

温度胁迫对茶淡黄刺蛾四种保护酶活力和总抗氧化力的影响^{*}

李品武^{1**} 付雪莲^{1,2} 陈世春² 胡翔² 王晓庆^{2***} 彭萍^{2***}

(1. 四川农业大学园艺学院, 成都 611130; 2. 重庆市农业科学院茶叶研究所, 永川 402160)

摘 要 【目的】温度适应性是决定昆虫分布和扩散的重要因素。为探索茶淡黄刺蛾 *Darna trima* (Moore) 对温度胁迫的耐受性, 本研究测定了温度胁迫对 4 种抗氧化酶的活力和总抗氧化能力的影响。【方法】分别将茶淡黄刺蛾老熟幼虫置于 -5、0、5、26 (对照)、35、37.5、40℃ 下处理 2、4、6 h, 测定其体内超氧化物歧化酶 (SOD)、过氧化物酶 (POD)、过氧化氢酶 (CAT)、谷胱甘肽巯基转移酶 (GST) 和总抗氧化能力 (T-AOC) 的活力变化。【结果】茶淡黄刺蛾的 4 种抗氧化酶的活力和总抗氧化能力在不同温度和时间之间均存在显著变化, 但不同指标对温度胁迫具有不同的响应模式。低温胁迫尤其是 -5℃ 对各指标影响最为显著, 而高温胁迫影响较小。【结论】SOD、CAT、POD、GST 和 T-AOC 在茶淡黄刺蛾应对温度胁迫中具有重要作用, 本研究可为判断茶淡黄刺蛾在茶区的分布范围提供一定的理论依据。

关键词 茶淡黄刺蛾, 温度胁迫, 保护酶, 总抗氧化能力

Effect of temperature stress on four protective enzymes and overall antioxidant capacity in *Darna trima* (Moore)

LI Pin-Wu^{1**} FU Xue-Lian^{1,2} CHEN Shi-Chun² HU Xiang²
WANG Xiao-Qing^{2***} PENG Ping^{2***}

(1. College of Horticulture, Sichuan Agricultural University, Chengdu 611130, China; 2. Tea Research Institute, Chongqing Academy of Agricultural Sciences, Yongchuan 402160, China)

Abstract 【Objectives】Temperature adaptability is an important factor affecting the distribution and geographic spread of insects. To explore resistance to temperature stress in *Darna trima* (Moore), we investigated the activity of four protective enzymes and overall antioxidant capacity in this insect. 【Methods】Mature larvae of *D. trima* were exposed to -5, 0, 5, 26 (control), 35, 37.5 and 40℃ for 2, 4 and 6 h, and the activities of superoxide dismutase (SOD), catalase (CAT), peroxidase (POD), glutathione *S*-transferase (GST), and total antioxidant capacity (T-AOC), were measured. 【Results】Different temperatures and exposure durations had significant effects on the activities of the four antioxidant enzymes and overall antioxidant capacity, and produced different response patterns. Cold stress, especially -5℃, had significant effects on all indices, however, heat stress had relatively small effects. 【Conclusion】SOD, CAT, POD, GST and T-AOC may play important roles in the response of *D. trima* to temperature stress. These results provide a theoretical basis for estimating the distribution of *D. trima* in tea plantations.

Key words *Darna trima*, temperature stress, protective enzyme, total antioxidant capacity

温度是影响昆虫生长发育、存活、繁殖等生命活动最重要的气候因子, 适宜的温度能保证昆虫正常的生长发育, 过高或过低的温度均不利于昆虫的生长发育和繁殖 (王艳敏等, 2010; 段小凤

*资助项目 Supported projects: 国家茶叶产业技术体系西部病虫害防控岗位专家基金 (CARS-23)

**第一作者 First author, E-mail: linpinwu@126.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: wangxiaqing2891@126.com; pptea2006@163.com

收稿日期 Received: 2015-11-02, 接受日期 Accepted: 2016-02-16

等, 2015)。温度胁迫包括低温胁迫和高温胁迫, 是指生物对正常生存温度之外的温度反应(Kang *et al.*, 2009)。活性氧(Reactive oxygen species, ROS)是生物体在有氧代谢过程中产生的一类具有较强氧化能力的含氧物质的总称, 主要包括超氧阴离子自由基(O_2^-)、过氧化氢(H_2O_2)和羟自由基($OH^\cdot$), 以及由此而衍生的有机过氧化物自由基($O^\cdot$ 、 $ROO^\cdot$)和氢过氧化物($ROOH$)等(Livingstone, 2001)。生物体内过量的活性氧会直接作用于蛋白质、脂类和DNA, 造成氧化损伤, 最终导致细胞死亡(Droge, 2002)。温度胁迫会诱发细胞大量产生ROS对昆虫造成严重的氧化胁迫(Jia *et al.*, 2011; Kim *et al.*, 2011; 李庆等, 2012), 进而导致昆虫的存活率降低, 发育和生殖受阻, 对昆虫种群具有明显的抑制作用(杨丽红等, 2014; 李浩等, 2015)。因此, 昆虫对环境温度的适应能力也是昆虫学研究的一个倍受重视的问题。

