

两种植物次生物对甜菜夜蛾细胞凋亡的影响*

袁 圆^{1,2**} 蒋杰贤^{1,2} 王金彦^{2***}

(1. 上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306;

2. 上海市农业科学院生态环境保护研究所, 上海市设施园艺技术重点实验室, 上海 201403)

摘 要 【目的】明确植物次生代谢物对甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* 细胞凋亡的影响, 探索利用植物次生代谢物防控甜菜夜蛾的潜在途径。【方法】本研究选用含 0.01% 香豆素或 0.01% 槲皮素的人工饲料, 分别饲喂甜菜夜蛾 3 龄初幼虫, 以未添加次生物的人工饲料为对照, 通过流式细胞仪分别在处理后 24、48 和 72 h 测定各处理组幼虫血细胞凋亡率; 采用酶联免疫法测定各处理组幼虫两种半胱天冬酶 (Caspase-1 和 Caspase-5) 和凋亡抑制蛋白 (Inhibitor of apoptosis protein, IAP) 活性; 采用 RT-qPCR 法测定各处理组幼虫血细胞凋亡相关基因的相对表达量。【结果】两种植物次生代谢物和处理时间的交互作用均显著影响甜菜夜蛾幼虫凋亡率、SeCaspase 活性和基因相对表达量 ($P < 0.05$)。与对照组相比, 0.01% 香豆素或 0.01% 槲皮素处理后, 幼虫的凋亡率、SeCaspase-1、SeCaspase-5、SeIAP 活性和基因相对表达量显著升高 ($P < 0.05$)。香豆素处理组幼虫细胞凋亡率显著高于槲皮素处理组。在处理 24 h, 香豆素处理组 SeCaspase 活性和基因相对表达量显著高于槲皮素处理组, 而槲皮素处理组的 SeIAP 基因相对表达量显著高于香豆素处理组 ($P < 0.05$)。【结论】香豆素和槲皮素对甜菜夜蛾细胞凋亡均存在显著的促进作用 ($P < 0.05$), 相同含量的香豆素比槲皮素对甜菜夜蛾细胞凋亡的诱导作用更为显著。

关键词 甜菜夜蛾; 香豆素; 槲皮素; 细胞凋亡; 半胱天冬酶; 凋亡抑制蛋白

Effects of plant secondary metabolites on apoptosis in *Spodoptera exigua*

YUAN Yuan^{1,2**} JIANG Jie-Xian^{1,2} WANG Jin-Yan^{2***}

(1. College of Fisheries and Life Sciences, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China;

2. Institute of Ecological and Environmental Protection, Shanghai Academy of Agricultural Sciences,

Shanghai Key Laboratory of Protected Horticulture Technology, Shanghai 201403, China)

Abstract 【Objectives】To investigate the effects of plant secondary metabolites on apoptosis in *Spodoptera exigua*, and investigate the potential of these compounds to control this pest. 【Methods】Artificial diets containing either 0.01% coumarin or 0.01% quercetin were fed to early 3rd instar *S. exigua* larvae. The control group was fed an artificial diet without plant secondary metabolites. The apoptosis rate of larval cells in each treatment group was determined by flow cytometry 24, 48, and 72 h after treatment. Caspase (Secaspase-1, Secaspase-5) activity and that of the inhibitor of apoptosis protein (IAP) were determined by enzyme-linked immunosorbent assay, and gene expression levels were measured using RT-qPCR. 【Results】The interaction between the two secondary metabolites and time after treatment significantly affected both the apoptosis rate, and the activity and expression of SeCaspase and SeIAP. The apoptosis rate, enzyme activity, and relative gene expression (SeCaspase-1, SeCaspase-5, and SeIAP) of larvae fed artificial diets containing either 0.01% coumarin or 0.01% quercetin were markedly higher than those of the control group, and the apoptosis rate of the coumarin treatment group was significantly higher than that of the quercetin treatment group. After 24 h, the SeCaspase (SeCaspase-1 and SeCaspase-5)

*资助项目 Supported projects: 上海市青年科技英才扬帆计划 (21YF1441100); 国家自然科学基金面上项目 (31672083); 上海市农业科学院卓越团队建设项目 ([农科卓 (2022) 017]; 2018[B-01])

**第一作者 First author, E-mail: zero178032@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: wangjinyan1912@163.com

收稿日期 Received: 2022-07-26; 接受日期 Accepted: 2022-10-12

activity and gene expression level of the coumarin treatment group were significantly higher than those of the quercetin treatment group, and the SeIAP gene expression level of the quercetin treatment group was significantly higher than that of the coumarin treatment group. **[Conclusion]** Although both coumarin and quercetin promote apoptosis in *S. exigua*, the same amount of coumarin induces a higher rate of apoptosis than quercetin.

