



王常清, 韩永金, 曹进刚, 张洁, 尚素琴. 二斑叶螨雌成螨对高温胁迫的生理响应. 环境昆虫学报, 2021, 43 (1): 181–190.

二斑叶螨雌成螨对高温胁迫的生理响应

王常清, 韩永金, 曹进刚, 张洁, 尚素琴*

(甘肃农业大学植物保护学院, 甘肃省农作物病虫害生物防治工程实验室, 兰州 730070)

摘要: 为明确二斑叶螨对设施农业中温室高温环境胁迫的生理响应, 在实验室内以二斑叶螨 *Tetranychus urticae* 雌成虫为试螨, 设置 36℃、39℃ 和 42℃ 3 个温度梯度, 2 h、4 h 和 6 h 3 个胁迫时间, 测定各胁迫处理后其体内多功能氧化酶 (MFO)、羧酸酯酶 (CarE)、谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 的酶比活力以及酶动力学参数 (米氏常数 K_m 和最大反应速率 V_{max}) 的变化。结果表明, 经 36℃、39℃ 和 42℃ 胁迫后, 二斑叶螨体内 CarE、MFO、GST 的酶比活力和酶动力学参数的变化均受到不同程度的影响。酶比活力: CarE 的比活力均高于对照 (除 39℃ 胁迫 6 h 外), MFO 的比活力也均高于对照 (除 42℃ 胁迫 6 h 外), GST 的酶比活力均高于对照 (除 42℃ 胁迫 2 h 外)。经双因素方差分析, 高温胁迫和处理时间之间存在显著的交互作用 ($P < 0.05$)。酶动力学参数: CarE 的 K_m 值均高于对照 (除 36℃ 胁迫 2 h 和 4 h、39℃ 胁迫 6 h 外), MFO 的 K_m 值均低于对照 (除 39℃ 胁迫 6 h、42℃ 胁迫 4 h 外), GST 的 K_m 值均高于对照 (除 36℃ 胁迫 2 h 外)。CarE 的 V_{max} 值均高于对照 (除 36℃ 胁迫 2 h 和 4 h 外), MFO 的 V_{max} 值均高于对照 (除 42℃ 胁迫 4 h 外), GST 的 V_{max} 值均高于对照。说明二斑叶螨可能通过调整体内解毒酶的酶比活力来应对高温胁迫, 相比较 CarE 和 GST, MFO 与底物的亲和力最大, 反应速率最快, 表明其在应对高温胁迫的解毒响应中可能起主导作用。

关键词: 二斑叶螨; 高温胁迫; 解毒酶; 酶动力学参数

中图分类号: Q965; S476

文献标识码: A

文章编号: 1674-0858 (2021) 01-0181-10

The response of physiological of *Tetranychus urticae* to heat stress

WANG Chang-Qing, HAN Yong-Jin, CAO Jin-Gang, ZHANG Jie, SHANG Su-Qin* (College of Plant of Gansu Agricultural University, Biological Engineering Laboratory of Crop Diseases and Pests of Gansu Province, Lanzhou 730070, China)

Abstract: In order to clarify the detoxification mechanisms of physiological response to heat stress on *Tetranychus urticae* (Koch) in greenhouse, the females adult of *T. urticae* were treated in 2 h, 4 h, 6 h under three different high temperatures (36℃, 39℃ and 42℃), respectively. The specific activity, enzyme kinetics (Michaelis constants, K_m and maximal velocities, V_{max}) of multifunctional oxidase (MFO), carboxylesterase (CarE) and glutathione S-transferase (GST) of *T. urticae* were measured. The interaction between heat stress and treatment time showed a significant difference tested by two-way ANOVA ($P < 0.05$). The results showed that, the specific activity and enzyme kinetics of CarE, MFO, GST were differently affected. Specific activity: the specific activity of CarE was higher than the control except the 6 h treatment at 39℃, the specific activity of MFO was higher than the control except the 6 h treatment at 42℃, the specific activity of GST was higher than the control except the 2 h treatment at

基金项目: 甘肃农业大学青年导师基金 (GAU-QNDS-201606); 甘肃农业大学研究生重点课程建设项目 (GSAU-ZDKC-2016)

作者简介: 王常清, 男, 硕士研究生, 研究方向为农业昆虫与害虫防治, E-mail: 2069068204@qq.com

* 通讯作者 Author for correspondence: 尚素琴, 女, 博士, 教授, 研究方向为植物保护, E-mail: shangsq@gsau.edu.cn

收稿日期 Received: 2020-12-21; **接受日期** Accepted: 2021-02-08

42℃. Enzyme kinetics: the K_m value of CarE was higher than the control except the 2 h, 4 h treatment at 36℃ and 6 h treatment at 39℃, the K_m value of MFO was lower than the control except the 6 h treatment at 39℃ and 4 h treatment at 42℃, the K_m value of GST was higher than the control except the 2 h treatment at 36℃. The V_{max} value of CarE was higher than the control except the 2 h, 4 h treatment at 36℃, the V_{max} value of MFO was higher than the control except the 4 h treatment at 42℃, the V_{max} value of GST was higher than the control in all treatments. The results indicated that *T. urticae* can change the specific activity of detoxification enzymes to resist high temperature. MFO had the highest affinity with substrate and the fastest catalytic rate, it was likely to play a dominant role in the response of resisting high temperature, compared with CarE and GST.

Key words: *Tetranychus urticae*; high temperature; detoxification enzymes; enzyme kinetics

二斑叶螨 *Tetranychus urticae* (Koch) 属于节肢动物门 Arthropod 蜱螨亚纲 Acarina 真螨目 Acariformes 叶螨科 Tetranychidae, 广泛分布于世界各地。二斑叶螨通过刺吸式口器取食, 可为害 1 000 多种植物, 包括豆类、黄瓜、玉米、草莓, 以及多种果树等, 对农业经济造成了严重的危害 (赵卫东等, 2003; 李忠洲等, 2013; Topuz *et al.*, 2018)。

近年来, 甘肃地区草莓种植规模逐步扩大, 栽培模式也由露地转变为温室种植 (汤玲等, 2017)。随着种植面积的不断扩大, 草莓病虫害问题日益突出, 成为制约草莓健康发展的重要因素之一, 其中二斑叶螨是为害草莓的优势害螨, 可使草莓植株矮化、早衰, 叶片干枯, 果实缩小, 严重时可导致植株死亡, 影响草莓的产量和品质 (曹立军等, 2018)。

温度对螨的生长发育、繁殖、生理生化代谢等有着重要的影响 (Cunnington, 1965; 杨丽红等, 2014), 其中, 高温对螨的影响更为显著 (刘开林, 2007; 陈瑜和马春森, 2010; 戈峰, 2011)。高温可直接影响螨或通过作用于寄主植物间接影响它们的生理代谢等 (Cunnington, 1984; 杨大兴, 2009; Everatt *et al.*, 2013)。在环境变化或极端因子的胁迫时, 螨可以通过调整自身的免疫调节途径或一些酶类来应对逆境胁迫 (Weber, 2005; 黄吉, 2020)。研究发现, 螨体内的多功能氧化酶 (MFO)、羧酸酯酶 (CarE)、谷胱甘肽 *S*-转移酶 (GST), 不仅能够代谢对自身不利的外源化学物质 (Cui *et al.*, 2011), 而且在适应逆境胁迫等方面也起着重要作用 (Wen *et al.*, 2009; Yang *et al.*, 2010; 刘建业等, 2017)。