在长期的进化过程中, 为了减少氧化胁迫, 昆虫体内形成了一整套高效的抗氧化系统, 主要包括超氧化物歧化酶(Superoxide dismutase, SOD), 过氧化物酶(Peroxidase, POD), 过氧化氢酶(Catalase, CAT)和谷胱甘肽巯基转移酶(Glutathione S-transferase, GST)等(Claravon-Mathews *et al.*, 1997; Rudneva, 1999; Dubovskiy *et al.*, 2008)。其中, SOD催化 O_2^- 发生歧化反应生成 O_2 和 H_2O_2 而清除 O_2^- (Acar *et al.*, 2001); CAT和POD均能分解 H_2O_2 , 二者共同作用将 H_2O_2 维持在较低水平(Kashiwagi *et al.*, 1997; 赵静等, 2014); GST通过清除细胞内的脂质过氧化物来降低氧化损伤(Dubovskiy *et al.*, 2008)。总抗氧化能力(Total antioxidant capacity, T-AOC)在目前被广泛用于衡量生物体内总的抗氧化能力(Meng *et al.*, 2009; Jena *et al.*, 2013; 乔利等, 2015)。对温度胁迫下昆虫抗氧化系统的研究可了解其抗氧化胁迫机制, 反映其对温度的适应能力。

茶淡黄刺蛾 *Darna trima* (Moore) 属鳞翅目Lepidoptera刺蛾科Limacodidae, 是茶园里的一种重要的害虫(张汉鹄和谭济才, 2004)。目

前在国内主要分布于我国台湾、福建、广东、广西、贵州、四川、重庆、湖南、江西、浙江、安徽等地, 国外主要分布于东南亚地区。茶淡黄刺蛾主要以幼虫为害, 以咀嚼式口器取食叶片, 形成缺刻、光秃, 严重影响茶株的光合作用, 导致茶叶产量和品质降低, 大发生时可对茶园造成毁灭性的危害; 其幼虫毒刺伤人, 严重妨碍采茶和田间管理工作。茶淡黄刺蛾以老熟幼虫在茶丛基部枯枝落叶中结茧越冬, 并在温度低于 15°C 时开始停食, 温度是影响该害虫生长发育的重要因素(沈红, 1980; 张汉鹄等, 2004; 雷仲仁等, 2014)。目前, 国内外有关茶淡黄刺蛾的报道较少, 且集中在形态特征、生物学特性(张汉鹄等, 2004)和防治技术上(沈红, 1980), 而关于温度胁迫对其抗氧化系统的影响尚未见报道。因此, 本研究通过测定茶淡黄刺蛾体内SOD、CAT、POD、GST及T-AOC在低温和高温胁迫下的活力变化, 以阐明其抗逆生理机制, 以期明确茶淡黄刺蛾的分布提供一定的参考依据。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

茶淡黄刺蛾实验种群于2015年6月采自重庆市农业科学院茶叶研究所试验基地乾丰茶场, 在室内用茶树枝叶饲养备用。室内饲养在智能人工气候箱(CX-300h, 上海将任实验设备有限公司)中进行, 温度为 $(26\pm 1)^\circ\text{C}$, 光周期L:D=14:10, 相对湿度 $(75\pm 5)\%$ 。

1.2 温度处理

分别将10头茶淡黄刺蛾的老熟幼虫放置于 -5 、 0 、 5 、 26 (对照)、 35 、 37.5 、 40°C 下处理, 处理时间分别是2、4、6 h。处理结束后置于 26°C 的智能人工气候箱中恢复2 h, 取活虫6头为一个处理, 每处理重复3次。

1.3 酶液提取

准确称取各处理活虫的重量, 按重量(g): 体积(mL)=1:9的比例加入生理盐水, 冰水浴条件下机械匀浆, 制成10%的组织匀浆, 在高

速台式冷冻离心机 (3-30K, 德国 SIGMA 公司) 4℃下离心 10 min (2 500 r/min), 取上清液即酶提取液用于测定蛋白质含量、抗氧化酶和总抗氧化能力的活力。

1.4 蛋白质含量测定

蛋白质浓度测定参照 Bradford (1976) 的方法。蛋白标准曲线制作: (1) 称取 0.02 g 牛血清蛋白, 用双蒸水定容至 200 mL, 即 100 μg/mL 牛血清蛋白溶液; (2) 取 6 只灭菌 10 mL 离心管, 分别加入 0、200、400、600、800 和 1 000 μL 上述牛血清蛋白溶液, 再分别加入 1 000、800、600、400、200 和 0 μL 的 0.05 mol/L pH 7.5 Tris-HCl, 各管混匀后加入考马斯亮蓝溶液 4 000 μL, 于 25℃条件下反应 5 min; (3) 用紫外分光光度计 (TU-1810, 北京普析通用仪器有限责任公司) 595 nm 测定, 以蛋白浓度为 0 作为对照进行调零, 测定各管的 OD 值, 重复 3 次, 取平均值; (4) 以牛血清蛋白含量为横坐标, 平均 OD 值为纵坐标, 绘制蛋白标准曲线。

样品蛋白含量测定: 将 10% 组织匀浆用生理盐水稀释到 1%。取 1% 组织匀浆 150 μL 于离心管中, 加入 850 μL Tris-HCl 混匀, 再加入 4 000 μL 考马斯亮蓝, 25℃反应 5 min。595 nm 处以蛋白浓度为 0 作为对照进行调零, 测定各管的 OD 值。通过蛋白标准曲线计算 1% 组织匀浆的蛋白浓度, 每处理样品重复 3 次, 取平均值。

1.5 抗氧化酶活性和总抗氧化能力测定

SOD、CAT、POD、GST 和 T-AOC 的活性测定均参照南京建成生物工程研究所试剂盒说明书进行。

1.6 数据统计与分析

采用 Excel 2010 和 DPS 7.05 对数据进行统计处理, 选用最小显著极差法 (LSD) 对试验数据进行显著性检验。

2 结果与分析

2.1 温度胁迫对 SOD 活性的影响

茶淡黄刺蛾的 SOD 活性在温度胁迫后的变

化情况如图 1 所示, 方差分析结果显示胁迫温度 ($F_{6,42}=36.54, P<0.01$)、胁迫时间 ($F_{2,42}=11.70, P<0.01$) 及两者的协同作用 ($F_{12,42}=4.82, P<0.01$) 均对 SOD 活性具有显著的影响。对照 26℃的 SOD 活性最低, 在各温度胁迫后其活性均有所增高, 不同胁迫时间的 SOD 活性均在 -5℃最高。胁迫 2 h 后, 仅在 -5℃处理的 SOD 活性显著高于对照, 到达顶峰 277.60 U·mg⁻¹ protein, 其他处理的 SOD 活性变化不显著。胁迫到 4 h, 在

