甜菜夜蛾*Hop*基因的鉴定及其在抵御囊泡病毒HvAV-3h侵染过程中的免疫调控作用

肖 婷 肖正坤 林 威 黄国华*

（湖南农业大学植物保护学院，植物病虫害生物学与防控湖南省重点实验室，长沙 410128）

摘要：为探究甜菜夜蛾*Spodoptera exigua*中Janus络氨酸激酶跳房子（Hopscotch，Hop）基因在先天免疫应答中的功能及其在抵御囊泡病毒HvAV-3h侵染过程中的作用，基于甜菜夜蛾转录组数据鉴定获得*SeHop*基因，对其序列特征、系统进化及保守结构域进行分析；利用实时荧光定量PCR检测HvAV-3h侵染不同时间下*SeHop*的表达模式；进一步分析干扰该基因且HvAV-3h侵染对甜菜夜蛾脂肪体细胞凋亡、线粒体膜电位及活性氧水平的影响。结果显示：甜菜夜蛾*SeHop*编码1 114个氨基酸，具有典型的Hop家族结构域，与近缘种具有高度相似性。HvAV-3h侵染早期（0~24 h），甜菜夜蛾体内*SeHop*基因表达显著上调，其中侵染后2 h内表达变化最大。沉默*SeHop*基因48 h且HvAV-3h侵染2 h后，甜菜夜蛾脂肪体细胞的凋亡程度较对照显著增强，线粒体膜电位较对照显著降低，活性氧大量积累。表明*SeHop*基因作为Janus激酶−信号转导子与转录激活子信号（Janus kinase-signal transducers and activators of transcription，JAK-STAT）通路关键组分，在甜菜夜蛾抵御HvAV-3h侵染的早期免疫应答中发挥着重要作用，其机制涉及调控细胞凋亡与氧化应激过程。

关键词：甜菜夜蛾；*Hop*基因；JAK-STAT信号通路；囊泡病毒；RNA干扰；细胞凋亡

Identification of the *Hop* gene in beet armyworm *Spodoptera exigua* and its immunoregulatory role in response to Heliothis virescens ascovirus 3h (HvAV-3h) infection

Xiao Ting Xiao Zhengkun Lin Wei Huang Guohua*

（Hunan Province Key Laboratory for Biology and Control of Plant Diseases and Insect Pests, College of Plant Protection, Hunan Agricultural University, Changsha 410128, Hunan Province, China）

Abstract: To investigate the function of the Janus tyrosine kinase *Hopscotch* (*Hop*) gene in the innate immune response of beet armyworm *Spodoptera exigua* and its role resistance to ascovirus HvAV-3h infection, the *SeHop* gene was identified based on transcriptome data from *S. exigua,* and its sequence characteristics, phylogenetic relationships, and conserved domains were analyzed. Real-time quantitative PCR was used to detect the expression pattern of *SeHop* at different time points after HvAV-3h infection. Furthermore, the effects of *SeHop* gene silencing combined with HvAV-3h infection on apoptosis, mitochondrial membrane potential, and reactive oxygen species (ROS) levels in fat body cells of *S. exigua* were analyzed. The results showed that *S. exigua SeHop* encodes 1 114 amino acids and contains typical Hop family domains, exhibiting high conservation with closely related species. During the early stage of HvAV-3h infection (0−24 h), *SeHop* gene expression in *S. exigua* was significantly

基金项目：国家自然科学基金项目（31872027），国家现代农业产业技术体系建设专项（CARS-23-C08）

* 通信作者（Author for correspondence），E-mail：ghhuang@hunau.edu.cn

收稿日期：2025-11-24

upregulated, with the most dramatic changes occurring within two hours post-infection. After *SeHop* was silenced for 48 h followed by HvAV-3h infection for two hours, apoptosis in fat body cells of *S. exigua* was significantly enhanced compared to the control, mitochondrial membrane potential was significantly reduced, and ROS accumulated substantially. These findings indicate that the *SeHop* gene, as a key component of the Janus kinase-signal transducer and activator of transcription (JAK-STAT) signaling pathway, plays an important role in the early immune response of *S. exigua* against HvAV-3h infection, and its mechanism involves the regulation of apoptosis and oxidative stress.

Key words: *Spodoptera exigua*; *Hop* gene; JAK-STAT signaling pathway; ascovirus; RNA interference; apoptosis

甜菜夜蛾*Spodoptera exigua*属鳞翅目夜蛾科灰翅夜蛾属*Spodoptera*，是一种全球性分布的多食性农业害虫。甜菜夜蛾寄主范围广泛，可为害170余种植物，主要为害十字花科、豆科和旋花科等多种蔬菜（张彬等，2008）。在农业生产中，常采用化学防控手段来防治甜菜夜蛾。长期单一施用化学药剂，不仅污染环境，而且导致甜菜夜蛾的抗药性增加。近年来，甜菜夜蛾对氯虫苯甲酰胺、茚虫威、甲氧虫酰肼、多杀霉素等常用药剂的抗性逐年攀升，传统化学防控手段面临严峻挑战（张帅，2021）。依托昆虫免疫系统调控机制研发新型绿色生物防治策略，已成为害虫防控领域的研究热点，然而深入探究甜菜夜蛾先天免疫调控机制，对于研发高效生物防控技术具有重要意义。

Janus激酶–信号转导子与转录激活子（Janus kinase-signal transducers and activators of transcription，JAK-STAT）途径是高度保守的信号通路，广泛参与造血、脂肪形成、组织修复、细胞增殖和凋亡等过程（Aaronson & Horvath，2002；Owen et al.，2019）。典型的JAK-STAT通路是由多肽配体与特定跨膜受体的胞外结合来激活。当外界病原微生物因子进入体内后，与受体因子相结合，随后激活JAK，催化细胞因子受体上的酪氨酸残基磷酸化，进而磷酸化STAT蛋白，形成同源或异源二聚体，二聚体进入核内后调节靶基因转录（Darnell et al.，1994；Li，2008）。JAK分子量约120~140 kD，是一种非受体型蛋白酪氨酸激酶，其C端含有常规激酶区和由激酶结构域（Janus homology 1，JH1）和假激酶结构域（Janus homology 2，JH2）组成的催化相关区域，N端并不完整，包括FERM和SH2结构域（韦湘怡等，2023）。目前家族共有JAK1、JAK2、JAK3和Tyk2四个成员（宋舟等，2012）。在昆虫中，JAK-STAT信号通路首先在果蝇中被发现。果蝇中JAK-STAT信号通路主要由转录因子STAT92E（Hou et al.，1996；Yan et al.，1996）、Janus酪氨酸激酶（hopscotch，Hop）（Perrimon & Mahowald，1986）、细胞因子受体Dome（Brown et al.，2001）和3个Upd配体组成。果蝇中Hop蛋白是哺乳动物中JAK2蛋白的同源蛋白，两者在JH1和JH2上高度保守（Luo et al.，1997）。*Hop*基因在病毒侵染中具有重要作用。例如，*Hop*突变体对果蝇C病毒（Drosophila C virus，DCV）的易感性较野生型果蝇显著增强（Dostert et al.，2005）；过表达*Hop*可激活埃及伊蚊*Aedes aegypti*脂肪体中JAK-STAT通路，从而有效抑制登革热病毒（Dengue virus，DENV）繁殖（Souza-Neto et al.，2009）；家蚕*Bombyx mori*中*BmHop*的表达与其对家蚕核型多角体病毒（Bombyx mori nucleopolyhedrovirus，BmNPV）的抗性密切相关（Wu et al.，2010）。目前在家蚕中已经发现*BmHop*、*BmSTAT*、*BmSOCS2*、*BmSOCS5*、*BmSOCS6*、*BmDRK*和*BmKen*等多个JAK-STAT信号通路相关基因（彭景琨等，2012）。*BmSTAT*对不同类型病毒的免疫反应存在差异。例如，DNA病毒BmNPV和家蚕浓核病毒（Bombyx mori bidensovirus，BmBDV）侵染后能激活家蚕体内JAK-STAT通路，而RNA病毒家蚕质型多角体病毒（Bombyx mori cytoplasmic polyhedrosis virus，BmCPV）侵染不能激活该信号通路（Liu et al.，2015）。然而JAK-STAT通路在鳞翅目害虫甜菜夜蛾抵抗病毒免疫应答中的具体作用尚不明确。