在晴天, 温室中温度可达到 40℃ 以上, 并稳定维持一段时间 (Zhang *et al.*, 2016; 孙丽娟等, 2019), 虽然高温对二斑叶螨有一定的负面影响,

但其仍然能够适应高温胁迫并稳定存活、繁殖、扩大种群 (龚淑, 2015; Bayu *et al.*, 2017)。

目前, 有关设施农业中的优势害螨二斑叶螨的研究大多集中在高温对二斑叶螨的生物学和生态学影响方面, 但对其如何通过体内解毒酶系来适合高温胁迫的机制研究尚无报道。因此, 本文模拟高温胁迫环境对二斑叶螨体内 3 种解毒酶 (CarE、MFO、GST) 的比活力和动力学参数的变化规律, 旨在阐明二斑叶螨在生理生化水平上如何应对高温胁迫的响应机制, 以期对设施农业中害螨的综合防控提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试螨源

二斑叶螨种群采自甘肃省兰州新区草莓农业示范园, 用新鲜四季豆在人工气候箱中饲养繁殖约 120 多代备用。培养条件为: $T = 25 \pm 1^\circ\text{C}$, $RH = 60\% \pm 5\%$, 光周期 $L:D = 16\text{ h}:8\text{ h}$ 。期间不做其他温度处理且不接触任何杀虫剂。

1.2 主要试剂及仪器

1.2.1 主要试剂

考马斯亮蓝 G-250、牛血清白蛋白 (bovine serum albumin, BSA)、 α -乙酸萘酯 (α -NA)、还原性谷胱甘肽 (L-glutathione, GSH)、 α -萘酚 (α -naphthol, $\geq 99\%$)、还原型辅酶 II (nicotinamide adenine dinucleotide phosphate, NADPH, $> 98\%$): 北京索莱宝科技有限公司。毒扁豆碱: 甘肃金博研生物科技有限公司、固蓝 B 盐: 上海源叶生物科技有限公司、乙二胺四乙酸 (ethylene diaminetetra acetic acid, EDTA, $\geq 99.5\%$): 天津市光复科技发展有限公司、对硝基苯酚 (P-nitrophenol, $\geq 99.5\%$): 湖北鑫润德化工有限公司、十二烷基

磺酸钠 (sodium lauryl-sulfonate, SDS)、1-氯-2,4-二硝基苯 (1-chloro-2,4-dinitrobenzene, CDNB, $\geq 99\%$): 上海中泰化学试剂有限公司。

1.2.2 主要仪器

智能人工气候箱 (HQB-H300, 上海跃进医疗器械有限公司); 全波长酶标仪 (Epoch, 美国伯腾仪器有限公司)、高速冷冻离心机 (H1850R, 湖南湘仪实验室仪器开发有限公司)、恒温水浴锅 (S·HH·W 21·420 S, 上海跃进医疗器械有限公司)、超纯水器 (UPD-I-20 T, 四川优普超纯科技有限公司) 等。

1.3 方法

1.3.1 高温胁迫处理

以 25℃ 为对照, 设置 3 个高温: 36℃、39℃、42℃, 每个温度的胁迫时间为 2 h、4 h、6 h。每个处理重复 3 次。

1.3.2 酶源蛋白制备及含量测定

挑取各处理的试螨大约 160 头雌成螨于 1.5 mL 的离心管中, 用液氮迅速冷却并分别加入 1.5 mL 预冷的磷酸盐缓冲液 (0.04 mol/L, pH7.0、0.1 mol/L, pH7.8、66 mmol/L, pH7.0) 充分研磨后用高速冷冻离心机离心 (4℃, 10 000 g, 15 min), 取上清液得相应的酶源 (CarE、MFO、GST) 于 4℃ 保存。

参照 Bradford (1976) 的方法, 在酶标板中依次加入一定比例的考马斯亮蓝和酶液, 对照用磷酸盐缓冲液 (0.1 mol/L, pH7.0) 代替。37℃ 反应 10 min 在 595 nm 处测定 OD 值, 根据牛血清蛋白标准曲线计算蛋白含量。

1.3.3 羧酸酯酶 (CarE) 比活力测定

参照何恒果 (2010) 和 Asperen (1962) 的方法, 在酶标孔中依次加入 α -乙酸萘酯 (含毒扁豆碱)、磷酸缓冲液 (0.04 mol/L, pH7.0)、酶液, 以 α -乙酸萘酯为底物水浴 (30℃) 反应 10 min, 加入显色剂 ($V_1\%$ 靛蓝 B 水溶液: $V_5\%$ 十二烷基磷酸钠水溶液 = 2:5), 于 600 nm 处测定其 OD 值。根据 α -萘酚标准曲线和蛋白含量以及 OD 值换算酶比活力 (酶比活力单位: $\mu\text{mol}/\mu\text{g}/\text{min}$)。

1.3.4 多功能氧化酶 (MFO) 比活力测定

参照何恒果 (2010) 和 Shang 等 (1984) 的方法, 略有改动, 在离心管中依次加入对硝基苯甲醚 (0.1 mmol/L)、磷酸缓冲液 (0.1 mol/L, pH7.8)、NADPH (1 mmol/L)、酶液, 以对硝基苯甲醚为底物水浴 (37℃) 反应 30 min, 经

1 mol/L 盐酸终止反应, 并用氯仿、氢氧化钠溶液 (0.5 mol/L) 进行萃取, 最终的产物加入酶标板于 400 nm 处测定 OD 值。根据对硝基苯酚曲线和蛋白含量以及 OD 值换算酶比活力 (酶比活力单位: $\mu\text{mol}/\mu\text{g}/\text{min}$)。

1.3.5 谷胱甘肽 S-转移酶 (GST) 比活力测定

参照何恒果 (2010) 和 Clark 等 (1984) 的方法, 以 1-氯-2,4-二硝基苯 (0.03 mol/L) 为底物与还原性谷胱甘肽, 经 GST 作用于 37℃ 反应 10 min, 于 340 nm 处间隔 1 min 测定 10 min 之内的 OD 值, 根据 (Habig *et al.*, 1974) 的方法结合蛋白含量计算酶比活力 (酶比活力单位: $\mu\text{mol}/\mu\text{g}/\text{min}$)。

酶比活力根据以下公式计算:

$$\text{酶比活力} = [\Delta\text{OD}_{340} \cdot v] / [\epsilon \cdot L] / p$$

式中 ΔOD_{340} 为吸光度每分钟的变化值, v 为酶促反应体系, ϵ 为产物的消光系数 [$0.0096 \text{ L}/(\mu\text{mol} \cdot \text{cm})$], L 为光程 (1 cm), p 为蛋白含量。