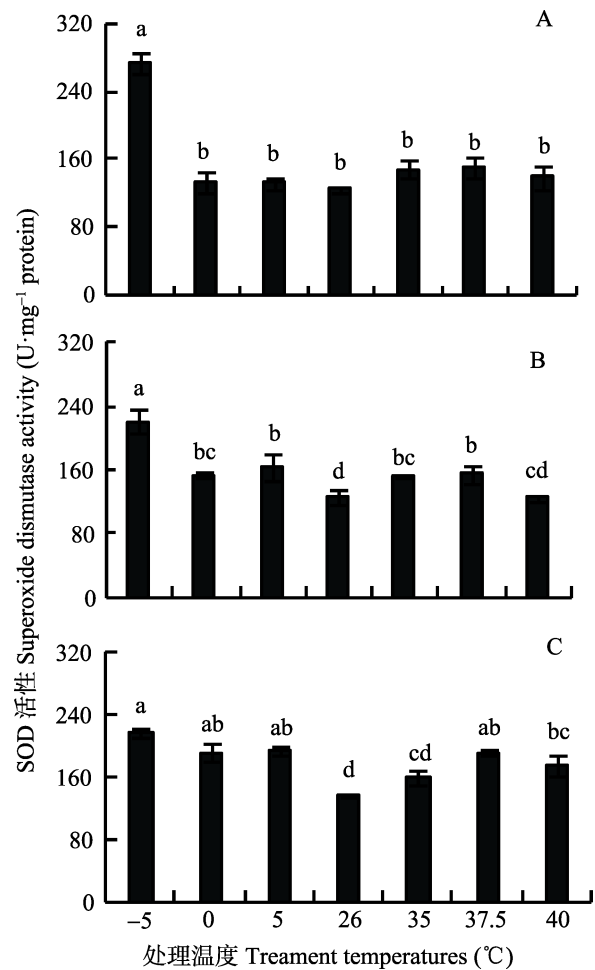


图 1 温度胁迫对 SOD 活性的影响
Fig. 1 Superoxide dismutase activity of *Darma trima* exposed to temperature stresses

26℃为对照, 柱形图数值表示平均数±SE; 柱上标有不同字母表示在 $P<0.05$ 水平差异显著 (LSD, 方差分析); A、B 和 C 分别表示温度处理 2、4、6 h。下同。

26℃ served as a control. Each value represents the mean ($\pm$ SE) of three replications. Histograms with different letters indicate significant difference at $P<0.05$ level by LSD test. A, B and C represent treatment duration of 2, 4 and 6 h, respectively. The same below.

-5℃处理后 SOD 活性有所下降但仍为最大值, 在 40℃处理后 SOD 的活性与对照差异不显著, 其他温度胁迫后活性均显著高于对照。当胁迫时间持续至 6 h, 仅在 35℃胁迫后 SOD 的活性与对照差异不显著, 其他温度胁迫后活性均显著高于对照。随着胁迫时间的延长, -5℃胁迫 4 h 和 6 h 后的活性均显著低于胁迫 2 h 后的活性, 而其他温度均在胁迫 6 h 后 SOD 活性增加达最大。

2.2 温度胁迫对 CAT 活性的影响

茶淡黄刺蛾的 CAT 活性在温度胁迫后的变化情况如图 2 所示, 方差分析结果显示胁迫温度 ($F_{6,42}=6.95, P<0.01$)、胁迫时间 ($F_{2,42}=7.34, P<0.01$) 及两者的协同作用 ($F_{12,42}=3.07, P<0.01$) 均对 CAT 活性具有显著的影响。胁迫 2 h 后, 低