囊泡病毒是一类具有大型双链DNA基因组的昆虫特异性病毒，主要侵染鳞翅目幼虫，尤其对夜蛾科害虫有高致病性（Federici & Govindarajan，1990；Asgari et al.，2017）。囊泡病毒主要侵染宿主的脂肪体和血细胞，将宿主细胞的脂质包涵体作为病毒粒子合成、组装和储存的场所（Bideshi et al.，2005；Bodláková et al.，2018；Zaghloul et al.，2020）。Huang et al.（2012）首次在中国分离鉴定了烟蚜夜蛾囊泡病毒3h株（Heliothis virescens ascovirus 3h，

HvAV-3h)，该病毒能显著抑制甜菜夜蛾、草地贪夜蛾*Spodoptera frugiperda*等鳞翅目夜蛾科宿主的生长发育，延长其幼虫期(Li et al.，2013；刘航等，2020)。Yu et al.(2023)研究表明HvAV-3h并不诱发典型的细胞凋亡，而是通过坏死或焦亡等调控细胞死亡方式来促进病毒囊泡的形成与释放。Yu et al.(2018)通过转录组分析进一步揭示HvAV-3h侵染会广泛激活宿主代谢、免疫及发育相关通路，尤其在侵染后期会显著影响昆虫脂代谢和激素合成途径。Zaghloul et al.(2025)结果也显示Toll信号通路、免疫缺陷通路和JAK-STAT通路的激活在抵御囊泡病毒入侵、启动先天免疫应答方面发挥着关键作用，而*Hop*基因作为JAK-STAT通路的核心信号分子，可通过介导下游免疫效应基因的表达参与防御病毒。尽管目前对囊泡病毒的致病特征和宿主免疫应答已有初步认知，但*Hop*基因在甜菜夜蛾体内调控囊泡病毒侵染过程中的具体作用及分子机制尚不明确。

鉴于*Hop*基因在免疫信号传导中的核心地位，本研究基于甜菜夜蛾转录组数据鉴定甜菜夜蛾*SeHop*基因，通过生物信息学方法分析其特征序列、氨基酸结构域和基因结构，观察HvAV-3h侵染不同时间时甜菜夜蛾*SeHop*基因表达水平的变化以及干扰*SeHop*基因后甜菜夜蛾脂肪体细胞凋亡、线粒体膜电位和活性氧(reactive oxygen species，ROS)的变化情况，以期为揭示甜菜夜蛾抵御囊泡病毒的免疫分子机制及优化囊泡病毒生物防治潜能提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料

供试虫源、病毒和细胞：甜菜夜蛾卵购于河南科云生物有限公司，置于温度(27±1) ℃、相对湿度(70±5)%、光周期14 L∶10 D的RHD型人工气候箱中用人工饲料饲喂，连续饲养多代后获得实验种群，取3龄幼虫供试。2012年湖南农业大学病毒研究所从甜菜夜蛾幼虫体内分离获得HvAV-3h(Huang et al.，2012)，在实验室内用甜菜夜蛾幼虫连续回接、扩繁并保存，2017年完成其全基因组测序，本研究所用HvAV-3h病毒液提取自传代保存的感染HvAV-3h的甜菜夜蛾幼虫血淋巴。甜菜夜蛾脂肪体细胞IOZCAS-SpexII-A，由中国科学院动物研究所秦启联教授惠赠，置于27 ℃生化培养箱中培养。

人工饲料：兔粮100 g、小麦胚芽片150 g、高活性干酵母粉10 g、琼脂粉30 g，加水定容至1 L，混匀，发酵15 min后于121 ℃、0.1 MPa条件下灭菌120 min，冷却后加入L-抗坏血酸8 g、山梨酸钾1 g、尼泊金3.8 g、大豆油3 mL，于4 ℃冰箱中保存。

细胞培养基：10%胎牛血清(fetal bovine serum，FBS)25 mL、50 μg/mL硫酸链霉素125 μL、100 μg/mL青霉素250 μL，混匀，加入Sf900昆虫培养基补充至250 mL。

试剂：含增强型绿色荧光蛋白(enhanced green fluorescent protein，EGFP)序列的质粒pEGFP-N1，日本TaKaRa公司；FastPure Universal Plant Total RNA Isolation Kit、FastPure Gel DNA Extraction Mini Kit、*Taq* Pro Universal SYBR qPCR Master Mix，南京诺唯赞生物科技股份有限公司；2×Ultra-Rapid HotStart PCR，翌圣生物科技(上海)股份有限公司；Sf900昆虫培养基、RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit，美国Thermo Fisher Scientific公司；T7 RiboMAX™ Express RNAi System，美国Promega公司；Annexin V-APC/PI双染细胞凋亡检测试剂盒，美国BioLegend公司；EZ细胞转染试剂，和元李记(上海)生物技术有限公司；ROS检测试剂盒、增强型线粒体膜电位检测试剂盒，上海碧云天生物技术股份有限公司；其他试剂均为国产或者进口分析纯。

仪器：DYY-6C型电泳仪、S1000™ PCR仪、DoC™ XPST化学发光系统，美国Bio-Rad公司；Gel Logic 212凝胶成像系统，美国Kodak公司；DxP Athena™流式细胞仪，美国Cytek Biosciences公司；Axio Vert A1倒置荧光显微镜，德国Carl Zeiss公司；NanoDrop 2000超微量分光光度计，美国Thermo Fisher Scientific公司。

1.2 方法

1.2.1 甜菜夜蛾*SeHop*基因生物信息学分析

利用Tbtools软件将甜菜夜蛾转录组数据(NCBI登录号为LR824621.2)与斜纹夜蛾*Spodoptera litura*的*SeHop*基因编码的氨基酸序列(NCBI登录号为XM-022975404.1)进行比对检索，得到甜菜夜蛾SeHop核苷酸序列和氨基酸序列。采用BioXM 2.7.1软件对甜菜夜蛾*SeHop*基因编码的蛋白进行理化性质分析。利用NCBI网站BLAST在线分析软件(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/blast)进行同源性比对，下载同源性较高的其他昆虫*Hop*基因编码的氨基酸序列。利用CD Search软件(http://www.ncbi.nlm.nih.gov/Structure/cdd/wrpsb.cgi)对甜菜夜蛾*SeHop*基因的氨基酸序列及其同源性较高的其他20种昆虫*SeHop*基因的氨基酸序列进行保守结构域预测。使用ClustalW 2.0软件将甜菜夜蛾

*SeHop*基因的氨基酸序列和其他20种昆虫*Hop*基因的氨基酸序列进行比对；利用MEGA 11.0软件，采用邻接法构建系统发育树，Bootstrap值设为1 000。

1.2.2　HvAV-3h的体内扩繁及细胞感染液制备

参照Huang et al.（2017）方法对囊泡病毒进行接种与扩繁。用无菌昆虫针蘸取含HvAV-3h病毒粒子的血淋巴，针刺至蜕皮12 h内的甜菜夜蛾3龄幼虫腹足，将试虫置于24孔养虫盒中用人工饲料饲养，每盒1头，每两天观察1次并更换新鲜饲料。接种7 d后取出幼虫，置于75%乙醇中消毒10 min，室温晾干，用解剖剪剪下幼虫腹足，将流出的血淋巴收集并置于1.5 mL灭菌离心管中，置于超声破碎机中，功率20 W，以破碎3 s、间隔3 s的循环模式处理1 min。获得含HvAV-3h的血淋巴匀浆液，于−80 ℃保存备用。试验时取250 μL血淋巴匀浆液，添加10% FBS 25 mL、50 μg/mL硫酸链霉素125 μL、100 μg/mL青霉素250 μL，Sf900昆虫培养基补足至250 mL，混匀后经孔径0.22 μm的一次性针头式过滤器过滤，获得含HvAV-3h的细胞培养基。取未接种HvAV-3h的健康甜菜夜蛾3龄幼虫血淋巴，按上述步骤进行超声处理、稀释、过滤及添加抗生素和FBS，获得不含病毒的细胞培养基。

