthase gene reveals its roles in the biosynthesis of chitin and lipids in *Heortia vitessoides* (Lepidoptera: Crambidae)[J]. Insect Science, 2020, 27(2): 212−223.

[44] 史继峰. 马铃薯甲虫 (*Leptinotarsa decemlineata*) 海藻糖代谢和几丁质合成相关基因的克隆与功能分析 [D]. 南京: 南京农业大学, 2016.
Shi J F. Cloning and functional analysis of genes related to trehalose metabolism and chitin synthesis in the colorado potato beetle (*Leptinotarsa decemlineata*)[D]. Nanjing: Nanjing Agricultural University, 2016.

[45] Kato N, Mueller C R, Fuchs J F, et al. Regulatory mechanisms of chitin biosynthesis and roles of chitin in peritrophic matrix formation in the midgut of adult *Aedes aegypti*[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2006, 36(1): 1−9.

[46] Zhu K Y, Merzendorfer H, Zhang W, et al. Biosynthesis, turnover, and functions of chitin in insects[J]. Annual Review of Entomology, 2016, 61: 177−196.

[47] Yu A, Beck M, Merzendorfer H, et al. Advances in understanding insect chitin biosynthesis[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2024, 164: 104058.

[48] Gagou M E, Kapsetaki M, Turberg A, et al. Stage-specific expression of the chitin synthase DmeChSA and DmeChSB genes during the onset of *Drosophila metamorphosis*[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2002, 32(2): 141−146.

[49] Yao Q, Zhang D, Tang B, et al. Identification of 20-hydroxyecdysone late-response genes in the chitin biosynthesis pathway[J]. PLoS One, 2010, 5(11): e14058.

[50] Zhao X, Qin Z, Liu W, et al. Nuclear receptor HR3 controls locust molt by regulating chitin synthesis and degradation genes of *Locusta migratoria*[J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2018, 92: 1−11.

[51] Ding N, Wang Z, Geng N, et al. Silencing Br-C impairs larval development and chitin synthesis in *Lymantria dispar* larvae[J]. Journal of Insect Physiology, 2020, 122: 104041.

[52] Zhang B, Yao B, Li X, et al. E74 knockdown represses larval development and chitin synthesis in *Hyphantria cunea*[J]. Pesticide Biochemistry and Physiology, 2022, 187: 105216.

（责任编辑　范　娟
责任编委　张星耀）