Key words *Spodoptera exigua*; coumarin; quercetin; apoptosis; caspase; inhibitor of apoptosis protein

植物与植食性昆虫的协同进化过程中,为抵御昆虫为害,植物进化出多种防御和适应机制(Wu *et al.*, 2010; Gong *et al.*, 2020; Chen *et al.*, 2022)。其中,植物次生代谢物作为一种内源性的化学通讯媒介,可以影响昆虫的生长发育、酶活性等多种生理特性,从而保护植物免受昆虫侵害(杨乃博等, 2014; Muhammad, 2019)。例如,芦丁能减缓舞毒蛾 *Lymantria dispar* (Linnaeus) 和美洲棉铃虫 *Helicoverpa zea* (Boddie) 的生长,降低欧洲玉米螟 *Ostrinia nubilalis* (Hübner) 的存活率,显著减轻斜纹夜蛾 *Spodoptera litura* (Hübner) 蛹重,延长其蛹期(潘忠玉, 2020);家蚕 *Bombyx mori* (Linnaeus) 取食含槲皮素的饲料后,其生长发育被显著抑制(张月娥, 2012);取食含花椒毒素、香豆素及槲皮素的人工饲料的斜纹夜蛾幼虫中谷胱甘肽-S-转移酶的活性显著高于对照组(王瑞龙等, 2012)。此外,一些次生代谢物质,如印楝素、烟碱、鱼藤酮等对昆虫还具有直接毒杀作用,可实现对害虫的有效控制(陈澄宇等, 2015)。

为应对植物防御机制,昆虫通过体内的免疫、解毒代谢等一系列反应,降低有毒物质对机体的进一步侵害(Piskorski and Dorn, 2011; 王金彦等, 2018; Wang *et al.*, 2020, 2021a, 2021b)。细胞凋亡(Apoptosis)是一种由基因控制的细胞主动性死亡的过程,对协调机体正常生理功能和防御外部影响有重要意义(Yuan *et al.*, 2022)。研究表明,植物次生代谢物质可影响昆虫细胞免疫,诱导宿主细胞发生凋亡(王文祥等, 2011)。钟国华等(2008)研究发现,0.1-5.0 $\mu\text{g}\cdot\text{mL}^{-1}$ 的印楝素和 0.5-20.0 $\mu\text{mol}\cdot\text{L}^{-1}$ 喜树碱处理斜纹夜蛾细胞 72 h 后,均可显著诱导幼虫细胞核质浓缩、产生凋亡小体等凋亡典型特征。戴雨辰(2020)研究表明,不同浓度东北天南星生物碱均可诱发草地贪夜蛾 *Spodoptera frugiperda*

(Smith) Sf21 细胞凋亡,并且作用效应呈剂量和时间依赖型。

甜菜夜蛾 *Spodoptera exigua* (Hübner) 是一种世界性广泛分布的多食性的农业害虫。(张娜等, 2009; 曾纪岚等, 2019)。由于长期过度依赖和施用化学农药导致该虫抗药性越来越高,对生态环境和食品安全构成重大威胁。因此,寻求安全有效的措施来实施该虫的综合管理十分必要(李平, 2021)。植物次生代谢物作为一种可有效减轻植食性昆虫危害的植物化学物质,无公害且价格低廉,已被用于多种植食性昆虫的田间管理(焦龙等, 2018)。作者所在团队前期的研究发现,黄豆叶片中含量较高的香豆素和槲皮素均可影响甜菜夜蛾生长发育并导致甜菜夜蛾的死亡率显著升高(范能能等, 2022),但其具体作用机制尚不明确,猜想可能是香豆素和槲皮素影响了取食黄豆叶片的甜菜夜蛾幼虫的细胞免疫。因此,本研究以香豆素和槲皮素为对象,探究其对甜菜夜蛾细胞凋亡率、半胱天冬酶(SeCaspase-1, SeCaspase-5)、凋亡抑制蛋白(SeIAP)活性和基因相对表达量的影响,为解析植食性昆虫对寄主植物的适应性机制,以及筛选利用植物次生物防治甜菜夜蛾提供科学依据。

1 材料与方法

1.1 供试材料

供试虫源为本课题组养虫室内连续饲养多代的甜菜夜蛾 3 龄初幼虫。参考 Jiang 等(2011, 2018)饲养方法,将初孵幼虫置于经消毒处理的养虫盒(高 10 cm, 直径 15 cm)中,并喂食人工饲料(成分含黄豆粉、琼脂粉、麦胚、酵母、抗坏血酸等)。按照次生物与人工饲料的干重比,分别配制含 0.01% (低于幼虫半致死剂量)次生代谢物(香豆素或槲皮素)的人工饲料,以不

加次生物的人工饲料作为对照组 (CK)。幼虫于温度 (28 ± 1) $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 $80\% \pm 5\%$ 、光周期 14 L : 10 D 的条件下生长至 3 龄初, 用于本试验。

供试的次生代谢物香豆素 (HPLC $\geq 98\%$) 和槲皮素 (HPLC $\geq 98\%$) 均购于上海源叶生物科技有限公司; RNA 抽提纯化试剂盒、反转录试剂盒、qPCR MiX 试剂盒均由上海生工生物有限公司生产; 细胞凋亡测试盒购置于北京全式金生物技术股份有限公司; 昆虫 Caspase-1、Caspase-5 和 IAP 酶联免疫 (ELISA) 测试盒均由上海江莱生物科技有限公司提供。

1.2 试验设计与方法

将含不同次生代谢物 (香豆素或槲皮素) 的人工饲料和不含次生代谢物的人工饲料 (CK) 切成约 0.027 cm^3 大小, 分别放入 12 孔培养板中。选取同等大小的甜菜夜蛾 3 龄初幼虫, 饥饿 6 h 后, 放入培养板中 (每孔放入 1 头幼虫)。将培养板封好口并进行标号后, 置于人工气候培养箱中, 温度 (28 ± 0.5) $^{\circ}\text{C}$ 、相对湿度 $80\% \pm 5\%$ 、光周期 14 L : 10 D。实验共设 3 组处理, 每处理 96 头幼虫, 重复 3 批次。