1.2.3　HvAV-3h侵染后甜菜夜蛾*SeHop*的表达分析

自生化培养箱中取出生长至80%~90%汇合度的甜菜夜蛾脂肪体细胞IOZCAS-SpexII-A，加入含HvAV-3h的细胞培养基1 mL，以加入等量不含病毒的细胞培养基为Mock，接种后置于生化培养箱中培养，1 h后吸去含病毒粒子的细胞培养基，此时记为HvAV-3h侵染后0 h；分别于侵染后0、0.25、0.5、1、2、4、8、24、48、72、120和168 h收集甜菜夜蛾脂肪体细胞样品，按照FastPure Universal Plant Total RNA Isolation Kit说明书提取样品总RNA，按照RevertAid First Strand cDNA Synthesis Kit说明书反转录合成cDNA。采用Primer Premier 6.0软件设计甜菜夜蛾*SeHop*基因的实时荧光定量PCR（real-time quantitative PCR，RT-qPCR）引物q*SeHop*-F（5′-CGGCAGCAATAAGTCCTTAATATCAG-3′）/q*SeHop*-R（5′-CTCTTGTTGCAGCGAATGGATTG-3′）。以cDNA为模板、以*gapdh*为内参基因、以q*SeHop*-F/q*SeHop*-R为引物进行RT-qPCR反应。内参基因*gapdh*引物为q*gapdh*-F（5′-GTCGTGTCATCCGATTTCATT-3′）/q*gapdh*-R（5′-TAGCCAAACTCGTTGAACATACC-3′）。所有引物均委托北京擎科生物科技股份有限公司合成。10 μL反应体系：模板1 μL、*Taq* Pro Universal SYBR qPCR Master Mix 5 μL、10 μmol/L上下游引物各0.5 μL、ddH_2O 3 μL。反应条件：95 ℃预变性30 s；95 ℃变性10 s，55 ℃退火10 s，72 ℃延伸35 s，共35个循环。反应结束后分析荧光值变化曲线和熔解曲线。每个处理的每个时间分别设置3个生物学重复和3个技术重复。根据$2^{-\triangle\triangle CT}$法（Livak & Schmittgen，2001）得到基因相对表达量。

1.2.4　dsRNA的体外合成

根据1.2.1获得的甜菜夜蛾*SeHop*基因全长序列，利用Primer Premier 6.0软件设计dsRNA体外转录引物，并在正、反向引物5′端均添加T7启动子序列（5′-TAATACGACTCACTATAGG-3′），获得用于合成ds*SeHop*的引物T7-ds*SeHop*-F（5′-TAATACGACTCACTATAGGTGACAATCCATTCGCTGACAACA-3′）/T7-ds*SeHop*-R（5′-TAATACGACTCACTATAGGCCGTAGTTACCGCTGCCAAT-3′）。以*EGFP*作为阴性对照，其dsRNA引物为T7-ds*EGFP*-F（5′-TAATACGACTCACTATAGGCCACAAGTTCAGCGTGTCCG-3′）/T7-ds*EGFP*-R（5′-TAATACGACTCACTATAGGCTTCTCGTTGGGGTCTTTGCT-3′）。分别以甜菜夜蛾cDNA和含EGFP序列的质粒pEGFP-N1为模板进行PCR扩增。50 μL反应体系：模板5 μL、2×Ultra-Rapid HotStart PCR (with Dye) 25 μL、10 μmol/L上下游引物各2.5 μL、ddH_2O 15 μL。反应条件：94 ℃预变性3min；94 ℃变性10 s，60 ℃退火20 s，72 ℃延伸10 s，共35个循环；75 ℃终延伸5 min。使用FastPure Gel DNA Extraction Mini Kit回收纯化PCR产物。分别以纯化后PCR产物*SeHop*和*EGFP*为模板，按照T7 RiboMAX™ Express RNAi System说明书进行体外转录，分别合成ds*SeHop*和ds*EGFP*。采用超微量分光光度计测定所得dsRNA的浓度及纯度，使用1%琼脂糖凝胶电泳检测其完整性，于−80 ℃保存备用。

1.2.5　*SeHop*基因干扰效果的测定

按照EZ细胞转染试剂说明书，将ds*SeHop*和ds*EGFP*分别与转染试剂混合，配制成dsRNA-转染试剂复合物。将甜菜夜蛾脂肪体细胞IOZCAS-SpexII-A接种至6孔板中，每孔加入2 mL细胞培养基后置于27 ℃生化培养箱中培养；待细胞汇合度达到80%~90%时，吸去原细胞培养基，每孔加入新鲜细胞培养基1.75 mL，随后分别逐滴加入250 μL ds*SeHop*-转染试剂复合物或ds*EGFP*-转染试剂复合物，8字法轻轻混匀后继续于27 ℃生化培养箱中培养，4 h后吸去转染复合物，加入2 mL细胞培养基，

继续于27 ℃生化培养箱中培养，分别于培养24 h和48 h时收集甜菜夜蛾脂肪体细胞样品，提取样品总RNA，反转录合成cDNA，采用RT-qPCR技术检测*SeHop*基因的相对表达量，方法同1.2.3。

1.2.6 沉默*SeHop*且HvAV-3h侵染后细胞凋亡

根据1.2.5结果，选择转染后48 h作为后续RNA干扰处理时间；根据1.2.3结果，选择侵染2 h作为后续病毒处理时间。将甜菜夜蛾脂肪体细胞IOZCAS-SpexII-A接种至6孔板中，每孔加入2 mL细胞培养基后置于27 ℃生化培养箱中培养；待细胞汇合度达到80%~90%时，吸去原细胞培养基，每孔加入新鲜细胞培养基1.75 mL，随后分别逐滴加入250 μL ds*SeHop*-转染试剂复合物或ds*EGFP*-转染试剂复合物，8字法轻轻混匀后继续于27 ℃生化培养箱中培养48 h，吸去含转染复合物的培养基，此时记为RNA干扰处理48 h。每孔加入2 mL含HvAV-3h的细胞培养基，侵染2 h后收集细胞样品，于4 ℃、500 *g*条件下离心5 min，弃上清液，收集细胞沉淀。用4 ℃预冷磷酸盐缓冲溶液（phosphate buffer saline，PBS）洗涤2次，再用500 μL结合缓冲液重悬，获得甜菜夜蛾脂肪体细胞悬浮液，调节其浓度至1×10^7个/mL。取100 μL置于5 mL流式管中，加入5 μL双染细胞凋亡检测试剂盒中Annexin V-APC染色液，混匀后加入5 μL双染细胞凋亡检测试剂盒中PI染色液，混匀后于室温避光孵育15 min。采用流式细胞仪检测Annexin V-APC和PI的荧光信号，并利用FlowJo软件对流式细胞术检测结果进行分析。以Annexin V-APC荧光信号为横坐标、以PI荧光信号为纵坐标建立双参数散点图，并根据Annexin V-APC和PI染色情况划分为4个象限，从左到右、从上到下依次为Q1~Q4象限。其中，Q1象限为Annexin V-APC$^-$/PI$^+$细胞，表示机械损伤细胞或坏死细胞；Q2象限为Annexin V-APC$^+$/PI$^+$细胞，表示晚期凋亡细胞或继发性坏死细胞；Q3象限为Annexin V-APC$^-$/PI$^-$细胞，表示正常活细胞；Q4象限为Annexin V-APC$^+$/PI$^-$细胞，表示早期凋亡细胞。分别统计各象限细胞所占比例，并以Q4象限早期凋亡细胞比例与Q2象限晚期凋亡细胞比例之和作为细胞凋亡率。