1.3.6 酶动力常数测定

参照 Fernley (1974) 和 Wilkinson (1961) 的方法, 按比例分别将 CarE、MFO、GST 的底物 α -乙酸萘酯、对硝基苯甲醚、1-氯-2,4-二硝基苯稀释成不同浓度梯度, 根据 1.3.3、1.3.4、1.3.5 酶比活力的测定步骤进行测定, 结果采用 Lineweaver-Burk 双倒数图法模型计算动力学参数 (K_m) 和 ($V_{\max}$) 大小。

1.4 数据处理

解毒酶比活力和动力学参数数据均采用 Excel 2016 和 SPSS 24.0 进行统计和计算, 采用 Duncan 氏新复极差法进行差异显著性分析 ($P < 0.05$)。

2 结果与分析

2.1 高温胁迫对二斑叶螨体内三种解毒酶比活力的影响

2.1.1 高温胁迫对羧酸酯酶 (CarE) 比活力的影响

高温胁迫对二斑叶螨体内 CarE 酶活性有明显的影响 (表 1)。经高温胁迫后, CarE 比活力均有所上升 (除 39℃ 胁迫 6 h 外), 其中 36℃ 胁迫 4 h、6 h 后酶比活力显著高于胁迫 2 h ($P < 0.05$), 但 39℃ 和 42℃ 胁迫后, 不同处理时间的酶比活力之间没有明显的差异。同一胁迫时间下, 当高温胁迫 2 h 后, 不同温度处理的酶比活力之间没有明显

的差异,但胁迫4 h和6 h后,36℃处理的酶比活力显著高于39℃和42℃ ($P < 0.05$),其中,39℃处理的酶比活力与对照没有明显的差异。结果表明,适当的高温(36℃)可以刺激二斑叶螨体内CarE酶活性上升,但较长时间的相对高温($> 36^\circ\text{C}$)可抑制酶活性的持续上升。经双因素方

差分析,温度和时间的交互效应显著 ($P < 0.05$),其中36℃胁迫6 h后可促进CarE酶活性的升高,酶比活力达到最大 $0.6914 \pm 0.0094 \mu\text{mol}/\mu\text{g}/\text{min}$,是对照的1.79倍,39℃胁迫6 h后可抑制CarE酶活性的升高,酶比活力降至最低 $0.3780 \pm 0.0137 \mu\text{mol}/\mu\text{g}/\text{min}$,与对照相比降低2.32%。

表1 高温胁迫二斑叶螨对其羧酸酯酶比活力 ($\mu\text{mol}/\mu\text{g}/\text{min}$) 的影响

Table 1 Effect of high temperature on specific activity of CarE in *Tetranychus urticae*

胁迫时间 (h) Exposure time	胁迫温度 (°C) Exposure temperature			
	25 (CK)	36	39	42
2	0.3870 ± 0.0266 Aa	0.4852 ± 0.0122 Ba	0.4688 ± 0.0352 Aa	0.4575 ± 0.0170 Aa
4	0.3870 ± 0.0266 Ac	0.6560 ± 0.0331 Aa	0.4370 ± 0.0445 Abc	0.5073 ± 0.0131 Ab
6	0.3870 ± 0.0266 Ac	0.6914 ± 0.0094 Aa	0.3780 ± 0.0137 Ac	0.4454 ± 0.0252 Ab

注:表中不同大写字母代表解毒酶比活力在同一温度不同时间之间经Duncan氏新复极差法检验差异显著 ($P < 0.05$),不同小写字母代表解毒酶比活力在同一时间不同温度之间经Duncan氏新复极差法检验差异显著 ($P < 0.05$)。表2、表3同。
Notes: The different capitals in the table indicated the significantly differences of detoxification enzyme specific activity in the same temperature exposed to different time tested by Duncan's new multiple range method ($P < 0.05$), lowercases indicated the significantly differences of detoxification enzyme specific activity in the same time exposed to different temperature tested by Duncan's new multiple range method ($P < 0.05$). The same for Table 2 and Table 3.

2.1.2 高温胁迫对羧酸酯酶 (MFO) 比活力的影响

高温胁迫对二斑叶螨体内MFO酶活性的影响如表2所示。经高温胁迫后,MFO比活力均有所上升(除42℃胁迫6 h外),其中36℃和39℃胁迫后,不同处理时间的酶比活力之间差异不显著 ($P > 0.05$),但42℃胁迫4 h和6 h后,酶比活力显著低于胁迫2 h ($P < 0.05$)。而在相同胁迫时间下,高温胁迫2 h后,36℃和42℃处理的酶比活力显著高于39℃和对照 ($P < 0.05$);高温胁迫4 h后,36℃和39℃处理的酶比活力显著高于42℃和

对照 ($P < 0.05$);高温胁迫6 h后,36℃和39℃处理的酶比活力显著高于42℃ ($P < 0.05$)。结果表明,适当的高温(36℃)可以刺激二斑叶螨体内MFO酶活性上升,但较长时间的相对高温($> 36^\circ\text{C}$)可抑制酶活性的持续上升。经双因素方差分析,温度和时间的交互效应显著 ($P < 0.05$),其中36℃胁迫4 h后可促进MFO酶活性的升高,酶比活力达到最大 $0.0136 \pm 0.0003 \mu\text{mol}/\mu\text{g}/\text{min}$,是对照的1.37倍,42℃胁迫6 h后可抑制CarE酶活性的升高,酶比活力降至最低 $0.0058 \pm 0.0004 \mu\text{mol}/\mu\text{g}/\text{min}$,与对照相比降低41.83%。

表2 高温胁迫二斑叶螨对其多功能氧化酶比活力 ($\mu\text{mol}/\mu\text{g}/\text{min}$) 的影响

Table 2 Effect of high temperature on specific activity of MFO in *Tetranychus urticae*

胁迫时间 (h) Exposure time	胁迫温度 (°C) Exposure temperature			
	25 (CK)	36	39	42
2	0.0099 ± 0.0002 Ac	0.0134 ± 0.0003 Aa	0.0120 ± 0.0002 Ab	0.0133 ± 0.0004 Aa
4	0.0099 ± 0.0002 Ab	0.0136 ± 0.0003 Aa	0.0127 ± 0.0003 Aa	0.0106 ± 0.0004 Bb
6	0.0099 ± 0.0002 Aab	0.0119 ± 0.0025 Aa	0.0122 ± 0.0002 Aa	0.0058 ± 0.0004 Cb

2.1.3 高温胁迫对谷胱甘肽S-转移酶 (GST) 比活力的影响

高温胁迫对二斑叶螨体内GST酶活性的影响

如表3所示。经高温胁迫后,GST比活力均有所上升(除42℃胁迫2 h外),其中36℃和39℃胁迫4 h和6 h后酶比活力显著低于胁迫2 h ($P <$

0.05), 但 42℃ 胁迫 4 h 后酶比活力显著高于胁迫 2 h ($P < 0.05$)。而在相同胁迫时间下, 高温胁迫 2 h 后, 36℃ 处理的酶比活力均显著高于 39℃、42℃ 和对照 ($P < 0.05$); 高温胁迫 4 h 后, 36℃ 和 42℃ 处理的酶比活力与 39℃ 差异不显著 ($P > 0.05$), 但显著高于对照 ($P < 0.05$); 高温胁迫 6 h 后, 36℃ 处理的酶比活力与 39℃ 和 42℃ 差异不显著 ($P > 0.05$), 但显著高于对照 ($P < 0.05$)。结果表明, 适当的高温 (36℃) 可以刺激二斑叶螨