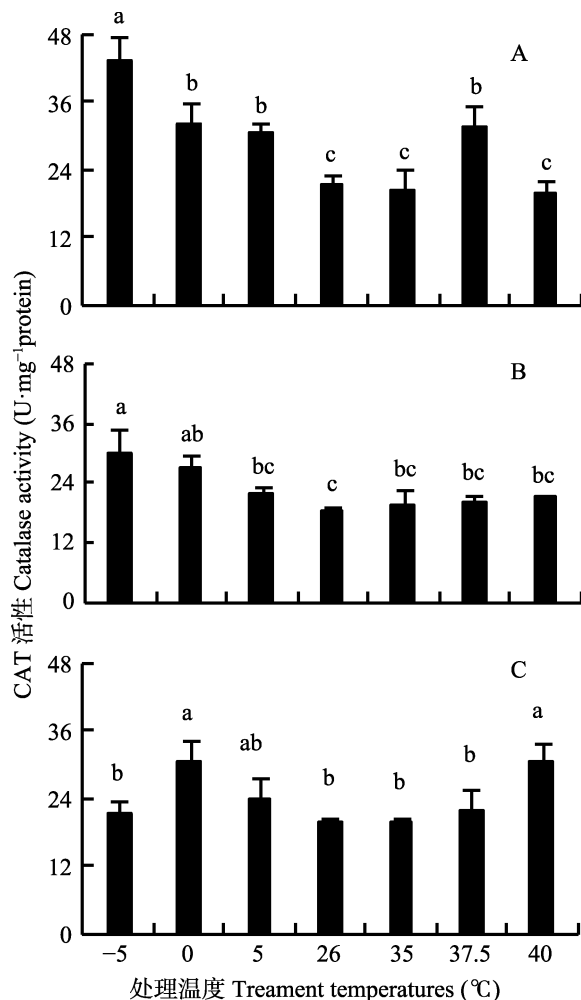


图 2 温度胁迫对 CAT 活性的影响

Fig. 2 Catalase activity of *Darna trima* exposed to temperature stresses

温区 CAT 活性均显著高于对照, 且在 -5℃达顶峰 43.35 U·mg⁻¹protein; 高温区仅 37.5℃处理的活性显著高于对照。胁迫 4 h 后, 所有处理中仅 -5℃和 0℃处理后 CAT 活性变化显著, 高于对照。当胁迫时间持续至 6 h, 0℃和 40℃胁迫后活性显著高于对照, 其他温度胁迫后 CAT 活性变化不显著。40℃随着胁迫时间延长活性有所增加, 但其他温度胁迫 4 h 和 6 h 后活性均较胁迫 2 h 后有所下降。

2.3 温度胁迫对 POD 活性的影响

茶淡黄刺蛾的 POD 活性在温度胁迫后的变化情况如图 3 所示, 方差分析结果显示胁迫温度 ($F_{6,42}=18.06, P<0.01$)、胁迫时间 ($F_{2,42}=4.23, P<0.05$) 以及两者的协同作用 ($F_{12,42}=4.74, P<0.01$)

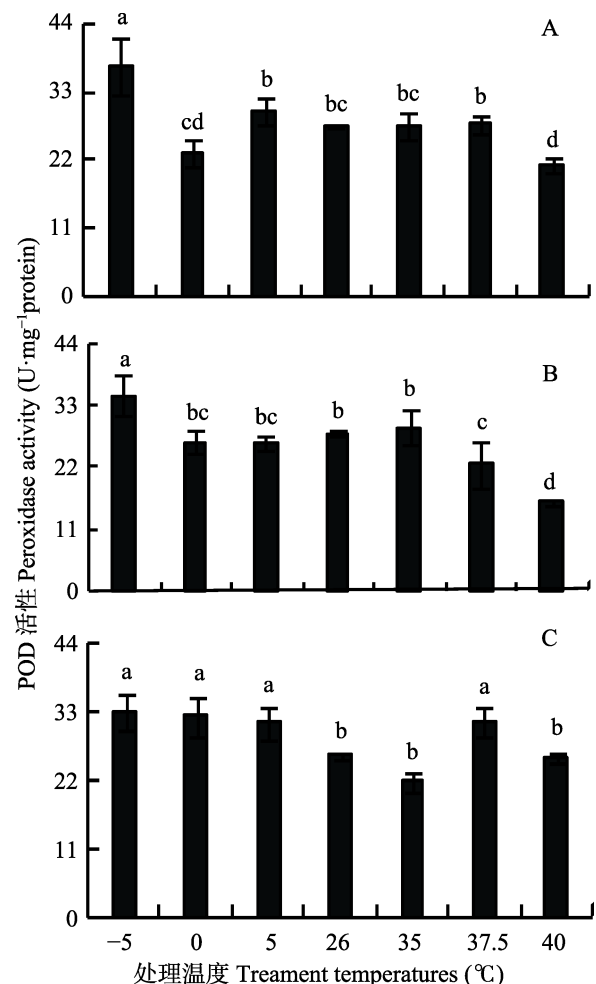


图 3 温度胁迫对 POD 活性的影响

Fig. 3 Peroxidase activity of *Darna trima* exposed to temperature stresses

均对 POD 活性具有显著的影响。胁迫 2 h 后, -5°C 处理后 POD 活性显著高于对照, 达顶峰 $277.60 \text{ U}\cdot\text{mg}^{-1}\text{protein}$, 而 40°C 处理后活性显著低于对照, 其他温度处理后活性与对照差异不显著。胁迫 4 h 后, POD 的活性在 -5°C 处理后亦显著高于对照; 高温区在 37.5°C 和 40°C 活性均显著低于对照。当胁迫时间持续至 6 h, 低温区所有温度胁迫后 POD 的活性均显著高于对照, 而高温区仅在 37.5°C 处理后活性显著高于对照。

2.4 温度胁迫对 GST 活性的影响

茶淡黄刺蛾的 GST 活性在温度胁迫后的变化情况如图 4 所示, 方差分析结果显示胁迫温度 ($F_{6, 42}=73.60$, $P<0.01$)、胁迫时间 ($F_{2, 42}=21.68$,