1.2.7 沉默*SeHop*且HvAV-3h侵染后线粒体膜电位测定

为进一步分析甜菜夜蛾脂肪体细胞凋亡情况，1.2.6中干扰48 h且接种含HvAV-3h的细胞培养基2 h后收集甜菜夜蛾脂肪体细胞样品，加入1 mL JC-1染色工作液，充分混匀后于37 ℃孵育20 min。孵育结束后于4 ℃、500 *g*条件下离心5 min，弃上清液，用JC-1染色缓冲液洗涤2次，再加入2 mL细胞培养基重悬，置于倒置荧光显微镜下采用流式细胞仪检测JC-1荧光信号。当细胞线粒体膜电位较低时，JC-1以单体形式存在并发出绿色荧光；当细胞线粒体膜电位较高时，JC-1形成聚集体并发出红色荧光。检测时分别采集JC-1单体的绿色荧光信号和JC-1聚集体的红色荧光信号，其中绿色荧光信号采用FITC通道检测，激发波长为488 nm，发射波长约为530 nm；红色荧光信号采用PE通道检测，激发波长为488 nm，发射波长约为585 nm。采用FlowJo软件分析绿色荧光信号的平均荧光强度$MFI_{绿}$和红色荧光信号的平均荧光强度$MFI_{红}$，计算$MFI_{红}$与$MFI_{绿}$的比值，比值降低表示线粒体膜电位下降。

1.2.8 沉默*SeHop*且HvAV-3h侵染后ROS含量测定

1.2.6中干扰48 h且接种含HvAV-3h的细胞培养基2 h后收集甜菜夜蛾脂肪体细胞样品，于4 ℃、500 *g*条件下离心10 min，收集沉淀；用4 ℃预冷PBS洗涤2次，再用500 μL结合缓冲液重悬细胞，获得甜菜夜蛾脂肪体细胞悬浮液，调节其浓度至1×10^6个/mL。取100 μL甜菜夜蛾脂肪体细胞悬浮液置于5 mL流式管中。按ROS检测试剂盒说明书将2′，7′-二氯二氢荧光素二乙酸酯（2′，7′-dichlorodihydrofluorescein diacetate，DCFH-DA）用PBS按1∶1 000体积比稀释，使DCFH-DA终浓度为10 μmol/L，取100 μL加入到上述流式管中，于37 ℃避光孵育15 min。孵育结束后，采用流式细胞仪检测2′，7′-二氯荧光素（2′，7′-dichlorofluorescein，DCF）荧光强度。DCFH-DA进入细胞后可被细胞内酯酶水解为2′，7′-二氯二氢荧光素（2′，7′-dichlorodihydrofluorescein，DCFH），DCFH被ROS氧化后生成具有绿色荧光的DCF，因此DCF荧光强度可反映细胞内ROS水平。检测时采用FITC通道采集绿色荧光信号，利用FlowJo软件获得不同处理细胞的DCF平均荧光强度。DCF荧光强度越大，细胞内ROS水平越高。

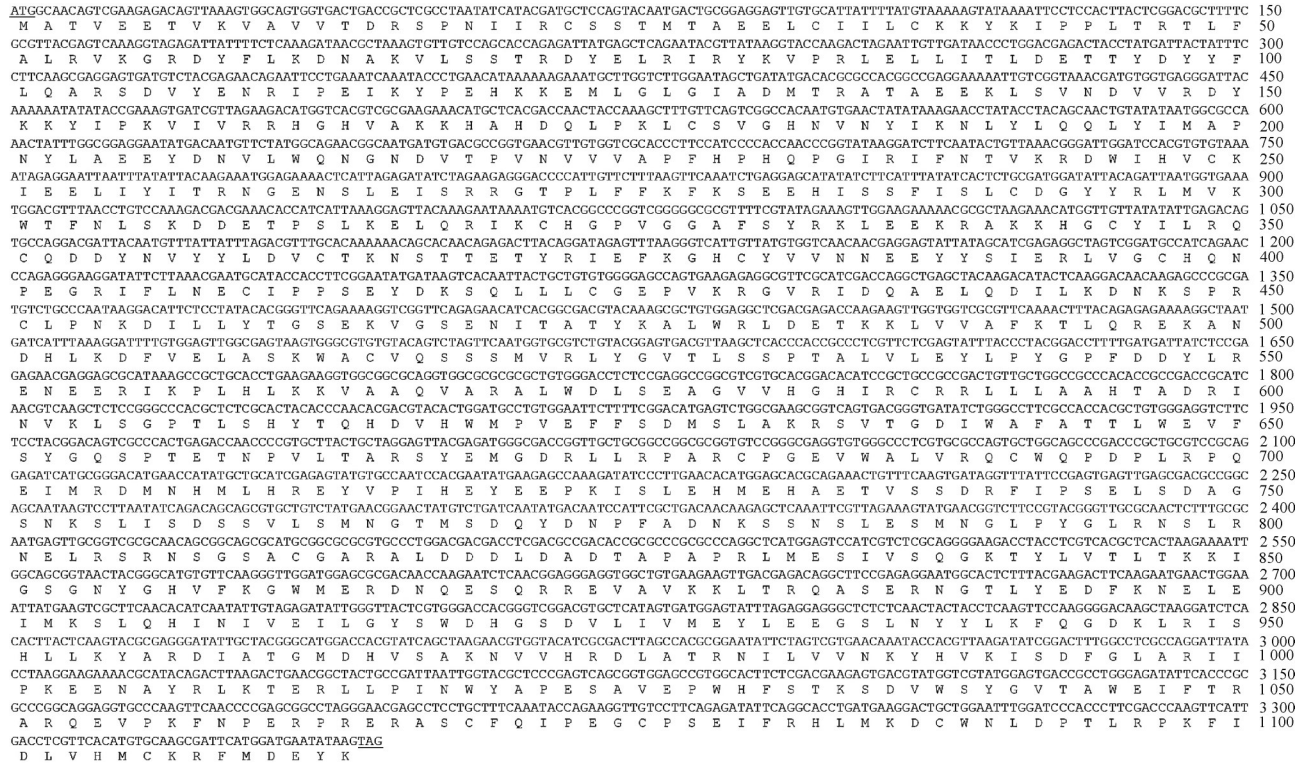
1.3 数据分析

采用Graphpad Prism 8.0软件对试验数据进行统计分析。试验数据采用单因素方差分析，应用*t*检验法进行差异显著性检验。

2 结果与分析

2.1 甜菜夜蛾*SeHop*基因序列及蛋白理化性质分析

甜菜夜蛾*SeHop*基因编码序列全长3 345 bp，氨基酸全长为1 114 aa（图1）。甜菜夜蛾SeHop蛋白分子量为129 kD，等电点为7.97。



ATG：起始密码子；TAG：终止密码子。ATG: Start codon; TAG: stop codon.