体内 GST 酶活性上升, 但较长时间的相对高温 ($> 36^\circ\text{C}$) 可抑制酶活性的持续上升。经双因素方差分析, 温度和时间的交互效应显著 ($P < 0.05$), 其中 36℃ 胁迫 2 h 后可促进 GST 酶活性的升高, 酶比活力达到最大 $23.2274 \pm 1.3311 \mu\text{mol}/\mu\text{g}/\text{min}$, 是对照的 2.38 倍, 42℃ 胁迫 2 h 后可抑制 CarE 酶活性的升高, 酶比活力降至最低 $7.8858 \pm 1.3935 \mu\text{mol}/\mu\text{g}/\text{min}$, 与对照相比降低 19.14%。

表 3 高温胁迫二斑叶螨对其谷胱甘肽 S-转移酶比活力 ($\mu\text{mol}/\mu\text{g}/\text{min}$) 的影响
Table 3 Effect of high temperature on specific activity of GST in *Tetranychus urticae*

胁迫时间 (h) Exposure time	胁迫温度 (°C) Exposure temperature			
	25 (CK)	36	39	42
2	9.7524 $\pm$ 0.5025 Ac	23.2274 $\pm$ 1.3311 Aa	19.2150 $\pm$ 0.8829 Ab	7.8858 $\pm$ 1.3935 Bc
4	9.7524 $\pm$ 0.5025 Ab	16.2959 $\pm$ 2.3773 Ba	13.4067 $\pm$ 1.6007 Bab	15.5175 $\pm$ 0.7767 Aa
6	9.7524 $\pm$ 0.5025 Ab	15.1848 $\pm$ 0.6771 Ba	11.8091 $\pm$ 1.5735 Bab	11.5394 $\pm$ 1.7137 ABab

2.2 高温胁迫对二斑叶螨体内 3 种解毒酶动力学参数的影响

2.2.1 不同温度对解毒酶米氏常数 (K_m) 的影响

CarE 的 K_m 值除在 36℃ 胁迫 2 h 和 4 h、39℃ 胁迫 6 h 后均低于对照外, 其它处理均高于对照 (图 1-A)。36℃ 和 42℃ 胁迫后 CarE 的 K_m 值随时间延长先降低后升高, 均在 4 h 时降至最低, 而 39℃ 胁迫后 CarE 的 K_m 值随时间延长先升高后降低, 4 h 时最高, 6 h 降至最低。相同时间胁迫下, 2 h 和 4 h 时, 39℃ 和 42℃ 胁迫后 CarE 的 K_m 值均高于对照, 但 36℃ 胁迫后 CarE 的 K_m 值均低于对照, 与对照相比分别降低 12.64% 和 54.15%; 6 h 时, 36℃ 和 42℃ 胁迫后 CarE 的 K_m 值均显著高于对照 ($P < 0.05$), 39℃ 的 K_m 值低于对照。

MFO 的 K_m 值除在 39℃ 胁迫 6 h、42℃ 胁迫 4 h 后均高于对照外, 其它处理均低于对照 (图 1-B)。36℃ 和 39℃ 胁迫后 MFO 的 K_m 值随时间延长先降低后升高, 均在 4 h 降至最低; 42℃ 胁迫后 MFO 的 K_m 值随时间延长先升高后降低, 4 h 时显著升高 ($P < 0.05$) 达到最大是对照的 1.58 倍。相同时间胁迫下, 2 h 时, 36、39、42℃ 胁迫后 MFO 的 K_m 值均低于对照, 其中 39℃ 和 42℃ 的 K_m 值显著低于对照 ($P < 0.05$); 4 h 时 36℃ 和 39℃ 胁迫后 MFO 的 K_m 值均显著低于对照 ($P < 0.05$), 与对照相比分别降低 37.49% 和 31.52%; 6 h 时, 36℃ 和 42℃ 胁迫后 MFO 的 K_m

值均低于对照, 与对照相比分别降低 1.46%、39.49%。

GST 的 K_m 值仅在 36℃ 胁迫 2 h 时低于对照外, 其它处理均高于对照 (图 1-C)。36℃ 胁迫后 GST 的 K_m 值随时间延长先升高后降低, 4 h 时达到最大, 39℃、42℃ 胁迫后 GST 的 K_m 值随时间延长先降低后升高, 均在 4 h 时降至最低。相同时间胁迫下, 2 h 时, 39℃ 和 42℃ 胁迫后 GST 的 K_m 值均显著高于对照 ($P < 0.05$), 而 36℃ 胁迫后 GST 的 K_m 值低于对照, 与对照相比降低 10.75%; 4 h、6 h 时, 36℃、39℃、42℃ 胁迫后 GST 的 K_m 值均高于对照

以上结果说明高温胁迫二斑叶螨后, 其体内 MFO 与底物的亲和力程度高于 CarE 和 GST。

2.2.2 高温胁迫对解毒酶最大反应速率 ($V_{\max}$) 的影响

CarE 的 $V_{\max}$ 值除在 36℃ 胁迫 2 h、4 h 后低于对照外, 其它处理均高于对照 (图 2-A)。36℃、42℃ 胁迫后 CarE 的 $V_{\max}$ 值随时间延长先降低后升高, 均在 4 h 降至最低, 39℃ 胁迫后 CarE 的 $V_{\max}$ 值随时间延长先升高后降低, 4 h 时升至最高, 是对照的 2.43 倍。相同时间胁迫下, 2 h 时, 39℃ 和 42℃ 胁迫后 CarE 的 $V_{\max}$ 值均显著高于对照 ($P < 0.05$), 分别是对照的 2.05 倍和 2.64 倍; 4 h 时, 39℃ 和 42℃ 胁迫后 CarE 的 $V_{\max}$ 值均高于对照; 6 h 时, 36℃、39℃、42℃ 胁迫后 CarE 的 $V_{\max}$ 值均

高于对照, 分别是对照的 2.43 倍、1.23 倍、1.81 倍。

MFO 的 $V_{\max}$ 值仅在 42℃ 胁迫 4 h 后低于对照, 其它处理均高于对照 (图 2-B)。39℃ 胁迫后 MFO 的 $V_{\max}$ 值随时间延长逐渐升高, 6 h 时升至最高, 显著高于对照 ($P < 0.05$), 36℃ 和 42℃ 胁迫后 MFO 的 $V_{\max}$ 值随时间延长先降低后升高, 均在 4 h 时降至最低。相同时间胁迫下, 2 h 时, 36℃、39℃、42℃ 胁迫后 MFO 的 $V_{\max}$ 值均显著高于对照 ($P < 0.05$), 分别是对照的 1.37 倍、1.33 倍、1.27 倍; 4 h 时, 36℃ 胁迫后 MFO 的 $V_{\max}$ 值高于对照, 39℃ 胁迫后 MFO 的 $V_{\max}$ 值显著高于对照 ($P < 0.05$); 6 h 时, 36℃、39℃、42℃ 胁迫后