1.2.1 收集血淋巴 分别在处理 24、48 和 72 h 后, 提取幼虫血淋巴。用 75% 的乙醇溶液消毒甜菜蛾幼虫虫体后, 用无菌水清洗幼虫 6 次并用吸水纸拭去虫体表面水分。将幼虫置于洁净的 PE 膜上, 用镊子撕开虫体背部表皮, 用移液枪收集幼虫血淋巴。冰浴条件下将收集的血淋巴转移至 1.5 mL 离心管中, 用于后续实验。

1.2.2 血细胞凋亡率测定 每处理取 50 μL 血淋巴, $9492 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 4°C , 离心 5 min。加 PBS (pH6.8) 重悬细胞, 显微镜下观察细胞并计数 1×10^5 – 5×10^5 个细胞。PBS (pH6.8) 洗涤细胞 5 次, $8490 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 4°C , 离心 5 min, 弃上清。在离心管中加入 50 μL 细胞结合液, 轻轻悬浮细胞, 加入 Annexin V-FITC 试剂和 PI 试剂各 5 μL , 并充分混匀。室温 (20 – 25) $^{\circ}\text{C}$ 下反应 10 min, 用流式细胞仪 (Guava easyCyte 6HT-2L, 默克化工技术有限公司) 检测甜菜夜蛾血细胞凋亡率。试验重复 3 次。

1.2.3 甜菜夜蛾凋亡相关蛋白酶活性测定 每处理取 60 μL 血淋巴, $9492 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$, 4°C , 离心 15 min, 取上清用于后续实验。遵循说明书进行操作, 标准品孔中加 50 μL 不同浓度的标准溶液, 空白孔中加 50 μL 样品稀释液, 样本孔中加各处理组血淋巴 50 μL 。在每孔中加入 100 μL 的检测抗体, 37°C 孵育 60 min。洗涤缓冲液洗板 5 次, 拍干。在每孔中加入 50 μL 底物 A 和 B, 37°C 孵育 15 min 后加入 50 μL 反应终止液, 用酶标仪 (SpectraMAX M2, 上海普迪生物技术有限公司) 在 450 nm 处检测每孔的 OD 值。试验重复 3 次。

1.2.4 凋亡相关蛋白基因相对表达量的测定 通过 NCBI 查找甜菜夜蛾 SeCaspase-1、SeCaspase-5、SeIAP 的基因序列, 根据基因序列设计引物。引物交由上海生工生物合成。取不同处理的甜菜夜蛾幼虫血淋巴, 采用柱式 RNA 抽提试剂盒提取各处理组血淋巴中的 RNA 并纯化, 反转录得到 cDNA。运用实时荧光定量 PCR 法, 测定各处理组凋亡相关蛋白基因相对表达量。反应体系 (20 μL): SYBR Green qPCR Mix 10 μL , cDNA 1 μL , DEPC 水 8.2 μL , 上、下游引物 ($10 \mu\text{mol} \cdot \text{L}^{-1}$) 各 0.4 μL 。反应程序: 94°C 2 min, 94°C 5 s, 60°C 30 s, 45 个循环。以 β -actin 为参照, 将对照组处理 24 h 后的甜菜夜蛾幼虫目的基因的表达式设为 1, 采用 $2^{-\Delta\Delta\text{CT}}$ 法 (Livak and Schmittgen, 2001) 分析其他处理组的基因相对表达量。基因相对表达量公式: $\Delta\Delta\text{CT} = \Delta\text{CT}_{\text{样品}} - \Delta\text{CT}_{\text{参照物}}$, $\Delta\text{CT} = \text{CT}_{\text{靶基因}} - \text{CT}_{\text{内参基因}}$ 。

1.3 数据分析

采用 SPSS 20.0 软件对实验数据进行单因素方差分析和 K-S 检验, 并比较取食不同次生代谢物的甜菜夜蛾幼虫凋亡相关蛋白 (SeCaspase-1、SeCaspase-5、SeIAP) 的活性和基因相对表达量值的差异 (Turkey's HSD 检验, $P < 0.05$); 凋亡率数据分析前先经过反正弦转换。运用一般线性模型 (General linear model) 的两因素方差分析明确次生代谢物、处理后时间及其交互作用对甜菜夜蛾幼虫凋亡率、凋亡相关酶活性及基因相

对表达量的影响。

2 结果与分析

2.1 两种次生物对甜菜夜蛾凋亡率的影响

取食含 0.01% 香豆素或 0.01% 槲皮素的人工饲料 24-72 h, 甜菜夜蛾 3 龄初幼虫凋亡率显著升高, 且香豆素处理组的幼虫血细胞凋亡率显著高于对照组 ($P < 0.05$)。两种次生物处理之间甜菜夜蛾细胞凋亡率差异不显著 (图 1)。两因素方差分析表明, 次生代谢物、处理时间显著影响幼虫血细胞凋亡率 ($P < 0.05$), 次生代谢物和处理后时间的交互作用对幼虫血细胞凋亡率无显著性影响。