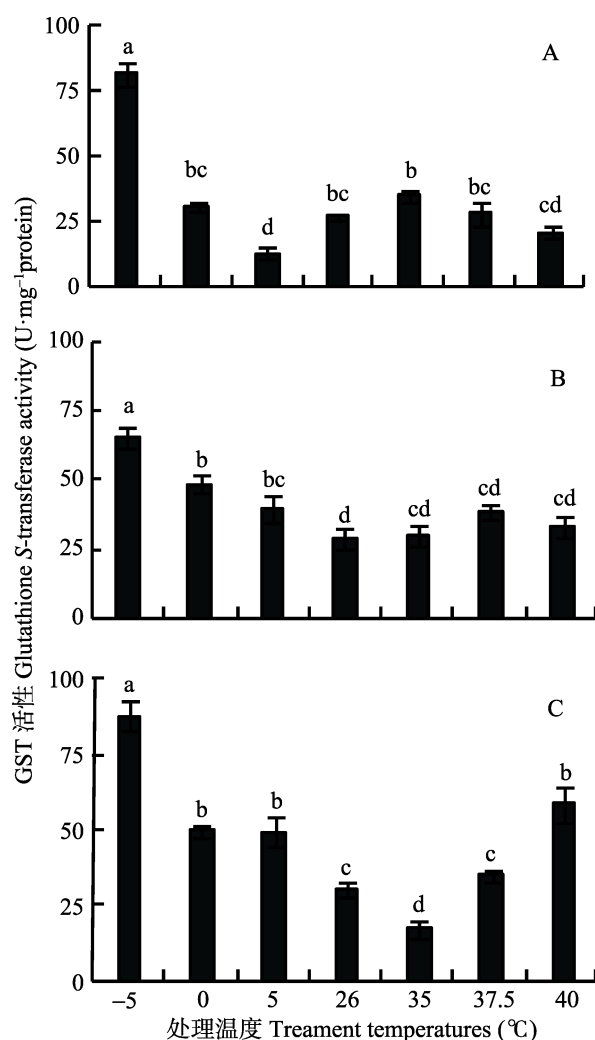


图 4 温度胁迫对 GST 活性的影响

Fig. 4 Glutathione S-transferase activity of *Darna trima* exposed to temperature stresses

$P<0.01$) 以及两者的协同作用 ($F_{12, 42}=10.50$, $P<0.01$) 均对 GST 活性具有显著的影响。胁迫 2 h 后, 低温区 GST 的活性随温度的降低呈上升的趋势, -5°C 处理后活性显著高于对照, 5°C 处理后活性显著低于对照; 高温区活性与对照均差异不显著。胁迫 4 h 后, 低温区活性均显著高于对照, 随温度的降低也呈上升的趋势; 高温区活性与对照差异不显著。当胁迫时间持续至 6 h, 在低温区的活性均显著高于对照, 且较温度胁迫 2 h 和 4 h 后有所增加, 在 -5°C 处达顶峰 $86.94 \text{ U}\cdot\text{mg}^{-1}\text{protein}$; 在高温区活性随温度增加呈上升的趋势, 在 35°C 处理后活性显著低于对照, 而 40°C 处理后活性显著高于对照。 35°C 处理 6 h 后活性较 2 h 和 4 h 后显著降低, 而 40°C 处理 6 h 后活性较 2 h 和 4 h 后显著升高。

2.5 温度胁迫对 T-AOC 活性的影响

茶淡黄刺蛾的 T-AOC 活性在温度胁迫后的变化情况如图 5 所示, 方差分析结果显示胁迫温度 ($F_{6, 42}=34.09$, $P<0.01$)、胁迫时间 ($F_{2, 42}=24.32$, $P<0.01$) 以及均两者的协同作用 ($F_{12, 42}=5.21$, $P<0.01$) 均对 T-AOC 活性具有显著的影响。胁迫 2 h 后, T-AOC 在 40°C 处理后的活性显著低于对照, 而 -5°C 和 5°C 处理后活性显著高于对照, 且 5°C 处理后达顶峰 $23.618 \text{ U}\cdot\text{mg}^{-1}\text{protein}$ 。胁迫 4 h 后, 高温区活性均显著低于对照, 低温区在 0°C 处理后也显著低于对照, 而在 -5°C 处理后显著高于对照。当胁迫时间持续至 6 h, 所有温度处理后 T-AOC 的活性均有所升高, 且在 -5 、 0 、 5 、 37.5°C 处理后均显著高于对照。

3 讨论

环境温度对昆虫生命活动影响很大, 为探索茶淡黄刺蛾在高温或低温环境下的抗氧化反应, 本研究测定了不同温度胁迫下茶淡黄刺蛾老熟幼虫的 SOD、CAT、POD、GST 及 T-AOC 的活性, 结果显示上述 5 种指标在温度胁迫下均发生了明显变化, 表明 4 种抗氧化酶及总抗氧化能力在茶淡黄刺蛾抵御温度胁迫过程中具有重要作用。

SOD 在清除由于极端温度所导致的高浓度

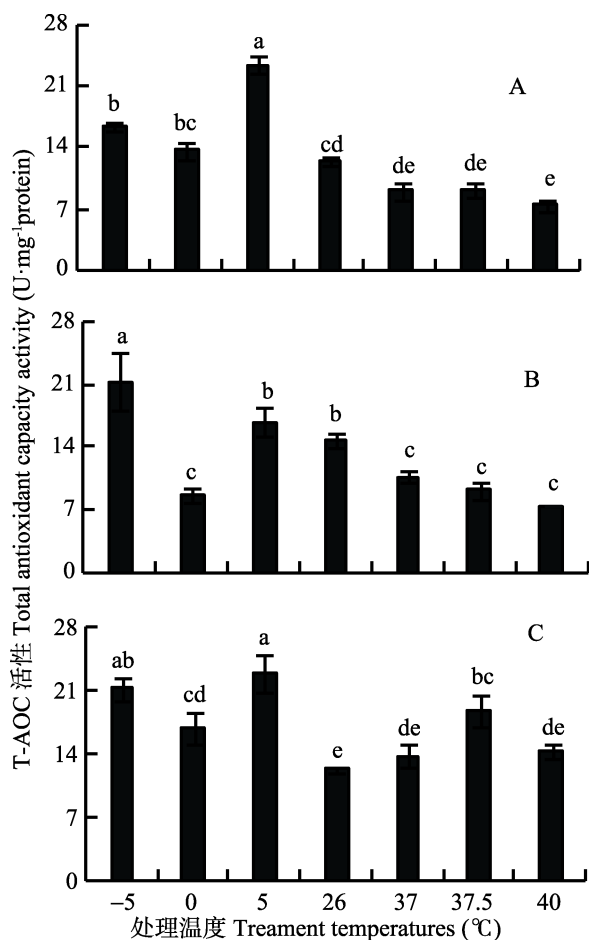


图5 温度胁迫对 T-AOC 活性的影响
Fig. 5 Total antioxidant capacity activity of *Darna trima* exposed to temperature stresses