MFO 的 $V_{\max}$ 值均显著高于对照 ($P < 0.05$), 分别是对照的 2.28 倍、2.31 倍、1.55 倍。

所有处理下 GST 的 $V_{\max}$ 值均高于对照 (图 2-C)。36℃、39℃、42℃ 胁迫后 GST 的 $V_{\max}$ 值随时间延长先降低后升高, 均在 4 h 时降至最低。相同时间胁迫下, 2 h、4 h、6 h 时, 36℃、39℃、42℃ 胁迫后 GST 的 $V_{\max}$ 值均高于对照; 2 h、4 h 时, 39℃ 胁迫后 GST 的 $V_{\max}$ 值分别高于 36℃ 和 42℃; 6 h 时, 39℃ 胁迫后 GST 的 $V_{\max}$ 值分别显著高于 36℃ 和 42℃ ($P < 0.05$)。

以上结果说明高温胁迫二斑叶螨后, 其体内 GST 与底物的反应速率快于 MFO 和 CarE。

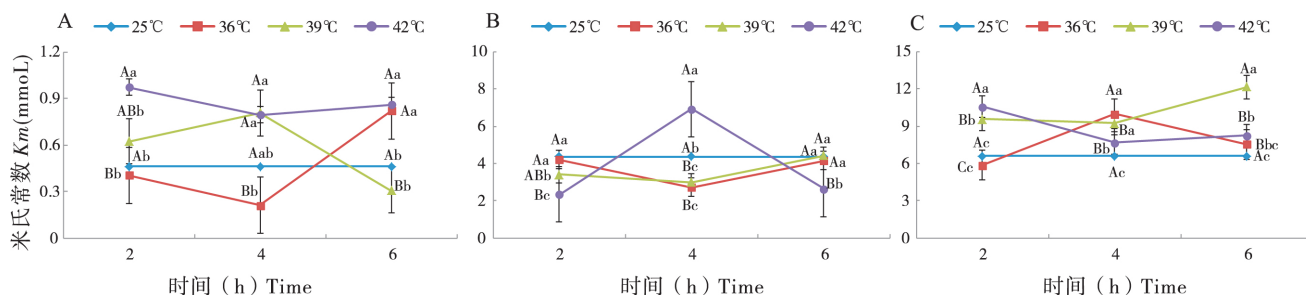


图 1 高温胁迫二斑叶螨对其解毒酶米氏常数 (K_m) 的影响

Fig. 1 Effect of high temperature on K_m of detoxification enzymes in *Tetranychus urticae*

注: A, 羧酸酯酶; B, 多功能氧化酶; C, 谷胱甘肽 S-转移酶。图中不同大写字母代表 K_m 值在同一温度不同时间之间经 Duncan 氏新复极差法检验差异显著 ($P < 0.05$), 不同小写字母代表 K_m 值在同一时间不同温度之间经 Duncan 氏新复极差法检验差异显著 ($P < 0.05$)。Notes: A, CarE; B, MFO; C, GST. The different capitals in the figure indicated the significantly differences of K_m in the same temperature exposed to different time tested by Duncan's new multiple range method ($P < 0.05$), lowercases indicated the significantly differences of K_m in the same time exposed to different temperature tested by Duncan's new multiple range method ($P < 0.05$).

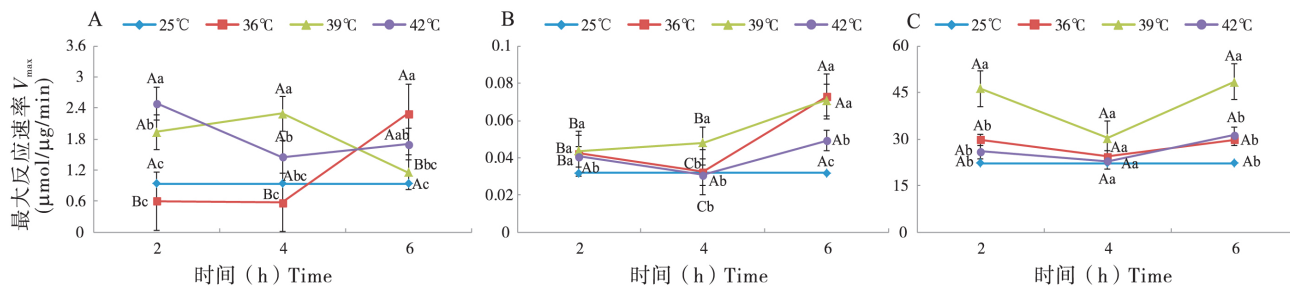


图 2 高温胁迫二斑叶螨对其解毒酶最大反应速率 ($V_{\max}$) 的影响

Fig. 2 Effect of high temperature on $V_{\max}$ of detoxification enzymes in *Tetranychus urticae*

注: A, 羧酸酯酶; B, 多功能氧化酶; C, 谷胱甘肽 S-转移酶。图中不同大写字母代表 $V_{\max}$ 值在同一温度不同时间之间经 Duncan 氏新复极差法检验差异显著 ($P < 0.05$), 不同小写字母代表 $V_{\max}$ 值在同一时间不同温度之间经 Duncan 氏新复极差法检验差异显著 ($P < 0.05$)。Notes: A, CarE; B, MFO; C, GST. The different capitals in the figure indicated the significantly differences of $V_{\max}$ in the same temperature exposed to different time tested by Duncan's new multiple range method ($P < 0.05$), lowercases indicated the significantly differences of $V_{\max}$ in the same time exposed to different temperature tested by Duncan's new multiple range method ($P < 0.05$).

3 结论与讨论

作为变温动物, 螨和昆虫一样, 对环境变化均比较敏感, 尤其是极端高温胁迫会在很大程度上影响它们的生理代谢和生存。研究发现, 在一定的胁迫强度范围内, 昆虫能通过调整体内的生理代谢、酶类、形态和行为等来应对逆境胁迫(李宁等, 2016)。与昆虫生长发育有关的酯酶(保幼激素)会通过抑制昆虫变态或阻止成虫器官发育来应对逆境胁迫(白晶晶等, 2020), 与解毒代谢相关的羧酸酯酶(CarE)可通过螯合或阻隔作用来分解和催化对昆虫机体有害的物质(李永强, 2012); 多功能氧化酶(MFO)分布在昆虫的多种组织和器官中, 能对一些外源或内源毒素进行氧化代谢, 使昆虫能够极大提升自我保护和适应逆境胁迫的能力(Feyereisen, 1999); 谷胱甘肽S-转移酶(GST)可与某些特异的内源或外源有毒物质结合进而降低有毒物质的细胞毒性, 达到解毒的作用(Ku *et al.*, 1994)。