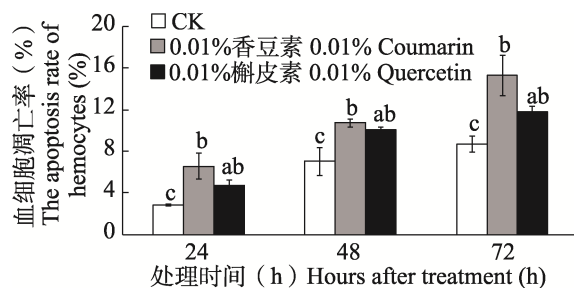


图 1 次生代谢物对甜菜夜蛾幼虫血细胞凋亡率的影响

Fig. 1 Effects of secondary metabolites on the apoptosis rate of *Spodoptera exigua* hemocytes

图中数据为平均值±标准误 ($n=3$, 下同), 柱上标有不同小写字母表示在 $P < 0.05$ 水平上差异显著。下同。

Data are mean±SE ($n=3$), histograms with different lowercase letters indicate significant differences at the 0.05 level by HSD test. The same below.

2.2 两种次生物对甜菜夜蛾凋亡相关蛋白酶活性的影响

取食含 0.01% 香豆素或 0.01% 槲皮素的人工饲料 24、48 和 72 h 后, 甜菜夜蛾 3 龄初幼虫 SeCaspase-1 活性显著升高 ($P < 0.05$), 均高于对照组。在处理 24 h 和 72 h, 香豆素处理组 SeCaspase-1 活性显著高于槲皮素处理组 ($P < 0.05$) (图 2: A)。香豆素和槲皮素处理后 48 h 和 72 h, 甜菜夜蛾幼虫 SeCaspase-5 活性显著高于对照组 ($P < 0.05$)。在处理时间为 48 h 时, 次生代谢物对酶活性的诱导作用最为显著 (图 2: B)。香豆素处理组 SeIAP 活性与对照组差异不显著 ($P > 0.05$), 槲皮素处理组的甜菜夜蛾幼虫

SeIAP 活性则显著高于对照组 ($P < 0.05$) (图 2: C)。两因素方差分析表明, 次生代谢物、处理时间以及次生代谢物和处理后时间的交互作用均显著影响 SeCaspase-1、SeCaspase-5 和 SeIAP 酶活性 ($P < 0.05$)。

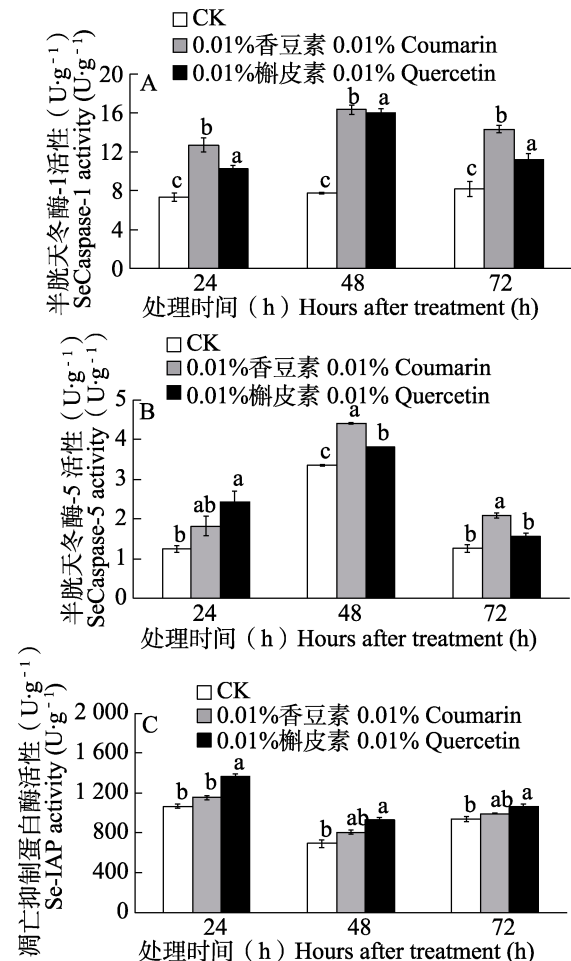


图 2 次生代谢物对甜菜夜蛾幼虫凋亡相关酶活性的影响

Fig. 2 Effects of secondary metabolites on apoptosis-related enzyme activities of *Spodoptera exigua*

A. 半胱天冬酶-1 活性; B. 半胱天冬酶-5 活性; C. 凋亡抑制蛋白酶活性。

A. SeCaspase-1 activity; SeCaspase-5 activity; SeIAP activity.

2.3 两种次生物对甜菜夜蛾凋亡基因相对表达量的影响

取食含 0.01% 香豆素或 0.01% 槲皮素的人工饲料 24、48 和 72 h 后, 甜菜夜蛾 3 龄初幼虫 SeCaspase-1、SeCaspase-5 基因相对表达量依次为香豆素处理组>槲皮素处理组>对照组 (图 3:

A, B)。0.01%香豆素和 0.01%槲皮素处理 24 和 48 h 后, 槲皮素处理组甜菜夜蛾幼虫 SeIAP 基因相对表达量显著高于对照组和香豆素处理组 ($P < 0.05$) (图 3: C)。处理时间为 24 h 时, 次生代谢物对 SeIAP 基因相对表达量的影响最为显著 ($P < 0.05$)。两因素方差分析表明, 次生代谢物、处理时间以及次生代谢物和处理后时间的交互作用均显著影响 SeCaspase-1、SeCaspase-5 和 SeIAP 基因相对表达量 ($P < 0.05$)。

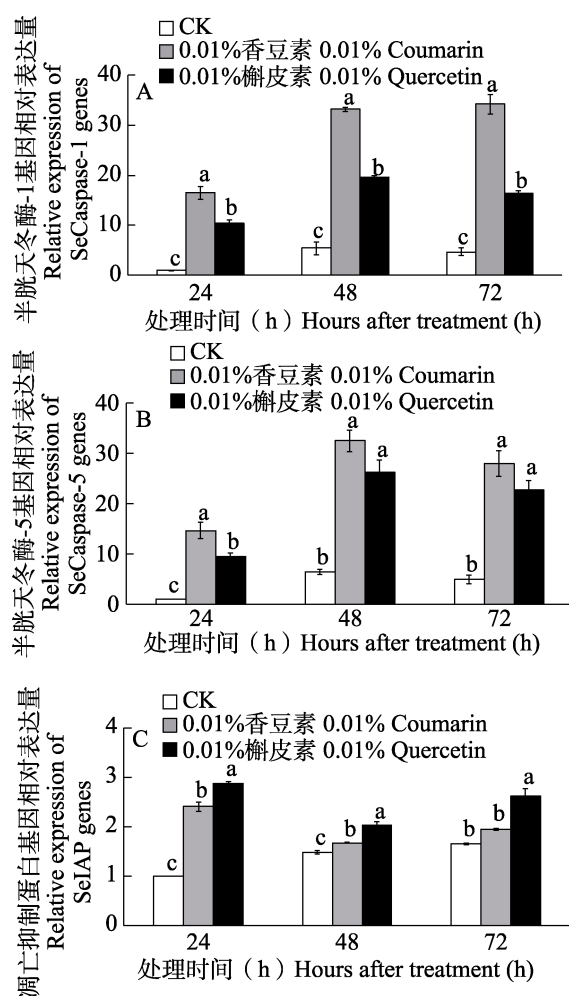


图 3 次生代谢物对甜菜夜蛾幼虫凋亡相关蛋白基因相对表达量的影响

Fig. 3 Effects of secondary metabolites on the relative quantification of apoptosis-related protein gene expressions of *Spodoptera exigua*

A. 半胱天冬酶-1 基因相对表达量; B. 半胱天冬酶-5 基因相对表达量; C. 凋亡抑制蛋白基因相对表达量。

A. SeCaspase-1 gene expression; B. SeCaspase-5 gene expression; C. SeIAP gene expression.

3 讨论

香豆素和槲皮素同属于自然界中含量丰富的酚类植物次生代谢物, 具有抗炎、抗菌、抗病毒以及诱导动物细胞发生凋亡等作用 (Kempen *et al.*, 2003; Murata *et al.*, 2008; 蒋师和张兴强, 2017; 祝珊珊等, 2021; Fu *et al.*, 2022)。Haneen 和 Muhammed 等 (2022) 研究发现苯乙烯双香豆素 (Styrene substituted biscoumarin, SSBC) 能显著诱导动物人胃腺癌细胞 (Stomach cancer cell lines, AGS) 发生凋亡。翟莺莺等 (2006) 研究结果表明, 槲皮素浓度与人单核细胞白血病细胞系 U937 的凋亡率呈正相关。这与本研究结果一致, 香豆素和槲皮素对昆虫细胞凋亡有促进作用, 与空白对照组相比, 0.01%香豆素和 0.01%槲皮素均可导致甜菜夜蛾细胞凋亡率显著升高。

半胱天冬酶 Caspase 是起始和调控多细胞生物体细胞凋亡的重要作用因子, 分为起始 Caspase 和效应 Caspase (Izhar, 2020; Kouroumalis *et al.*, 2021)。凋亡抑制蛋白 (Inhibitor of apoptosis protein, IAP) 是一类抑制细胞自主性死亡过程的蛋白 (Deveraux *et al.*, 1999; 李洁等, 2021; 张冰等, 2022)。甜菜夜蛾凋亡起始子 SeCaspase-5、凋亡效应子 SeCaspase-1 和凋亡抑制因子 SeIAP 的表达变化与细胞凋亡率密切相关 (王金彦, 2019; Wang *et al.*, 2021a)。本研究结果表明, 0.01%香豆素或 0.01%槲皮素处理甜菜夜蛾后, SeCaspase-1 和 SeCaspase-5 的活性和基因表达量迅速升高, 显著高于对照组。这与脱淑梅等 (2022) 和徐亚文等 (2020) 报道的香豆素类化合物或槲皮素可以诱导 Caspase 或其他凋亡相关蛋白的表达水平升高促进细胞凋亡的结果类似。而 SeIAP 的表达水平在次生代谢物处理后也显著上升, 这可能与 IAP 作为调节宿主细胞凋亡的关键性的抗凋亡蛋白, 为避免机体细胞过度损伤而降低凋亡反应强度有关 (Deveraux *et al.*, 1999)。本研究还发现甜菜夜蛾幼虫半胱天冬酶活性和表达量受植物次生代谢物和处理时间的交互作用的显著影响, 并且相对于槲皮素, 相同含量的香豆素对甜菜夜蛾细胞凋亡的诱导作用