图1　甜菜夜蛾*SeHop*基因核苷酸序列和氨基酸序列

Fig. 1　Nucleotide and deduced amino acid sequences of the *SeHop* gene in *Spodoptera exigua*

2.2　甜菜夜蛾SeHop基序分析和蛋白结构分析

保守基序分析结果显示，甜菜夜蛾SeHop蛋白与其他近源物种Hop同源蛋白的基序数量、类型与排布模式完全相同，仅在粉蝶科等远缘类群中出现少量基序的缺失或位置微调。蛋白结构保守性分析结果显示，甜菜夜蛾SeHop蛋白具有Hop家族的蛋白激酶结构域、类催化蛋白激酶超家族、Src同源2结构域、类多形蛋白同源结构域以及4.1蛋白结合结构域等典型蛋白结构域，且从N端至C端的排列顺序、相对长度及位置在不同物种中高度统一。表明甜菜夜蛾SeHop蛋白的进化均表现较强的稳定性。

2.3　甜菜夜蛾SeHop蛋白系统发育分析

甜菜夜蛾SeHop蛋白与草地贪夜蛾及斜纹夜蛾Hop蛋白的亲缘关系最近，与谷实夜蛾*Helicoverpa zea*和棉铃虫*Helicoverpa armigera*的Hop蛋白的亲缘关系次之（图2）。

2.4　HvAV-3h侵染下甜菜夜蛾*SeHop*的时序表达

在HvAV-3h侵染初期（0~2 h），甜菜夜蛾体内*SeHop*基因迅速上调，极显著高于Mock（$P<0.001$）；侵染24 h时，甜菜夜蛾体内*SeHop*的相对表达量仍极显著高于Mock（$P<0.001$），直至侵染48 h时甜菜夜蛾体内*SeHop*的相对表达量才恢复正常水平，与Mock差异不显著（图3）。表明甜菜夜蛾*SeHop*主要在病毒侵染早期激活JAK-STAT通路，进而介导宿主抗病毒免疫应答。因此，后续试验选择病毒侵染2 h时作为关键时间进行研究。

2.5　*SeHop*基因沉默效率检测

干扰24 h和48 h后，甜菜夜蛾脂肪体细胞中*SeHop*基因的相对表达量分别较对照极显著下降74.78%和88.31%（$P<0.001$，图4）。因此，后续试验的干扰时间选为48 h。

2.6　沉默*SeHop*且HvAV-3h侵染后细胞凋亡情况

ds*SeHop*处理且HvAV-3h侵染后，甜菜夜蛾脂肪体细胞的凋亡率为19.04%，显著高于对照（$P<0.01$，图5-A）。表明干扰*SeHop*促进了细胞凋亡。

2.7　沉默*SeHop*且HvAV-3h侵染后线粒体膜电位变化

ds*SeHop*处理且HvAV-3h侵染后，甜菜夜蛾脂肪体细胞线粒体膜电位较对照极显著降低（$P<0.001$，图5-B）。线粒体膜电位下降是细胞凋亡的标志性事件，结合Annexin V-APC/PI双染试验结果的凋亡率升高结果（图5-C），表明*SeHop*沉默增强了HvAV-3h侵染诱导的脂肪体细胞凋亡，并伴随线粒体膜电位丧失。

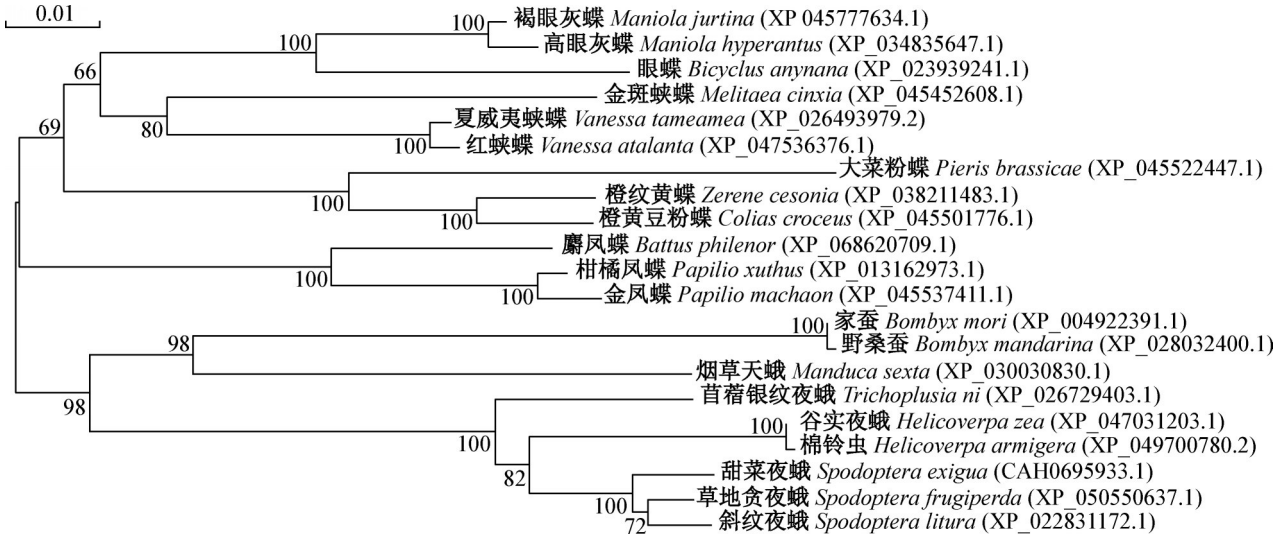


图2 采用邻接法构建甜菜夜蛾SeHop蛋白和其他昆虫Hop蛋白的系统发育树

Fig. 2 Phylogenetic tree of the SeHop protein from *Spodoptera exigua* and Hop proteins from constructed using the neighbor-joining method

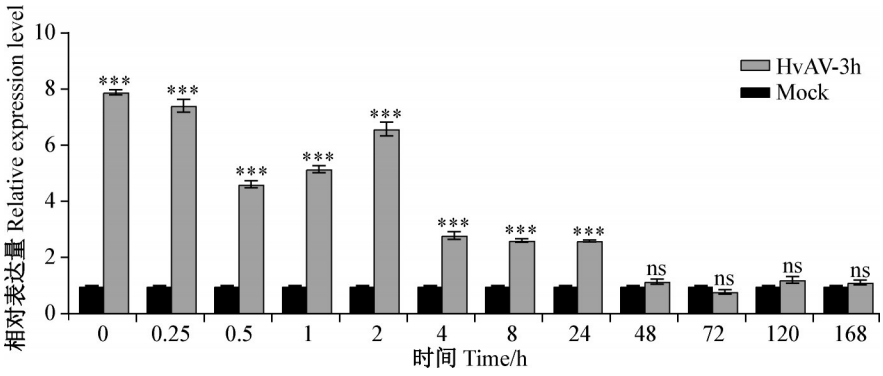


图3 HvAV-3h侵染不同时间下甜菜夜蛾体内*SeHop*基因的相对表达量

Fig. 3 Relative expression levels of the *SeHop* gene in *Spodoptera exigua* at different time points after HvAV-3h infection

图中数据为平均数±标准误。***表示两个处理之间经*t*检验法检验差异极显著（$P<0.001$）；ns表示差异不显著。Data are mean±SD. *** indicates a highly significant difference according to *t* test ($P<0.001$); ns indicates no significant difference.

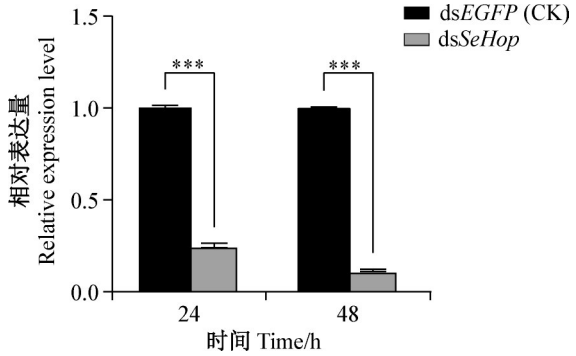


图4 沉默*SeHop*基因后甜菜夜蛾脂肪体细胞中*SeHop*的相对表达量

Fig. 4 Relative expression level of the *SeHop* in fat body cells of *Spodoptera exigua* after *SeHop* silencing

图中数据为平均数±标准误。***表示两个处理之间经*t*检验法检验差异极显著（$P<0.001$）。Data are mean±SD. *** indicates a highly significant difference according to *t* test ($P<0.001$).