本研究发现, 二斑叶螨雌成螨经高温胁迫后, 其体内解毒酶活力均发生变化。CarE 的比活力均高于对照(除 39℃ 胁迫 6 h 外), 这与 Guo 等(2018)发现高温胁迫导致 Q 型烟粉虱 *Bemisia tabaci* 体内 CarE 比活力上升的研究结果一致, 但与高温胁迫导致小菜蛾 *Plutella xylostella* 体内 CarE 比活力下降的结果不同(刘群, 2009), 研究结果不一致的原因可能是由于高温对二斑叶螨、烟粉虱、小菜蛾的生理损伤程度不同, 从而导致酶代谢过程中酶与底物的结合能力升高或下降引起的(Neven, 2000)。MFO 的比活力也均高于对照(除 42℃ 胁迫 6 h 外), 这与高温胁迫导致绿盲蝽体内 MFO 比活力下降的结果相反(马云华, 2012), 可能是由于昆虫或螨体内内分泌调控对高温的响应不同, 从而促进或抑制了一些内分泌激素的合成间接影响 MFO 的相关基因表达(姚洪渭, 2001)。GST 的酶比活力同样均高于对照(除 42℃ 胁迫 2 h 外), 这与高温胁迫橘小实蝇 *Bactrocera dorsalis* (夹福先, 2012) 和柑橘全爪螨 *Panonychus citri* Mc Gregor (杨丽红, 2011) 诱导它们体内 GST 比活力上升的结果相似, 另外, Zhang *et al.* (2015) 研究报道小菜蛾经 36℃ 和 42℃ 胁迫 1 ~ 24 h 后, 其体内 GST 的比活力显著上升, 也与本文的研究结果一致, 说明 GST 在螨或昆虫抗高温的过程中发

挥了一定的作用。

高温胁迫对二斑叶螨雌成螨体内解毒酶的影响因温度高低而有所差异。相比较 39℃ 和 42℃, 36℃ 会极大促进二斑叶螨雌成螨体内 CarE、MFO、GST 的表达, 使酶比活力升高。究其原因可能是 36℃ 以上的高温会破坏二斑叶螨体内内环境的保水系统导致水平衡失调使渗透压升高(Salin *et al.*, 1999), 进而对细胞产生不可恢复的生理损伤导致解毒酶活力下降; 也有可能是高温破坏了二斑叶螨体内某些细胞的膜蛋白使细胞膜的完整性和流动性(Fields, 2002)降低或丧失, 导致酶的转运速率降低进而影响解毒酶的表达。

高温胁迫对二斑叶螨雌成螨体内解毒酶的影响因处理时间不同而不同。36℃ 和 39℃ 胁迫后 GST 比活力随胁迫时间延长呈逐渐降低的趋势, 这与高温胁迫西花蓟马(郑玉涛, 2015)和萝卜蚜(李苹, 2013)导致它们体内 GST 比活力随时间延长而降低的结果相似。我们推测, GST 比活力的变化可能与高温胁迫氧化应激而产生的脂质过氧化物(An and Choi, 2010; Marutani *et al.*, 2010)有关, 随胁迫时间的延长脂质过氧化物被 GST 清除后浓度降低, 进而导致 GST 的比活力降低。36℃ 和 39℃ 胁迫后 MFO 比活力变化均呈先上升后下降的趋势, 42℃ 胁迫后 CarE 和 GST 比活力的变化也呈相同的趋势。说明高温胁迫对二斑叶螨生理代谢有着不利的影响, 二斑叶螨对高温胁迫较为敏感, 这种敏感程度随胁迫时间的延长而表现出差异性。

K_m 和 V_{max} 是酶的动力学参数, K_m 值的变化代表酶与底物的亲和力程度, V_{max} 值的变化反应了酶催化底物反应的速率大小(尚素琴和薛玉丽, 2019)。前期研究都是从 K_m 值和 V_{max} 值的变化为依据研究螨的抗药性机制(何林等, 2003; 常芸等, 2020), 而在本试验中, 我们以 K_m 值和 V_{max} 值的变化来分析高温胁迫后二斑叶螨雌成螨体内解毒酶量变和质变的差异性。与 CarE 和 GST 比较, 高温胁迫后二斑叶螨雌成螨体内 MFO 的 K_m 值均低于对照(除 39℃ 处理 6 h、42℃ 处理 4 h), V_{max} 值也同样均高于对照(除 42℃ 处理 4 h), MFO 的 K_m 值和 V_{max} 值的变化量综合反映了 MFO 与底物存在较高的亲和力并且极大提高了代谢反应速率, 这说明 MFO 在二斑叶螨适应高温胁迫代谢中承担主要作用。

二斑叶螨可通过调节自身体内解毒酶(CarE、

MFO、GST) 比活力变化来代谢或清除高温胁迫产生的有害物质, 从而维持其机体的正常生理代谢。通过对解毒酶活力和酶动力学参数的综合比较, 发现 3 种解毒酶均有可能参与到二斑叶螨抗高温的代谢过程中, 而 MFO 在应对高温胁迫解毒的响应中可能起主导作用。本研究仅从解毒酶的酶比活力和酶动力学参数水平来探讨二斑叶螨如何应对高温胁迫, 而分子水平的响应有待更进一步的研究。

参考文献 (References)