超氧化物自由基的生理过程中发挥着重要的作用 (Celino *et al.*, 2011), 是生物体内最重要的抵御氧化胁迫的物质 (Bafana *et al.*, 2011)。本研究结果显示, 茶淡黄刺蛾的 SOD 活性在各温度胁迫后均较对照有所上升, 表明温度胁迫诱导了茶淡黄刺蛾的 SOD 活性的升高, 来分解 O_2^- , 保护机体免受活性氧的伤害, 同样的情况在桔小实蝇的研究中也有发现 (Jia *et al.*, 2011)。-5℃胁迫后 SOD 活性显著高于对照, 随着胁迫时间的延长活性先上升后下降, 同样的现象在莲草直胸跳甲的低温胁迫试验中也有发现 (曹雪, 2014)。推测可能是 -5℃胁迫短时间后虫体内产生的 O_2^- 较多, 引发体内产生较高 SOD 活性来清除大量的 O_2^- , 但随着时间延长, 产生的 O_2^- 超出了 SOD 的清除能力范围, 积累的过多的有害物质直接抑制其活性水平, 从而 SOD 活性有所下

降。其他温度胁迫下 SOD 活性在 2 h 胁迫后与对照差异不显著, 当胁迫时间延长到 4 h 和 6 h 后 SOD 活性均有所增加, 表明温度在 0~5℃和 35~40℃在短时间胁迫下对茶淡黄刺蛾的 SOD 活性影响不大, 但长时间胁迫下也会使茶淡黄刺蛾体内产生一定量的 O_2^- , 激发其 SOD 活性较高水平表达。

CAT 和 POD 均能清除昆虫体内过氧化氢 (H_2O_2), CAT 是在 H_2O_2 浓度较高时发挥作用 (Ahmad *et al.*, 1991), 而 POD 在低 H_2O_2 浓度的情况下即可发挥高效的作用 (吴启仙和夏婧, 2014), 二者共同作用将 H_2O_2 维持在较低的水平。本研究发现, CAT 活性在 -5、0、5、37.5℃处理 2 h 后显著高于对照, POD 的活性在 -5℃处理 2、4、6 h 后均显著高于对照处于较高水平, 而 CAT 在 -5℃处理 6 h 后活性较胁迫 2 h 和 4 h 后显著下降。推测可能是在低温胁迫 2 h 和 4 h 后茶淡黄刺蛾体内产生的 H_2O_2 较多, H_2O_2 浓度较高由 CAT 和 POD 共同作用清除 H_2O_2 , 西藏飞蝗受低温胁迫后也出现 POD 和 CAT 活性同时增加的现象 (李庆等, 2012)。虫体内的 H_2O_2 随着胁迫时间的延长被清除的较多, H_2O_2 浓度较低则由 POD 来分解 H_2O_2 。CAT 和 POD 活性均在 40℃胁迫 2 h 后较低而胁迫 6 h 后活性均上升, 表明茶淡黄刺蛾较为适应高温, 短时间的高温处理不能对其造成影响, 但长时间的高温会对虫体形成胁迫并引起两种酶的响应。

GST 的主要作用是通过代谢脂质过氧化物, 来减少活性氧的伤害 (Marutani-Hert *et al.*, 2010)。本研究高温胁迫 2 h 后 GST 活性与对照差异不显著, 而低温区呈现随着温度的降低活性呈上升趋势, 对西花蓟马的研究也发现 GST 活性随着温度的持续降低而逐渐增强 (史亮等, 2013)。推测可能是由于低温胁迫导致昆虫体内脂质过氧化物的积累, 诱导了 GST 的活力提高。低温区处理在胁迫 4 h 和 6 h 后活性均显著高于对照, 原因可能是随着时间延长, 低温胁迫可使脂质过氧化物的积累量增多而诱导 GST 活性增加。高温区在 4 h 后与对照差异不显著, 表明短

时高温胁迫对茶淡黄刺蛾 GST 活性影响不大。而处理 6 h 后 GST 活性随着温度上升呈增加的趋势, 35℃ 处理后活性显著低于对照, 而在 40℃ 胁迫后活性显著高于对照, 可能是随时间的延长在 35℃ 处理后脂质过氧化物产生较少但被之前较高活性 GST 分解较多, 其浓度下降, GST 活性也随之下降; 而 40℃ 胁迫后脂质过氧化物缓慢积累, 其浓度增加, 从而诱导 GST 活性上升。

T-AOC 活性测定结果显示, 虫体在 5℃ 胁迫 2 h 后, T-AOC 活性达最大, 而 SOD、POD、CAT、GST 活性均在 -5℃ 胁迫后达最大, 表明茶淡黄刺蛾体内可能还存在一些其他抗氧化物质, 如海藻糖、生育酚、热激蛋白等, 与抗氧化酶共同抵御活性氧的伤害 (Kaur *et al.*, 2009; Mahmud *et al.*, 2010; Yang *et al.*, 2010)。胁迫 2 h 和 4 h 后, 高温区活性均低于对照, 随着胁迫时间延长至 6 h 处稍高于对照, 表明高温对茶淡黄刺蛾的影响较小, 诱导的抗氧化反应也较少。

综合分析, 本试验测定结果显示茶淡黄刺蛾 SOD、CAT、POD、GST、T-AOC 均在低温胁迫尤其是低温 -5℃ 时变化显著且处于较高活性水平, 而在高温胁迫下变化较小, 推测可能与本试验样本茶淡黄刺蛾的生长环境有关。本试验样本采自于重庆市永川区, 而重庆素有“火炉”之称, 夏季炎热多伏旱, 温度 $\geq 35^{\circ}\text{C}$ 的日数达 36~50 d, 最高温度能达到 40℃ 以上 (刘代军等, 2012), 而冬季温暖, 霜、雪少见 (黄华磊等, 2015), 通过对环境的长期适应, 害虫形成较强的耐热性和较弱的耐寒性。因此, 田间茶园管理可通过冬天温度情况预测来年茶淡黄刺蛾的发生情况, 并提出针对性的防治措施。