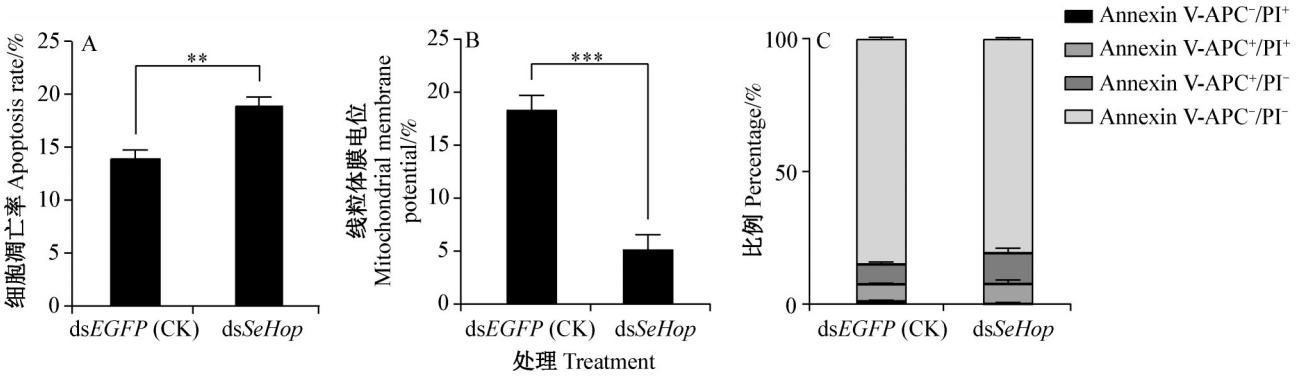
2.8 沉默*SeHop*且HvAV-3h侵染后细胞ROS变化

ds*SeHop*处理且HvAV-3h侵染后，甜菜夜蛾脂肪体细胞中ROS水平极显著高于对照（$P<0.001$），约为对照的7倍（图6）。表明干扰*SeHop*基因功能引发ROS大量积累。

3 讨论

本研究成功鉴定到了1个甜菜夜蛾*Hop*基因，该基因编码的蛋白含有Hop家族特有的蛋白激酶结构域、类催化蛋白激酶超家族、Src同源2结构域、类多形蛋白同源结构域以及4.1蛋白结合结构域，表明该基因隶属于Hop家族。在进化分析方面，甜菜夜蛾SeHop蛋白的氨基酸序列与家蚕、棉铃虫等鳞翅目昆虫的Hop序列具有极高的同源性（梁聪等，2012）。这种高度的保守性表明Hop在不同物种中

可能具有相似的生物学功能，特别是在介导细胞免疫应答和调控细胞凋亡方面发挥着核心传导作用。



Annexin V-APC$^+$/PI$^-$：早期凋亡细胞比例；Annexin V-APC$^+$/PI$^+$：晚期凋亡细胞比例；凋亡率为早期凋亡细胞比例和晚期凋亡细胞比例之和。V-APC$^+$/PI$^-$: Percentage of early apoptotic cell; Annexin V-APC$^+$/PI$^+$: percentage of late apoptotic cell; the apoptosis rate was calculated as the sum of the percentages of early and late apoptotic cells.

图5 沉默*SeHop*且HvAV-3h侵染后甜菜夜蛾脂肪体细胞的凋亡率（A）、线粒体膜电位变化（B）及Annexin V-APC/PI双染试验结果（C）

Fig. 5 Apoptosis rate (A), changes in mitochondrial membrane potential (B), and results of the Annexin V-APC/PI double-staining assay (C) in fat body cells of *Spodoptera exigua* after *SeHop* silencing and HvAV-3h infection

图中数据为平均数±标准误。**、***分别表示两个处理之间经*t*检验法检验差异极显著（P<0.01或P<0.001）。Data are mean±SD. **, *** indicates highly significant differences according to *t* test (P<0.01 or P<0.001).

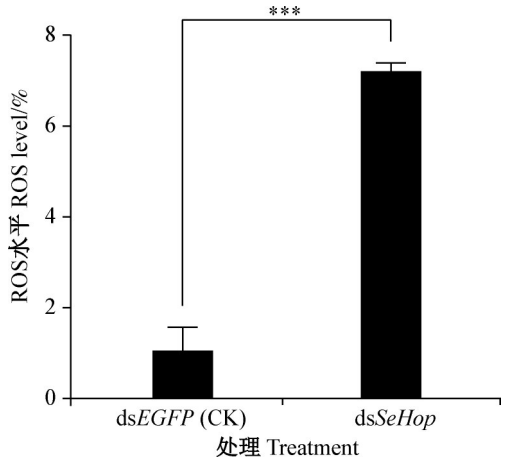


图6 沉默*SeHop*且HvAV-3h侵染后甜菜夜蛾脂肪体细胞中活性氧水平

Fig. 6 Reactive oxygen species (ROS) levels in fat body cells of *Spodoptera exigua* after *SeHop* and HvAV-3h infection

图中数据为平均数±标准误。***表示两个处理之间经*t*检验法检验差异极显著（P<0.001）。Data are mean±SD. *** indicates a highly significant difference according to *t* test (P<0.001).

*Hop*基因作为昆虫JAK-STAT信号通路的核心调控基因，主要通过催化特定氨基酸残基磷酸化，介导JAK-STAT通路的级联激活，进而参与宿主免疫调控进程（Ferrao et al.，2016）。例如，病原微生物侵染时，鳞翅目昆虫体内JAK-STAT通路快速激活，并调控下游免疫相关基因的转录表达，启动宿主抗侵染免疫应答（Liu et al.，2015）；病毒侵染24 h后，果蝇体内*Dome*、*Hop*、*Stat92E*基因均呈显著上调表达趋势（Dostert et al.，2005）；大肠杆菌*Escherichia coli*、金黄色葡萄球菌*Staphylococcus aureus*、酵母菌*Saccharomyces cerevisiae*侵染后，家蚕体内*BmHop*基因显著上调，且在侵染初期的24 h内其表达量显著升高并达到最大值，接着随侵染时间延长逐渐回落（周丽，2023；Su et al.，2024）；BmNPV侵染时，家蚕可通过分泌Vago样蛋白抗病毒因子来激活JAK-STAT通路，进而诱导*Hop*基因上调表达，从而发挥抗病毒免疫作用（魏冬梅，2023）；苜蓿银纹夜蛾核型多角体病毒（Autographa californica multiple nucleopolyhedrovirus，AcMNPV）侵染时，甜菜夜蛾不敏感细胞中*Hop*、*STAT*基因的表达量较敏感细胞显著升高（李洁等，2021）。此外，病毒侵染后JAK-STAT通路的关键负调控基因细胞因子信号抑制因子（suppressor of cytokine signaling，SOCS）基因和活化STAT的转录活性抑制蛋白基因被诱导表达，通过负反馈机制抑制通路过度激活，避免宿主因免疫反应过激而受损伤（Schmidt & Müller，2003；刘芸芸等，2023）。本研究结果显示，HvAV-3h侵染可快速激活甜菜夜蛾体内JAK-STAT通路，进而导致*SeHop*基因转录水平发生显著变化，即病毒侵染初期（0~2 h）

*SeHop*基因表达快速上调，且侵染后24 h内表达量持续高于正常水平，表明*SeHop*基因主要在病毒侵染早期激活JAK-STAT通路，进而介导宿主启动抗病毒免疫应答。