更为显著,说明宿主细胞的凋亡受多种因素共同调控,且香豆素比槲皮素更能诱发昆虫的细胞免疫反应。

植物次生代谢物对昆虫细胞凋亡的影响,是昆虫对不同寄主植物表现出适应性差异的重要因素。本研究以香豆素和槲皮素为研究对象测试了植物次生代谢物质对甜菜夜蛾细胞凋亡的影响,研究结果对进一步探索昆虫-寄主植物间的相互关系,高效利用植物次生代谢物防治甜菜夜蛾具有重要的科学意义。然而,次生代谢物质与昆虫的相互作用关系较为复杂,尤其在自然界中往往涉及三营养层或更多营养层间的互作,因此其具体作用机制尚需进一步探索。

参考文献 (References)

- Chen CY, Kang ZJ, Shi XY, Gao XW, 2015. Metabolic adaptation mechanisms of insect to plant secondary metabolites and their implications for insecticide resistance of insects. *Acta Entomologica Sinica*, 58(10): 1126–1139. [陈澄宇, 康志娇, 史雪岩, 高希武, 2015. 昆虫对植物次生物质的代谢适应机制及其对昆虫抗药性的意义. *昆虫学报*, 58(10): 1126–1139.]
- Chen RZ, Deng YW, Ding YL, Guo JX, Qiu J, Wang B, Wang CS, Xie YY, Zhang ZH, Chen JX, Chen LT, Chu CC, He GC, He ZH, Huang XH, Xing YZ, Yang SH, Xie DX, Liu YG, Li JY, 2022. Rice functional genomics: Decades' efforts and roads ahead. *Science China (Life Sciences)*, 65(1): 33–92.
- Dai YC, 2020. Research progress on effect of alkaloids from nature plants on apoptosis. *Hubei Agricultural Sciences*, 59(S1): 1–3. [戴雨辰, 2020. 天然植物中生物碱类对细胞凋亡影响的研究进展. *湖北农业科学*, 59(S1): 1–3.]
- Deveraux QL, Leo E, Stennicke HR, Welsh K, Salvesen GS, Reed JC, 1999. Cleavage of human inhibitor of apoptosis protein XIAP results in fragments with distinct specificities for SeCaspases. *European Molecular Biology Organization Journal*, 18(19): 5242–5252.
- Fan NN, Wang JY, Wan NF, Jiang JX, 2022. Effects of plant secondary metabolites on the growth, development and detoxification enzymes activity, of *Spodoptera exigua*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 59(1): 165–171. [范能能, 王金彦, 万年峰, 蒋杰贤, 2022. 植物次生代谢物对甜菜夜蛾生长发育及解毒酶的影响. *应用昆虫学报*, 59(1): 165–171.]
- Fu LL, Jin WK, Zhang JH, Zhu LJ, Lu J, Zhen YQ, Zhang L, Ouyang L, Liu B, Yu HY, 2022. Repurposing non-oncology small-molecule drugs to improve cancer therapy: Current situation and future directions. *Acta Pharmaceutica Sinica B*, 12(2): 532–557.
- Gong ZZ, Xiong LM, Shi HZ, Yang SH, Herrera-Estrella LR, Xu GH, Chao DY, Li JR, Wang PY, Qin F, Li JG, Ding YL, Shi YT, Wang Y, Yang YQ, Guo Y, Zhu JK, 2020. Plant abiotic stress response and nutrient use efficiency. *Science China (Life Sciences)*, 63(5): 635–674.
- Haneen M, Muhammed A, 2022. Phytochemistry and pharmacological activities of *Ficus carica* latex: A systematic review. *Journal of Chinese Pharmaceutical Sciences*, 31(2): 81–96.
- Izhar HQ, 2020. Impact of dietary organic selenium on female fertility and reproductive efficiency of aging mice: Implications of selenium in ovarian biology and embryology. Doctoral dissertation. Yaan: Sichuan Agricultural University.
- Jiang JX, Zeng AP, Ji XY, Wan NF, Chen XQ, 2011. Combined effect of nucleopolyhedrovirus and *Microplitis pallidipes* for the control of the beet armyworm, *Spodoptera exigua*. *Pest Management Science*, 67(6): 705–713.
- Jiang JX, Yang JH, Ji XY, Zhang H, Wan NF, 2018. Experimental temperature elevation promotes the cooperative ability of two natural enemies in the control of insect herbivores. *Biological Control*, 117(1): 52–62.
- Jiang S, Zhang XQ, 2017. Induced apoptosis by quercetin in human colon cancer HT-29 cells through Traf6/TAK1. *International Journal of Traditional Chinese Medicine*, 39(10): 910–913. [蒋师, 张兴强, 2017. 槲皮素对人结肠癌 HT-29 细胞凋亡的影响. *国际中医中药杂志*, 39(10): 910–913.]
- Jiao L, Cai XM, Bian L, Luo ZX, Li ZQ, Xin ZJ, Chen ZM, 2018. Jasmonates: From induced plant anti-herbivore reaction to growth-defense tradeoffs. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 29(11): 3876–3890. [焦龙, 蔡晓明, 边磊, 罗宗秀, 李兆群, 辛肇军, 陈宗懋, 2018. 茉莉酸类化合物: 从植物的诱导抗虫防御反应到生长-防御权衡. *应用生态学报*, 29(11): 3876–3890.]
- Kempen I, Papapostolou D, Thierry N, Pochet L, Counerotte S, Masereel B, Foidart J M, Reboud-Ravaux M, Noël A, Pirotte B, 2003. 3-Bromophenyl 6-acetoxymethyl-2-oxo-2H-1-benzopyran-3-carboxylate inhibits cancer cell invasion in vitro and tumour growth in vivo. *British Journal of Cancer*, 88(7): 1111–1118.
- Kouroumalis E, Voumvouraki A, Augoustaki A, Samonakis DN, 2021. Autophagy in liver diseases. *World Journal of Hepatology*,