- An MI, Choi CY. Activity of antioxidant enzymes and physiological responses in ark shell, *Scapharca broughtonii*, exposed to thermal and osmotic stress: Effects on hemolymph and biochemical parameters [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 2010, 155 (1): 34–42.
- Asperen KV. A study of housefly esterases by means of a sensitive colorimetric method [J]. *Journal of Insect Physiology*, 1962, 8 (4): 401–416.
- Bai JJ, Gu G, Lai RQ, et al. Effects of juvenile hormone analogs on the growth and development, parasitism rate and activities of molting-related enzymes in *Aphidius gifuensis* (Hymenoptera: Aphididae) [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2020, 63 (9): 1091–1100. [白晶晶, 顾钢, 赖荣泉, 等. 保幼激素类似物对烟蚜茧蜂生长发育、寄生率和蜕皮相关酶活性的影响 [J]. 昆虫学报, 2020, 63 (9): 1091–1100]
- Bayu M, Ullah MS, Takano Y, et al. Impact of constant versus fluctuating temperatures on the development and life history parameters of *Tetranychus urticae* (Acari: Tetranychidae) [J]. *Experimental and Applied Acarology*, 2017, 72: 205–227.
- Bradford MM. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding [J]. *Analytical Biochemistry*, 1976, 72 (1/2): 8–54.
- Cao LJ, Zhou XY, Gong YJ, et al. Molecular identification and genetic diversity of spider mites on strawberry from 12 regions of China [J]. *Plant Protection*, 2018, 44 (4): 158–161. [曹利军, 周晓怡, 宫亚军, 等. 我国 12 个地区草莓叶螨种类分子鉴定及遗传多样性 [J]. 植物保护, 2018, 44 (4): 158–161]
- Chang Y, Wang CQ, Shang SQ. Effects of sublethal concentration of bifenthrin on the activities of detoxification enzymes against red spider mite *Tetranychus urticae* [J]. *Journal of Plant Protection*, 2020, 47 (5): 1146–1154. [陈芸, 王常清, 尚素琴. 联苯腈酯亚致死质量浓度对二斑叶螨 *Tetranychus urticae* 解毒酶系的影响 [J]. 植物保护学报, 2020, 47 (5): 1146–1154]
- Chen Y, Ma CS. Effect of global warming on insect: A literature review [J]. *Acta Ecologica Sinica*, 2010, 30 (8): 2159–2172. [陈瑜, 马春森. 气候变暖对昆虫影响研究进展 [J]. 生态学报, 2010, 30 (8): 2159–2172]
- Clark AG, Dick GL, Smith JN. Kinetic studies on a glutathione S-transferase from the larvae of *Costelytra zealandica* [J]. *Biochemical Journal*, 1984, 217 (1): 51–58.
- Cui YD, Du YZ, Lu MX, et al. Antioxidant responses of *Chilo suppressalis* (Lepidoptera: Pyralidae) larvae exposed to thermal stress [J]. *Journal of Thermal Biology*, 2011, 36 (5): 292–297.
- Cunnington AM. Physical limits for complete development of the grain mite, *Acarus siro* L. (Acarina, Acaridae), in relation to its world distribution [J]. *Journal of Applied Ecology*, 1965, 2 (2): 295–306.
- Cunnington AM. Resistance of the grain mite *Acarus siro* L. (Acarina, Acaridae) to unfavourable physical conditions beyond the limits of its development [J]. *Agriculture Ecosystems & Environment*, 1984, 11 (4): 319–339.
- Everatt MJ, Convey P, Worland MR, et al. Heat tolerance and physiological plasticity in the Antarctic collembolan, *Cryptopygus antarcticus*, and mite, *Alaskozetes antarcticus* [J]. *Journal of Thermal Biology*, 2013, 38 (5): 264–271.
- Fernley HN. Statistical estimations in enzyme kinetics. The integrated michaelis equation [J]. *European Journal of Biochemistry*, 1974, 43 (2): 377–378.
- Feyereisen R. Insect P450 enzymes [J]. *Annual Review of Entomology*, 1999, 44 (44): 507–533.
- Fields PG. The control of stored-product insects and mites with extreme temperatures [J]. *Journal of Stored Products Research*, 1992, 28 (2): 89–118.
- Ge F. Challenges facing entomologists in a changing global climate [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2011, 48 (5): 1117–1122. [戈峰. 应对全球气候变化的昆虫学研究 [J]. 应用昆虫学报, 2011, 48 (5): 1117–1122]
- Gong S. Studies on the Experimental Population Ecology and Control of *Tetranychus urticae* Koch on Rose [D]. Jiangxi: Nanchang University Master Thesis, 2015. [龚舒. 月季二斑叶螨实验种群生态特性及防治技术研究 [D]. 江西: 南昌大学硕士论文, 2015]
- Gonzalez-Tokman D, Cordoba-Aguilar A, Dattilo W, et al. Insect responses to heat: Physiological mechanisms, evolution and ecological implications in a warming world [J]. *Biological Reviews of the Cambridge Philosophical Society*, 2020, 95 (3): 802–821.
- Guo L, Su MM, Liang P, et al. Effects of high temperature on insecticide tolerance in whitefly *Bemisia tabaci* (Gennadius) Q biotype [J]. *Pestic Biochem. Physiol.*, 2018, 150: 97–104.
- Habig WH, Pabst MJ, Jakoby WB, et al. Glutathione S-Transferases the first enzymatic step in mercapturic acid formation [J]. *The Journal of Biological Chemistry*, 1974, 249 (22): 130–7139.
- He L, Tan SL, Cao XF, et al. Study on resistance selection and activity of detoxification enzyme in *Tetranychus cinnabarinus* (Boiduval) [J]. *Chinese Journal of Pesticide Science*, 2003, 5 (4): 23–29. [何林, 谭仕禄, 曹小芳, 等. 朱砂叶螨的抗性选育及其解毒酶活性研究 [J]. 农药学报, 2003, 5 (4): 23–29]
- Huang J. Physiological Mechanism for Dehydration-induced Tolerance of *Neoseiulus barkeri* Female to Combined Stress of High Temperature and Desiccation [D]. Chongqing: Southwest