JAK-STAT通路是昆虫先天免疫系统的核心通路，在宿主抵御病毒侵染过程中展现出多样性。病毒侵染后，JAK-STAT通路通过调控抗菌肽等多种免疫相关基因表达来参与对病毒的免疫应答（Kingsolver et al.，2013）。例如，STAT过量可激活抗菌肽基因表达上调，而STAT缺陷则会降低抗菌肽基因的表达水平（Zhou et al.，2024）；抗菌肽Gloverin对BmNPV有抑制作用（Liu & Wang，2023）。JAK/STAT通路通过调控细胞凋亡过程参与杆状病毒侵染及宿主抗病毒反应。例如，干扰家蚕体内*BmSTAT-S*或*BmSTAT-L*基因表达后，当BmNPV侵染家蚕时，细胞的自噬与凋亡水平增加，导致细胞不能正常增殖（梁文娟，2022）。水稻条纹病毒（rice stripe virus，RSV）和水稻黑条矮缩病毒（rice black-streaked dwarf virus，RBSDV）侵染时，灰飞虱*Laodelphax striatellus*体内JAK-STAT通路被激活，诱导细胞因子信号抑制因子家族5（suppressor of cytokine signaling 5，SOCS5）蛋白降解抗凋亡蛋白B细胞淋巴瘤2（B-cell lymphoma 2，BCL2），进而引发细胞凋亡，最终促进病毒的持续侵染（Zhang et al.，2023）。沉默草地贪夜蛾*STAT*基因后，杆状病毒早期基因*ie1*和*ie2*的转录水平显著降低，病毒增殖被抑制；同时病毒抗凋亡基因*p35*的表达下降，草地贪夜蛾细胞凋亡增加（Wang et al.，2022）。病毒侵染通常会诱导ROS产生，引发内质网发生应激反应，进而触发细胞凋亡（Xia et al.，2025）。此外，ROS也是连接病毒感染、细胞凋亡与免疫通路的重要信号分子。例如，无脊椎动物虹彩病毒6（invertebrate iridescent virus 6，IIV6）侵染会触发果蝇产生ROS，激活p38b丝裂原活化蛋白激酶（p38b mitogen-activated protein kinase，MAPK）信号，从而激活JAK-STAT通路，进而导致果蝇建立抗病毒保护（West & Silverman，2018）。本研究结果显示，沉默甜菜夜蛾*SeHop*基因后，JAK-STAT通路被抑制，HvAV-3h侵染时甜菜夜蛾脂肪体细胞凋亡率显著增加，同时线粒体膜电位显著下降，细胞内ROS水平显著上升，导致甜菜夜蛾的抗病毒调控能力受损，表明在抵抗HvAV-3h侵染过程中，JAK-STAT通路不仅可通过调控细胞凋亡维持甜菜夜蛾细胞稳态存活，还能通过调节细胞内ROS稳态平衡参与甜菜夜蛾对氧化应激的应答，从而发挥抗病毒作用。而JAK-STAT通路精准调控细胞凋亡与氧化应激的具体分子机制仍有待后续深入研究。

本研究初步揭示当HvAV-3h侵染甜菜夜蛾时，JAK-STAT通路被迅速激活，参与宿主免疫应答；干扰*SeHop*基因不仅削弱JAK-STAT通路的功能，还导致细胞凋亡增加、线粒体膜电位下降及ROS积累，表明JAK-STAT在抵御囊泡病毒侵染中发挥着关键作用，其可能涉及对细胞凋亡和氧化应激的调控。本研究仅限于细胞水平的现象观察，关于JAK-STAT通路精准调控下游促凋亡或抗氧化基因的分子靶标尚不明确。未来将进一步在昆虫活体水平验证其抗病毒生理功能，并结合转录组学等手段深入解析JAK-STAT通路与ROS信号互作的复杂免疫调控网络。

参 考 文 献（References）

Aaronson DS, Horvath CM. 2002. A road map for those who don't know JAK-STAT. Science, 296(5573): 1653−1655

Asgari S, Bideshi DK, Bigot Y, Federici BA, Cheng XW, Consortium IR. 2017. ICTV virus taxonomy profile: *Ascoviridae*. Journal of General Virology, 98(1): 4−5

Bideshi DK, Tan YP, Bigot Y, Federici BA. 2005. A viral caspase contributes to modified apoptosis for virus transmission. Genes & Development, 19(12): 1416−1421

Bodláková K, Beňová M, Kodrík D. 2018. The effect of adipokinetic hormones on the activity of digestive enzymes. Physiological Entomology, 43(2): 140−148

Brown S, Hu N, Hombría JC. 2001. Identification of the first invertebrate interleukin JAK/STAT receptor, the *Drosophila* gene domeless. Current Biology, 11(21): 1700−1705

Darnell JE Jr., Kerr LM, Stark GR. 1994. Jak-STAT pathways and transcriptional activation in response to IFNs and other extracellular signaling proteins. Science, 264(5164): 1415−1421

Dostert C, Jouanguy E, Irving P, Troxler L, Galiana-Arnoux D, Hetru C, Hoffmann JA, Imler JL. 2005. The Jak-STAT signaling pathway is required but not sufficient for the antiviral response of *Drosophila*. Nature Immunology, 6(9): 946−953

Federici BA, Govindarajan R. 1990. Comparative histopathology of three ascovirus isolates in larval noctuids. Journal of Invertebrate Pathology, 56(3): 300−311

Ferrao R, Wallweber HJA, Ho H, Tam C, Franke Y, Quinn J, Lupardus PJ. 2016. The structural basis for class II cytokine receptor recognition by JAK1. Structure, 24(6): 897−905

Hou XS, Melnick MB, Perrimon N. 1996. Marelle acts downstream of the *Drosophila* Hop/JAK kinase and encodes a protein similar to the mammalian STATs. Cell, 84(3): 411−419

Huang GH, Garretson TA, Cheng XH, Holztrager MS, Li SJ, Wang X, Cheng XW. 2012. Phylogenetic position and replication kinetics

of Heliothis virescens ascovirus 3h (HvAV-3h) isolated from *Spodoptera exigua*. PLoS ONE, 7(7): e40225

Huang GH, Hou DH, Wang ML, Cheng XW, Hu ZH. 2017. Genome analysis of Heliothis virescens ascovirus 3h isolated from China. Virologica Sinica, 32(2): 147−154

Kingsolver MB, Huang ZJ, Hardy RW. 2013. Insect antiviral innate immunity: pathways, effectors, and connections. Journal of Molecular Biology, 425(24): 4921−4936

Li J, Yu QL, Zheng GL, Zhang B, Li CY. 2021. Advance research on antiviral immunity response in lepidopteran insects. Journal of Environmental Entomology, 43(5): 1079−1094 (in Chinese) [李洁, 于乾龙, 郑桂玲, 张彬, 李长友. 2021. 鳞翅目昆虫抗病毒免疫反应的研究进展. 环境昆虫学报, 43(5): 1079−1094]

Li SJ, Wang X, Zhou ZS, Zhu J, Hu J, Zhao YP, Zhou GW, Huang GH. 2013. A comparison of growth and development of three major agricultural insect pests infected with Heliothis virescens ascovirus 3h (HvAV-3h). PLoS ONE, 8(12): e85704

Li WX. 2008. Canonical and non-canonical JAK-STAT signaling. Trends in Cell Biology, 18(11): 545−551

Liang C, Peng JK, Cao GL, Xue RY, Gong CL. 2012. Cloning and sequence analysis of *hop* gene in silkworm, *Bombyx mori*. Jiangsu Agricultural Sciences, 40(1): 10−13 (in Chinese) [梁聪, 彭景琨, 曹广力, 薛仁宇, 贡成良. 2012. 家蚕*hop*基因的克隆及序列分析. 江苏农业科学, 40(1): 10−13]

Liang WJ. 2022. *BmSTAT* participates in the BmNPV infection in *Bombyx mori*. Master thesis. Chongqing: Southwest University (in Chinese) [梁文娟. 2022. *BmSTAT*参与家蚕核型多角体病毒(BmNPV)感染的研究. 硕士学位论文. 重庆: 西南大学]

Liu H, Liao YX, Chen ZM, Zhao LC, Huang GH. 2020. Infection characteristics of Heliothis virescens ascovirus 3h (HvAV-3h) in *Spodoptera frugiperda* larvae and its effects on host growth and development. Journal of Plant Protection, 47(4): 875−883 (in Chinese) [刘航, 廖用信, 陈壮美, 赵琳超, 黄国华. 2020. 烟芽夜蛾囊泡病毒3h株对草地贪夜蛾幼虫的感染特性及对其生长发育的影响. 植物保护学报, 47(4): 875−883]

Liu L, Wang D. 2023. Four antimicrobial peptides of Asian gypsy moth respond to infection of its viral pathogen, nucleopolyhedrovirus (LdMNPV). Pesticide Biochemistry and Physiology, 190: 105335