- 13(1): 6–65.
- Li J, Li J, Yu QL, Zheng GL, Zhang B, Li CY, 2021. Advance research on antiviral immunity response in Lepidoptera insects. *Chinese Journal of Environmental Entomology*, 43(5): 1079–1094. [李洁, 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 P, 2021. Investigation on diseases and insect pests of main minor cereals in Huining county, Gansu province. Master dissertation. Lanzhou: Lanzhou University. [李平, 2021. 甘肃会宁主要小杂粮病虫害调查及防治对策研究. 硕士学位论文. 兰州: 兰州大学.]
- 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.
- Muhammad SH, 2019. Assembly of (small anions/Layered double hydroxides)n Udfs luminescent ultrathin films, its enhanced photoluminescence and fluorescent biosensor application. Doctoral dissertation. Beijing: Beijing University of Chemical Technology.
- Murata T, Itoigawa M, Ito C, Nakao K, Tsuboi M, Kaneda N, Furukawa H, 2008. Induction of apoptosis in human leukaemia HL-60 cells by furanone-coumarins from *Murraya siamensis*. *Journal of Pharmacy and Pharmacology*, 60(3): 385–389.
- Pan ZY, 2020. Effects of three secondary metabolites on the growth and detoxification enzyme activities of *Hyphantria cunea*. Master dissertation. Beijing: Beijing Forestry University. [潘忠玉, 2020. 3 种次生代谢物对美国白蛾幼虫生长发育及解毒酶活性的影响. 硕士学位论文. 北京: 北京林业大学.]
- Piskorski R, Dorn S, 2011. How the oligophage codling moth *Cydia pomonella* survives on walnut despite its secondary metabolite juglone. *Journal of Insect Physiology*, 57(6): 744–750.
- Tuo SM, Li RR, Li J, Jia YF, Li XR, 2022. Mechanism of quercetin inducing apoptosis of cervical cancer cell via endoplasmic reticulum stress. *Gansu Medical Journal*, 41(9): 769–773. [脱淑梅, 李瑞瑞, 李娟, 贾炎峰, 李新茹, 2022. 槲皮素通过内质网应激诱导宫颈癌细胞凋亡的机制. 甘肃医药, 41(9): 769–773.]
- Wang JY, 2019. Effects of host plants on immune response of *Spodoptera exigua* to multicapsid nucleopolyhedrovirus. Master dissertation. Shanghai: Shanghai Ocean University. [王金彦, 2019. 寄主植物对甜菜夜蛾免疫核型多角体病毒的影响及机理. 硕士学位论文. 上海: 上海海洋大学.]
- Wang JY, Fan NN, Siemann E, Jiang JX, Wan NF, 2021a. Plant-mediated effects on life history traits of entomovirus infected caterpillars of *Spodoptera exigua*. *Journal of Applied Entomology*, 145(6): 567–574.
- Wang JY, Zhang H, Guo L, Wan NF, Jiang JX, 2018. The effects of host plants on the activities of the key enzymes involved in melanization in nucleopolyhedrovirus-infected beet armyworm larvae. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 55(5): 882–888. [王金彦, 张浩, 郭玲, 万年峰, 蒋杰贤, 2018. 寄主植物对甜菜夜蛾感染核型多角体病毒后黑化反应关键酶活性的影响. 应用昆虫学报, 55(5): 882–888.]
- Wang JY, Zhang H, Siemann E, Fan NN, Ji XY, Chen YJ, Jiang JX, Wan NF, 2021b. Plants impact cellular immunity of caterpillars to an entomovirus. *Pest Management Science*, 77(5): 2415–2424.
- Wang JY, Zhang H, Siemann E, Ji XY, Chen YJ, Wang Y, Jiang JX, Wan NF, 2020. Immunity of an insect herbivore to an entomovirus is affected by different host plants. *Pest Management Science*, 76(3): 1004–1010.
- Wang RL, Sun YL, Liang XT, Song YY, Su YJ, Zhu KY, Zeng RS, 2012. Effects of six plant secondary metabolites on activities of detoxification enzymes of *Spodoptera litura*. *Acta Ecologica Sinica*, 32(16): 5191–5198. [王瑞龙, 孙玉林, 梁笑婷, 宋圆圆, 苏贻娟, 朱克岩, 曾任森, 2012. 6 种植物次生物质对斜纹夜蛾解毒酶活性的影响. 生态学报, 32(16): 5191–5198.]
- Wang WX, Zhong GH, Hu MY, Huang JF, Ge CC, 2011. Induced apoptosis of camptothecin in *Spodoptera frugiperda* Sf9 cells. *Acta Entomologica Sinica*, 54(8): 894–901. [王文祥, 钟国华, 胡美英, 黄劲飞, 葛萃萃, 2011. 喜树碱诱导的草地贪夜蛾 Sf9 细胞凋亡. 昆虫学报, 54(8): 894–901.]
- Wu S, Zhao QN, Miao DK, DONG YH, 2010. Synthesis and characterization of Sb-doped SnO₂-(CeO₂-TiO₂) composite thin films deposited on glass substrates for antistatic electricity and UV-shielding. *Journal of Rare Earths*, 28(S1): 189–193.
- Xu YW, Zou LF, Li F, 2020. Effects of quercetin on proliferation and apoptosis of multiple myeloma cells and its related mechanisms. *Journal of Experimental Hematology*, 28(4): 1234–1239. [徐亚文, 邹丽芳, 李菲, 2020. 槲皮素对多发性骨髓瘤的抗肿瘤作用及其相关机制. 中国实验血液学杂志, 28(4): 1234–1239.]
- Yang NB, Wu SR, Shen LB, Zhang SZ, Yang BP, 2014. A Review on plant resistance to insect pests. *Chinese Journal of Tropical Agriculture*, 34(9): 61–68. [杨乃博, 伍苏然, 沈林波, 张树珍,