参考文献 (References)

- Acar O, Türkan I, Özdemir F, 2001. Superoxide dismutase and peroxidase activities in drought sensitive and resistant barley (*Hordeum vulgare* L.) varieties. *Acta Physiologiae Plantarum*, 23(3): 351–356.
- Ahmad S, Duval DL, Weinhold LC, Pardini RS, 1991. Cabbage looper antioxidant enzymes: tissue specificity. *Insect Biochemistry*, 21(5): 563–572.
- Bafana A, Dutt S, Kumar A, Kumar S, Ahuja PS, 2011. The basic and applied aspects of superoxide dismutase. *Journal of Molecular Catalysis B: Enzymatic*, 68(2): 129–138.
- Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Analytical Biochemistry*, 72: 248–254.
- Cao X, 2014. Effect of different temperature on the activity of protective enzymes of *Agasicles hygophila* Selman & Vogt (Coleoptera: Chrysomelidae). Master thesis. Shanxi: Shanxi Agricultural University. [曹雪, 2014. 温度对莲草直胸跳甲保护酶系统活性的影响. 硕士学位论文. 山西: 山西农业大学.]
- Celino FT, Yamaguchi S, Miura C, Ohta T, Tozawa Y, Iwai T, Miura T, 2011. Tolerance of spermatogonia to oxidative stress is due to high levels of Zn and Cu/Zn superoxide dismutase. *PLoS ONE*, 6(2): e16938.
- Claravon-Mathews M, Summers CB, Felton GW, 1997. Ascorbate peroxidase: a novel antioxidant enzyme in insects. *Archives of Insect Biochemistry and Physiology*, 34(1): 57–68.
- Droge W, 2002. Free radicals in the physiological control of cell function. *Physiological Reviews*, 82(1): 47–95.
- Duan XF, Wang XQ, Li PW, Tian JT, Peng P, Chen SC, 2015. Effects of cold hardening on physiological indices related to cold tolerance in *Ectropis obliqua* pupae. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 52(6): 1413–1420. [段小凤, 王晓庆, 李品武, 田景涛, 彭萍, 陈世春, 2015. 冷驯化对茶尺蠖抗寒性生理指标的影响. 应用昆虫学报, 52(6): 1413–1420.]
- Dubovskiy IM, Martemyanov VV, Vorontsova YL, Rantala MJ, Gryzanova EV, Glupov VV, 2008. Effect of bacterial infection on antioxidant activity and lipid peroxidation in the midgut of *Galleria mellonella* L. larvae (Lepidoptera, Pyralidae). *Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Toxicology & Pharmacology*, 148(1): 1–5.
- Huang HL, Zhou Y, Li HM, Liu T, Liu K, Shi YM, 2015. Influence of climate change on oilseed rape production in Chongqing. *Chinese Agricultural Science Bulletin*, 31(9): 105–111. [黄华磊, 周燕, 李焕梅, 刘涛, 刘康, 石有明, 2015. 气候变化对重庆油菜生产的影响. 中国农学通报, 31(9): 105–111.]
- Jena K, Kar PK, Babu CS, Giri S, Singh SS, Prasad BC, 2013. Comparative study of total hydroperoxides and antioxidant defense system in the Indian tropical tasar silkworm, *Antheraea mylitta*, in diapausing and non-diapausing generations. *Journal of Insect Science*, 13(123): 1–11.
- Jia FX, Wei D, Hu F, Wang JJ, 2011. Effects of Thermal Stress on lipid peroxidation and antioxidant enzyme activities of oriental fruit fly, *Bactrocera dorsalis* (Diptera: Tephritidae). *Florida Entomologist*, 94(4): 956–963.
- Kang L, Chen B, Wei JN, Liu TX, 2009. Roles of thermal adaptation and chemical ecology in *Liriomyza* distribution and control. *Annual Review of Entomology*, 54: 127–145.