Liu W, Liu JB, Lu YH, Gong YC, Zhu M, Chen F, Liang Z, Zhu LY, Kuang SL, Hu XL, et al. 2015. Immune signaling pathways activated in response to different pathogenic micro-organisms in *Bombyx mori*. Molecular Immunology, 65(2): 391−397

Liu YY, Xu HX, Li MY, Tang Q, Li GH. 2023. Progress in insect resistance to viral invasion. Acta Microbiologica Sinica, 63(1): 139−155 (in Chinese) [刘芸芸, 许慧鑫, 李名杨, 唐琦, 李国辉. 2023. 昆虫抗病毒侵染的分子机制研究进展. 微生物学报, 63(1): 139−155]

Livak KJ, Schmittgen TD. 2001. Analysis of relative gene expression data using real-time quantitative PCR and the $2^{-\Delta\Delta CT}$ method. Methods, 25(4): 402−408

Luo H, Rose P, Barber D, Hanratty WP, Lee S, Roberts TM, D'Andrea AD, Dearolf CR. 1997. Mutation in the Jak kinase JH2 domain hyperactivates *Drosophila* and mammalian Jak-Stat pathways. Molecular and Cellular Biology, 17(3): 1562−1571

Owen KL, Brockwell NK, Parker BS. 2019. JAK-STAT signaling: a double-edged sword of immune regulation and cancer progression. Cancers, 11(12): 2002

Peng JK, Cao GL, Qian Y, Zhang XL, Ma HY, He L, Xue RY, Gong CL. 2012. Cloning and sequence analysis of JAK/STAT pathway related major genes of silkworm (*Bombyx mori*). Scientia Agricultura Sinica, 45(17): 3592−3601 (in Chinese) [彭景琨, 曹广力, 钱莹, 张晓丽, 马焕艳, 何蕾, 薛仁宇, 贡成良. 2012. 家蚕JAK/STAT信号通路相关基因克隆与分析. 中国农业科学, 45(17): 3592−3601]

Perrimon N, Mahowald AP. 1986. *l(1)hopscotch*, a larval-pupal zygotic lethal with a specific maternal effect on segmentation in *Drosophila*. Developmental Biology, 118(1): 28-41

Schmidt D, Müller S. 2003. PIAS/SUMO: new partners in transcriptional regulation. Cellular and Molecular Life Sciences, 60(12): 2561−2574

Song Z, Zhang LY, Dong HB, Bai HL, Chen W, Wu SC, Yi PF, Fu BD, Shen HQ, Wei XB. 2012. Advances in JAK-STAT signaling pathway. China Animal Husbandry & Veterinary Medicine, 39(6): 128−132 (in Chinese) [宋舟, 张立艳, 董海兵, 白换力, 陈伟, 吴帅成, 伊鹏霏, 付本懂, 申海清, 韦旭斌. 2012. JAK-STAT信号通路研究进展. 中国畜牧兽医, 39(6): 128−132]

Souza-Neto JA, Sim S, Dimopoulos G. 2009. An evolutionary conserved function of the JAK-STAT pathway in anti-dengue defense. Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America, 106(42): 17841−17846

Su YP, Qu QS, Li JL, Han ZH, Fang YJ, Flavorta BL, Jia ZW, Yu Q, Zhang YL, Qian P, et al. 2024. Perilipin1 inhibits *Nosema bombycis* proliferation by promoting *Domeless*- and *Hop*-mediated JAK-STAT pathway activation in *Bombyx mori*. Microbiology Spectrum, 12(6): e03671−e03623

Wang C, Guo XJ, Li YQ, Zhang JZ, Fu YJ. 2022. *miR-34-5p*, encoded by *Spodoptera frugiperda*, participates in anti-baculovirus by regulating innate immunity in the insect host. International Journal of Biological Macromolecules, 222: 2190−2199

Wei DM. 2023. Identification of an antiviral cytokine and characterization of its functions in the silkworm. Master thesis. Chongqing: Southwest University (in Chinese) [魏冬梅. 2023. 家蚕抗病毒细胞因子的筛选鉴定与功能分析. 硕士学位论文. 重庆: 西南大学]

Wei XY, Hu DC, Gao ZP, Feng CJ. 2023. JAK/STAT signaling pathway and its regulation on insect immunity. Hereditas, 45(3): 229−236 (in Chinese) [韦湘怡, 胡冬春, 高祖鹏, 冯从经. 2023. JAK/STAT信号通路及其对昆虫免疫的调控. 遗传, 45(3): 229−236]

West C, Silverman N. 2018. p38b and JAK-STAT signaling protect against invertebrate iridescent virus 6 infection in *Drosophila*. PLoS Pathogens, 14(5): e1007020

Wu S, Zhang XF, Chen XM, Cao PS, Beerntsen BT, Ling EJ. 2010. *BmToll9*, an arthropod conservative Toll, is likely involved in the local gut immune response in the silkworm, *Bombyx mori*. Devel-

opmental & Comparative Immunology, 34(2): 93−96

Xia HC, Zhang C, Guo ZJ, Chen L, Chen KP. 2025. The JAK-STAT pathway in invertebrates: an emerging battleground for host-virus warfare. Insect Science, 1744-7917.70109

Yan RQ, Small S, Desplan C, Dearolf CR, Darnell JE. 1996. Identification of a stat gene that functions in *Drosophila* development. Cell, 84(3): 421−430

Yu H, Li ZQ, He L, Ou-Yang YY, Li N, Huang GH. 2018. Response analysis of host *Spodoptera exigua* larvae to infection by Heliothis virescens ascovirus 3h (HvAV-3h) *via* transcriptome. Scientific Reports, 8: 5367

Yu H, Xiao HY, Li N, Yang CJ, Huang GH. 2023. An ascovirus utilizes different types of host larval regulated cell death mechanisms to produce and release vesicles. Journal of Virology, 97: e01566−e01522

Zaghloul HAH, Hice R, Bideshi DK, Arensburger P, Federici BA. 2020. Mitochondrial and innate immunity transcriptomes from *Spodoptera frugiperda* larvae infected with the Spodoptera frugiperda ascovirus. Journal of Virology, 94(9): e01985−e01919

Zaghloul HAH, Xiao ZK, Tang J, Xiao T, Gao JJ, Hu JJ, Huang GH. 2025. An aegerolysin-like protein from Heliothis virescens ascovirus 3h (HvAV-3h) shows immune suppression and antibacterial activity. Journal of General Virology, 106(5): 002107

Zhang B, Liu H, Wang JJ, Zhou X. 2008. Advance in the research on *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae). Chinese Agricultural Science Bulletin, 24(10): 427−433 (in Chinese) [张彬, 刘怀, 王进军, 周旭. 2008. 甜菜夜蛾研究进展. 中国农学通报, 24(10): 427−433]

Zhang S. 2021. National resistance monitoring report in agricultural pests in 2020 and recommendations on chemical control. China Plant Protection, 41(2): 71−78 (in Chinese) [张帅. 2021. 2020年全国农业有害生物抗药性监测结果及科学用药建议. 中国植保导刊, 41(2): 71−78]

Zhang Y, Li BX, Mao QZ, Zhuo JC, Huang HJ, Lu JB, Zhang CX, Li JM, Chen JP, Lu G. 2023. The JAK-STAT pathway promotes persistent viral infection by activating apoptosis in insect vectors. PLoS Pathogens, 19(3): e1011266

Zhou L. 2023. The function of BmSTAT transcription factor in antibacterial immune response of silkworm, *Bombyx mori*. Master thesis. Chongqing: Southwest University (in Chinese) [周丽. 2023. 转录因子BmSTAT在家蚕抗菌免疫反应中的功能研究. 硕士学位论文. 重庆: 西南大学]

Zhou L, Dang Z, Wang SY, Li SY, Zou Y, Zhao P, Xia QY, Lu ZY. 2024. Transcription factor STAT enhanced antimicrobial activities in *Bombyx mori*. International Journal of Biological Macromolecules, 254: 127637

（责任编辑：张俊芳）