- 杨本鹏, 2014. 植物抗虫性研究概况. 热带农业科学, 34(9): 61–68.]
- Yuan YY, Li HM, Pu W, Chen LL, Guo D, Jiang HF, He B, SY, Qin KW, Li N, Feng JW, Wen J, Shi P, Cheng YG, Yang WW, Ye D, Lu ZM, Huang CH, Mei J, Zhang HF, Gao P, Jiang P, Su SC, Sun B, Zhao SM, 2022. Cancer metabolism and tumor microenvironment: Fostering each other? *Science China (Life Sciences)*, 65(2): 236–279.
- Zeng JL, Kong XD, Dong ZH, Wu JX, Li YP, 2019. Effects of five different host plants on the midgut protease activities of the larva in *Spodoptera exigua*. *Journal of Environmental Entomology*, 41(1): 42–49. [曾纪岚, 孔祥东, 董梓慧, 仵均祥, 李怡萍, 2019. 五种寄主植物对甜菜夜蛾幼虫中肠蛋白酶活性的影响. 环境昆虫学报, 41(1): 42–49.]
- Zhai YY, Lai YH, Lu HM, Yu BD, Ye TZ, Chen FX, 2006. Proliferation inhibition and apoptosis induction of U937 cells by quercetin. *Journal of Modern Clinical Medical Bioengineering*, 12(2): 98–102. [翟莺莺, 赖永洪, 卢慧敏, 于宝丹, 叶铁真, 陈福雄, 2006. 槲皮素对 U937 细胞系抑制增殖和诱导凋亡作用的研究. 现代临床医学生物工程杂志, 12(2): 98–102.]
- Zhang B, Wang Y, Li N, Li DD, Kan YC, 2022. Functional analysis of survivin gene in the mitosis of BmN4 cells of *Bombyx mori*. *Acta Entomologica Sinica*, 65(5): 541–547. [张冰, 王艺, 李娜, 李丹丹, 阚云超, 2022. 家蚕生存素基因在 BmN4 细胞有丝分裂中的功能分析. 昆虫学报, 65(5): 541–547.]
- Zhang N, Guo JY, Wan FH, Wu G, 2009. Oviposition and feeding preferences of *Spodoptera exigua* (Hübner) (Lepidoptera: Noctuidae) to different host plants. *Acta Entomologica Sinica*, 52(11): 1229–1235. [张娜, 郭建英, 万方浩, 吴刚, 2009. 甜菜夜蛾对不同寄主植物的产卵和取食选择. 昆虫学报, 52(11): 1229–1235.]
- Zhang YE, 2012. Induction of detoxifying enzymes by quercetin and rutin in the silkworm. Master dissertation. Chongqing: Chongqing University. [张月娥, 2012. 槲皮素和芦丁在家蚕幼虫中对解毒酶的诱导模式. 硕士学位论文. 重庆: 重庆大学.]
- Zhong GH, Shui KJ, Lv CJ, Jia JW, Ren TJ, Hu MY, 2008. Induction of apoptosis by azadirachtin, a botanical insecticidal component in *Spodoptera litura* cultured cell line SL-1. *Acta Entomologica Sinica*, 51(6): 618–627. [钟国华, 水克娟, 吕朝军, 贾建文, 任太军, 胡美英, 2008. 印楝素对 SL-1 的细胞凋亡诱导作用. 昆虫学报, 51(6): 618–627.]
- Zhu SS, Lu LS, Bi LW, Qin F, Li J, 2021. Effect of quercetin on cell proliferation and apoptosis of gastric cancer cells. *Strait Pharmaceutical Journal*, 33(11): 14–17. [祝珊珊, 陆灵松, 毕丽伟, 秦飞, 李杰, 2021. 槲皮素影响胃癌细胞增殖并诱导细胞凋亡的研究. 海峡药学, 33(11): 14–17.]