- Kashiwagi A, Takase M, Hanada H, Nakamura M, Kashiwagi K, 1997. Comparison of catalase in diploid and haploid *Rana rugosa* using heat and chemical inactivation techniques. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part B: Biochemistry & Molecular Biology*, 118(3): 499–503.
- Kaur G, Alam MS, Athar M, 2009. Cumene hydroperoxide debilitates macrophage physiology by inducing oxidative stress: possible protection by α -tocopherol. *Chemico-Biological Interactions*, 179(2/3): 94–102.
- Kim RO, Rhee JS, Won EJ, Lee KW, Kang CM, Lee YM, Lee JS, 2011. Ultraviolet B retards growth, induces oxidative stress, and modulates DNA repair-related gene and heat shock protein gene expression in the monogonont rotifer, *Brachionus* sp. *Aquatic Toxicology*, 101(3/4): 529–539.
- Lei ZR, Guo YY, Li SF, 2014. Catalogue of Pests on Major Crops in China. Beijing: China Agricultural Science and Technology Press. 337. [雷仲仁, 郭予元, 李世访, 2014. 中国主要农作物有害生物名录. 北京: 中国农业科学技术出版社. 337.]
- Li H, Zhou XR, Pang BP, Zhang ZR, Chang J, Shan YM, 2015. Effects of low temperature stress on the supercooling capacity and development of *Galeruca daurica* Joannis larvae (Coleoptera: Chrysomelidae). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 52(2): 434–439. [李浩, 周晓榕, 庞保平, 张卓然, 常静, 单艳敏, 2015. 低温胁迫对沙葱萤叶甲幼虫过冷却能力及生长发育的影响. 应用昆虫学报, 52(2): 434–439.]
- Li Q, Wu L, Yang G, Kuang JK, Feng CH, Luo HH, Yang QF, Jang CX, Wang HJ, 2012. Effects of temperature stress and ultraviolet radiation stress on antioxidant systems of *Locusta migratoria tibetensis* Chen. *Acta Ecologica Sinica*, 32(10): 3189–3197. [李庆, 吴蕾, 杨刚, 匡健康, 封传红, 罗怀海, 杨群芳, 蒋春先, 王海建, 2012. 温度和紫外辐射胁迫对西藏飞蝗抗氧化系统的影响. 生态学报, 32(10): 3189–3197.]
- Liu DJ, Liu JJ, Zhang L, Yang XH, He W, Peng GF, 2012. On Chongqing exhibition greenhouse plants: their ecological response to high temperature and high humidity in summer. *Journal of Southwest China Normal University (Natural Science Edition)*, 37(4): 64–69. [刘代军, 刘娟娟, 张蕾, 杨晓红, 何炜, 彭光富, 2012. 重庆夏季展览温室植物对高温高湿的生态响应研究. 西南师范大学学报(自然科学版), 37(4): 64–69.]
- Livingstone DR, 2001. Contaminant-stimulated reactive oxygen species production and oxidative damage in aquatic organisms. *Marine Pollution Bulletin*, 42(8): 656–666.
- Mahmud SA, Hirasawa T, Shimizu H, 2010. Differential importance of trehalose accumulation in *Saccharomyces cerevisiae* in response to various environmental stresses. *Journal of Bioscience and Bioengineering*, 109(3): 262–266.
- Marutani-Hert M, Hunter WB, Hall DG, 2010. Gene response to stress in the Asian citrus psyllid (Hemiptera: Psyllidae). *Florida Entomologist*, 93(4): 519–525.
- Meng JY, Zhang CY, Zhu F, Wang XP, Lei CL, 2009. Ultraviolet light-induced oxidative stress: effects on antioxidant response of *Helicoverpa armigera* adults. *Journal of Insect Physiology*, 55(6): 588–592.
- Qiao L, Qin DZ, Lu ZC, Liu XC, Lü LZ, Wu JX, 2015. Effects of temperature on survival rate and protection enzymes of *Empoasca onukii* Matsuda. *Journal of Plant Protection*, 42(2): 223–228. [乔利, 秦道正, 卢兆成, 刘祥臣, 吕立哲, 仵均祥, 2015. 温度对茶小绿叶蝉成虫存活率及保护酶系的影响. 植物保护学报. 42(2): 223–228.]
- Rudneva II, 1999. Antioxidant system of Black Sea animals in early development. *Comparative Biochemistry and Physiology-Part C: Pharmacol Toxicol Endocrinol*, 122(2): 265–271.
- Sheng H, 1980. Observation of life habit and the drug effect test summary of *Darna trima* (Moore). *Journal of Tea*, (4): 37–38. [沈红, 1980. 茶淡黄刺蛾生活习性观察及药效试验小结. 茶叶, (4): 37–38.]
- Shi L, Li HB, Jin XZ, Wang JJ, Du YZ, 2013. Effect of low temperature stress on antioxidant activity of western flower thrips, *Frankliniella occidentalis*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 50(4): 1062–1067. [史亮, 李鸿波, 金学柱, 王建军, 杜予州, 2013. 低温胁迫对西花蓟马抗氧化酶活性的影响. 应用昆虫学报, 50(4): 1062–1067.]
- Wang YM, Wu JX, Wang FH, 2010. Response of insects to extreme high and low temperature stresses. *Journal of Environmental Entomology*, 32(2): 250–255. [王艳敏, 仵均祥, 万方浩, 2010. 昆虫对极端高低温胁迫的响应研究. 环境昆虫学报, 32(2): 250–255.]
- Wu QX, Xia Q, 2014. Effect of heavy metal on antioxidant enzymes in insect. *Journal of Environmental Entomology*, 36(2): 247–251. [吴启仙, 夏婧, 2014. 重金属对昆虫抗氧化酶影响研究进展. 环境昆虫学报, 36(2): 247–251.]
- Yang LH, Huang H, Wang JJ, 2010. Antioxidant responses of citrus red mite, *Panonychus citri* (McGregor) (Acari: Tetranychidae), exposed to thermal stress. *Journal of Insect Physiology*, 56(12): 1871–1876.
- Yang LH, Huang H, Wang JJ, 2014. Effect of exposure to heat stress on survival and fecundity of *Panonychus citri*. *Scientia Agricultura Sinica*, 47(4): 693–701. [杨丽红, 黄海, 王进军, 2014. 高温胁迫对柑橘全爪螨存活及生殖的影响. 中国农业科学, 47(4): 693–701.]
- Zhang HH, Tan JC, 2004. Chinese Tea Pests and Its Non-Pollution Control. Hefei: Anhui Science and Technology Press. 216–218. [张汉鹄, 谭济才, 2004. 中国茶树害虫及其无公害防治. 合肥: 安徽科学技术出版社. 216–218.]
- Zhao J, Li S, Chen ZZ, Wang S, Xu YY, 2014. Effects of cold stress on survival and activities of several enzymes in multicolored Asian lady beetle *Harmonia axyridis* (Coleoptera: Coccinellidae) adults. *Journal of Plant Protection*, 41(5): 513–518. [赵静, 李姝, 陈珍珍, 王甦, 许永玉, 2014. 低温胁迫对异色瓢虫成虫存活及体内几种酶活力的影响. 植物保护学报, 41(5): 513–518.]