- University PhD Thesis, 2020. 黄吉. 高温低湿共胁迫下巴氏新小绥螨存活及耐受力提升的生理代谢机制 [D]. 重庆: 西南大学博士论文, 2020]
- Jia FX. Research on Mechanisms of *Bactrocera dorsalis* (Hendel) in Response to Thermal Stress [D]. Chongqing: Southwest University PhD Thesis, 2012. 贾福先. 桔小实蝇抗热胁迫反应的机制研究 [D]. 重庆: 西南大学, 博士论文, 2012]
- Ku CC, Chiang FM, Hsin CY, et al. Glutathione transferase isozymes involved in insecticide resistance of diamondback moth larvae [J]. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 1994, 50 (3): 191–197.
- Li N, Zhang SZ, Liu TX. Effects of elevated CO₂ concentration and temperature on protective enzymes and detoxification enzymes of *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) [J]. *Journal of Plant Protection*, 2016, 43 (1): 99–104. 李宁, 张世泽, 刘同先. 二氧化碳浓度和温度升高对烟粉虱主要保护酶和解毒酶活性的影响 [J]. 植物保护学报, 2016, 43 (1): 99–104]
- Li P. Effects of High Temperatures on the Biological Parameters and Resistance Associated Enzyme Activities of *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach) [D]. Fujian: Fujian Agriculture and Forestry University Master Thesis, 2013. 李苹. 高温对萝卜蚜生物学参数和抗性相关酶活性的影响 [D]. 福建: 福建农林大学硕士论文, 2013]
- Li YQ. Expression and Hydrolytic Activities of Carboxylesterases from *Helicoverpa armigera* [D]. Shanxi: Northwest Agriculture and Forestry University Master Thesis, 2012. 李永强. 棉铃虫羧酯酶表达及解毒作用研究 [D]. 陕西: 西北农林科技大学硕士论文, 2012]
- Li ZZ, Zhou YS, Piao JZ, et al. Determination of selection for resistance to spirodiclofen and its effect on detoxification enzymes in *Tetranychus urticae* [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2013, 50 (2): 454–459. 李忠洲, 周玉书, 朴静子, 等. 二斑叶螨对螺螨酯的抗性选育及其解毒酶活性测定 [J]. 应用昆虫学报, 2013, 50 (2): 454–459]
- Liu JY, Qian L, Ke R, et al. Effects of elevated carbon dioxide on the activities of physiological enzymes in thrips *Frankliniella occidentalis* and *F. intonsa* fed on different host plants [J]. *Journal of Plant Protection*, 2017, 44 (1): 45–53. 刘建业, 钱蕾, 可芮, 等. CO₂ 浓度升高对取食不同寄主的西花蓟马和花蓟马生理酶活性的影响 [J]. 植物保护学报, 2017, 44 (1): 45–53]
- Liu KL. Adaptable Mechanisms to High Temperature Impact of *Tetranychus cinnabarinus* with Resistance to Abamectin [D]. Chongqing: Southwest University Master Thesis, 2007. 刘开林. 抗阿维菌素朱砂叶螨适应高温胁迫机理研究 [D]. 重庆: 西南大学硕士论文, 2007]
- Liu Q. Effects of High Temperature on Acetylcholinesterase and Detoxification Enzymes in Insecticide-susceptible and Resistant Strains of *Plutella xylostella* [D]. Fujian: Fujian Agriculture and Forestry University Master Thesis, 2009. 刘群. 高温对抗性和敏感小菜蛾 AchE 及解毒酶系活性的影响 [D]. 福建: 福建农林大学硕士论文, 2009]
- Ma YH. Effect of Temperature on the Toxicity of Several Insecticides to *Sitobion avenae* (Fabricius) and *Apolygus lucorum* (Meyer-Dür) and on the Enzyme Activity [D]. Hebei: Hebei Agricultural University Master Thesis, 2012. 马云华. 几类杀虫剂对麦长管蚜和绿盲蝽的温度系数及温度对主要代谢酶的影响 [D]. 河北: 河北农业大学硕士论文, 2012]
- Marutani-Hert M, Hunter WB, Hall DG. Gene response to stress in the *Asian citrus psyllid* (Hemiptera: Psyllidae) [J]. *Florida Entomologist*, 2010, 93 (4): 519–525.
- Neven LG. Physiological responses of insects to heat [J]. *Postharvest Biology & Technology*, 2000, 21 (1): 103–111.
- Salin C, Vernon P, Vannier G. Effects of temperature and humidity on transpiration in adults of the lesser mealworm, *Alphitobius diaperinus* (Coleoptera: Tenebrionidae) [J]. *Journal of Insect Physiology*, 1999, 45 (10): 907.
- Shang SQ, Xue YL. Effect of sublethal concentrations of bifenthrin on detoxifying enzymes in *Tetranychus truncatus* [J]. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 2019, 56 (4): 728–735. 尚素琴, 薛玉丽. 亚致死质量浓度联苯腈酯对截形叶螨解毒酶系的影响 [J]. 应用昆虫学报, 2019, 56 (4): 728–735]
- Shang C, Soderlund DM, and BP. Monooxygenase activity of tobacco budworm (*Heliothis virescens* F.) larvae: Tissue distribution and optimal assay conditions for the gut activity [J]. *Comparative Biochemistry and Physiology Part B: Biochemistry and Molecular Biology*, 1984, 79 (3): 407–411.
- Sun LJ, Zhang F, Jiang SL, et al. Effects of two alternating temperatures on the life table parameters and pesticide resistance of *Thrips palmi* [J]. *Journal of Plant Protection*, 2019, 46 (3): 556–562. 孙丽娟, 张芳, 江守林, 等. 两种自然变温刺激对棕榈蓟马种群生命表参数及抗药性的影响 [J]. 植物保护学报, 2019, 46 (3): 556–562]
- Tang L, He H, Kong F, et al. Development status and suggestions of strawberry industry in Gansu Province [J]. *Gansu Agricultural Science and Technology*, 2017, 12: 86–89. 汤玲, 贺欢, 孔芬, 等. 甘肃省草莓产业发展现状及建议 [J]. 甘肃农业科技, 2017, 12: 86–89]
- Topuz E, Madanlar N, Erler F. Chemical composition, toxic and development and reproduction inhibiting effects of some essential oils against *Tetranychus urticae* Koch (Acarina: Tetranychidae) as fumigants [J]. *Journal of Plant Diseases and Protection*, 2018, 125: 377–387.
- Weber S. Light-driven enzymatic catalysis of DNA repair: A review of recent biophysical studies on photolyase [J]. *Biochimica et Biophysica Acta – Bioenergetics*, 2005, 1707 (1): 1–23.
- Wen Z, Zeng RS, Niu G, et al. Ecological significance of induction of broad substrate cytochrome P450s by natural and synthetic inducers in *Helicoverpa zea* [J]. *Journal of Chemical Ecology*, 2009, 35 (2): 183–189.
- Wilkinson GN. Statistical estimations in enzyme kinetics [J]. *Biochemical Journal*, 1961, 80 (2): 324–332.
- Yang DX. The Effect of High Temperature on the Development and HSPs Expression of 3 Different Strains of *Tetranychus cinnabarinus* [D]. Chongqing: Southwest University Master Thesis, 2009. 杨大兴. 高温对三个朱砂叶螨品系生长发育及热激蛋白的影响 [D].

重庆: 西南大学硕士论文, 2009]

- Yang LH, Huang H, Wang JJ. Antioxidant responses of citrus red mite, *Panonychus citri* (McGregor) (Acari: Tetranychidae), exposed to thermal stress [J]. *Journal of Insect Physiology*, 2010, 56 (12): 1871–1876.
- Yang LH, Huang H, Wang JJ. Effect of exposure to heat stress on survival and fecundity of *Panonychus citri* [J]. *Scientia Agricultura Sinica*, 2014, 47 (4): 693–701. 杨丽红, 黄海, 王进军. 高温胁迫对柑橘全爪螨存活及生殖的影响 [J]. *中国农业科学*, 2014, 47 (4): 693–701]
- Yang LH. Study on Mechanisms of *Panonychus citri* (McGregor) in Response to Thermal Stress [D]. Chongqing: Southwest University PhD Thesis, 2011. 杨丽红. 柑橘全爪螨 *Panonychus citri* (McGregor) 对热胁迫的响应机制研究 [D]. 重庆: 西南大学博士论文, 2011]
- Yao HW. Studies on Mechanism of Insecticide Resistance of the White-backed planthopper, *Sogatella furcifera* (Horvath) (Homoptera: Delphacidae): Biological, Physiological and Biochemical Bases for Changes in Insecticide Susceptibility [D]. Zhejiang: Zhejiang University PhD Thesis, 2001. 姚洪渭. 白背飞虱抗药性机理的研究 – 药剂敏感性变化的生物学与生理生化基础 [D]. 浙江: 浙江大学博士论文, 2001]
- Zhang B, Zuo Q, Li HG, et al. Effect of heat shock on the susceptibility of *Frankliniella occidentalis* (Thysanoptera: Thripidae) to insecticides [J]. *Journal of Integrative Agriculture*, 2016, 15 (10): 2309–2318.
- Zhang LJ, Wu ZL, Wang KF, et al. Trade-off between thermal tolerance and insecticide resistance in *Plutella xylostella* [J]. *Ecology and Evolution*, 2015, 5 (2): 515–30.
- Zhao WD, Wang KY, Jiang XY, et al. Resistance selection by abamectin, pyridaben and fenpropathrin and activity change of detoxicant enzymes in *Tetranychus urticae* [J]. *Acta Entomologica Sinica*, 2003, 6: 788–792. 赵卫东, 王开运, 姜兴印, 等. 二斑叶螨对阿维菌素、哒螨灵和甲氰菊酯的抗性选育及其解毒酶活力变化 [J]. *昆虫学报*, 2003, 6: 788–792]
- Zheng YT. Effect of the High Temperature Stress on Antioxidant Enzyme Activity and Cloning and Expression of CAT Gene of *Frankliniella occidentalis* [D]. Jiangsu: Yangzhou University PhD Thesis, 2015. 郑玉涛. 高温胁迫对西花蓟马抗氧化酶活性的影响及 CAT 基因的克隆与表达 [D]. 江苏: 扬州大学博士论文, 2015]