

温度对中华稻蝗小分子热休克蛋白基因表达的影响*

史学凯^{1,2,4**} 寇利花^{1,4**} 张育平³ 马恩波^{1,4} 张建珍^{1,4} 吴海花^{1,4***}

(1. 山西大学应用生物研究所, 太原 030006; 2. 山西大学生命科学学院, 太原 030006;

3. 太原师范学院生物系, 太原 030619; 4. 农业有害生物综合治理山西省重点实验室, 太原 030006)

摘要 【目的】小分子热休克蛋白 (sHSPs) 能够被环境胁迫所诱导, 不同温度可诱导中华稻蝗体内 *sHSPs* 基因表达。【方法】本文采用实时荧光定量 PCR (RT-qPCR) 技术, 分析不同温度处理后中华稻蝗 *Oxya chinensis* 体内 6 个 *OcsHSPs* 基因的表达。【结果】结果表明, *OcHSP19.1*、*OcHSP19.8*、*OcHSP20.4* 和 *OcHSP20.7* 基因的表达水平在 27、32 和 37℃ 相同处理时间没有显著变化, 但其表达量均在 42℃ 显著升高, 尤其是在 42℃ 处理后 2 h 表达量升高明显。*OcHSP21.1* 和 *OcHSP23.8* 基因的表达水平在不同温度处理后无显著变化。多因素方差分析结果表明, 基因与处理温度间具有显著的交互作用。【结论】由此可见, 温度能够对中华稻蝗 *sHSPs* 基因的表达产生影响, 但是, 不同温度处理下各基因的表达模式存在差异。

关键词 中华稻蝗, 小分子热休克蛋白, 温度, 实时荧光定量 PCR

Effects of temperature on the expression patterns of *OcsHSP* genes in *Oxya chinensis*

SHI Xue-Kai^{1,2,4**} KOU Li-Hua^{1,4**} ZHANG Yu-Ping³ MA En-Bo^{1,4}
ZHANG Jian-Zhen^{1,4} WU Hai-Hua^{1,4***}

(1. Institute of Applied Biology, Shanxi University, Taiyuan 030006, China; 2. College of Life Science, Shanxi University,

Taiyuan 030006, China; 3. Biology Department, Taiyuan Normal University, Taiyuan 030619, China;

4. Shanxi Key Laboratory of Integrated Pest Management in Agriculture, Taiyuan 030006, China)

Abstract 【Objectives】Small heat shock proteins (sHSPs) can be induced by environmental stress. Different temperatures can induce the expression of *sHSPs* genes in *Oxya chinensis*. 【Methods】The effect of temperature on the mRNA expression patterns of six *OcsHSP* genes in fifth-instar nymphs of *O. chinensis* was analyzed using Real-time quantitative PCR. 【Results】There was no significant difference in the expression levels of *OcHSP19.1*, *OcHSP19.8*, *OcHSP20.4* and *OcHSP20.7* at 27, 32 and 37℃, but expression levels significantly increased at 42℃, especially after 2 h at 42℃. There was no significant difference in the expression levels of *OcHSP21.1* and *OcHSP23.8* at different temperatures. Multiple factor analysis of variance indicated that there was a significant interaction between temperature and gene. 【Conclusion】Temperature can affect the expression of *sHSPs* genes in *O. chinensis* but different genes respond differently to temperature.

Key words *Oxya chinensis*, small heat shock protein, temperature, real-time quantitative PCR

中华稻蝗 *Oxya chinensis* 属于直翅目 属 *Oxya* Serville, 是重要的农业害虫, 在亚洲分布广泛, 主要以水稻、小麦等禾本科植物为食。

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目 (31201548); 山西省自然科学基金项目 (2013011028-3)

**第一作者 First author, E-mail: xuekaishi@163.com; koulihua1989@126.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: wuhaihua04@163.com

收稿日期 Received: 2016-03-23, 接受日期 Accepted: 2016-06-17

成虫和若虫咬食叶片、茎秆和幼芽，也咬食穗颈和乳熟的谷粒，水稻被害叶片出现缺刻，严重时稻叶被吃光（陈永林，2000），对农业生产造成严重为害。

热休克蛋白（Heat shock protein, HSP）是生物体在各种应激原刺激作用下合成的一组高度保守性的应激蛋白，该蛋白质能增强机体对多种应激原引起损伤的适应能力（樊慧杰和柴智，2013）。热休克蛋白于 1962 年首次在巴氏果蝇 *Drosophila busckii* 体内发现，随后的研究表明其广泛分布于植物、动物和微生物体内。按分子量大小可将 HSPs 分为 5 个家族（罗素娟，2010），分别为 HSP100、HSP90、HSP70、HSP60 和小分子热休克蛋白（sHSP）。小分子热休克蛋白的分子量在 12~45 ku 之间，是保守性最低的一类热激蛋白。sHSPs 是超家族蛋白，在 C-端包含一个大约 80 个氨基酸的 α 晶体结构域的保守序列（Taylor and Benjamin, 2005; Basha *et al.*, 2006）。sHSP 是极富多样性的热休克蛋白家族，与其他类型的分子伴侣不同，小分子热休克蛋白不能单独使非变性蛋白再折叠，但可以与未折叠蛋白及其他热休克蛋白组成复合物（孙爱清等，2015）。大量研究表明，不论机体处于应激状态还是正常生理状态，小分子热休克蛋白均参与生物学反应过程，例如细胞压力对抗（Liu *et al.*, 2013）、生殖细胞形成和组织器官的发育（Morrow and Tanguay, 2012）以及细胞生长和分化等（Moerman and Klein, 1997）。研究显示，小分子热休克蛋白在昆虫中广泛存在，并与昆虫的生长发育密切相关（Li *et al.*, 2009）。近年来，在黑腹果蝇 *Drosophila melanogaster*（Morrow *et al.*, 2004），家蚕 *Bombyx mori*（Li *et al.*, 2009），斜纹夜蛾 *Prodenia litura*（Gu *et al.*, 2012），中华蜜蜂 *Apis cerana cerana*（Liu *et al.*, 2014）等昆虫中均已开展了 HSP 功能研究。研究表明，黑腹果蝇线粒体中 HSP22 基因的过表达可以延长其寿命并加强其在应对氧化压力时的抵抗能力（Morrow *et al.*, 2004）。对家蚕与其他昆虫 sHSPs 基因同源序列分析表明只有一个同源簇具有物种特异性，数据显示昆虫 sHSPs 进化模式与脊椎动物不

同，为后续不同生存环境下昆虫适应性研究奠定了基础（Li *et al.*, 2009）。斜纹夜蛾 HSP70、HSP20.4 和 HSP20.8 受保幼激素诱导显著上调，蜕皮激素影响 HSP20.4 和 HSP20.8 基因水平的表达，sHSPs 超家族在昆虫发育过程起重要作用（Gu *et al.*, 2012）。对中华蜜蜂 *Apis cerana cerana* 两个小分子热休克蛋白基因特征、调控和发育表达的研究表明：热激 37°C 和 43°C 和冷激 4°C 能够诱导其表达，对 *AccHSP24.2* 基因的诱导作用较 *AccHSP23* 基因为强（Liu *et al.*, 2014）。Tisserers 于 1974 年利用 SDS 凝胶电泳技术首次证明热应激可诱导果蝇体内产生 HSP（郭虹霞等，2013），综上所述，有关热休克蛋白与热激反应已在多种生物中进行了研究，但温度对中华稻蝗 sHSP 的影响尚未见报道。因此，本研究基于中华稻蝗转录组数据库，应用实时荧光定量 PCR（RT-qPCR）技术，分析了不同温度处理后中华稻蝗体内 6 个 *OcsHSPs* 基因的表达，为深入研究中华稻蝗 sHSP 基因功能提供了理论和实验依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

2013 年 4 月于山西省太原市晋源区采集中华稻蝗蝗卵（112°5' E, 37°7' N），放入人工气候箱进行孵化（27 °C，12 h 光照/12 h 黑暗，60 % 相对湿度）。若虫孵出后，饲喂新鲜小麦苗并在上述相同的条件下生长。饲喂至 5 龄若虫后用于实验，实验期间每日以新鲜小麦苗饲喂。

1.2 主要仪器及化学试剂

高速冷冻离心机（3K-15, Sigma, 德国）；电热恒温培养箱（DHP-9082, 上海一恒科技公司）；PCR 仪（Bio-Rad, 美国）；凝胶成像系统（Gel DOC XRTM System, Bio-Rad, 美国）；NanoDrop 2000 spectrophotometer（Thermo, 美国）；实时荧光定量 PCR 仪（ABI 7300, 美国）。

本实验所用引物由英潍捷基公司合成；总 RNA 提取试剂 RNAisoTM Plus（Takara, 日本）；

M-MLV 反转录酶 (Promega, 美国); SYBR Green Mix (TOYABO, 日本)。其它试剂购自 Promega 和 Takara 公司。

1.3 不同温度处理中华稻蝗

依据中华稻蝗生活环境水稻田的平均温度 (30°C), 设置 27、32、37、42°C 4 个温度梯度。选取大小均一、活力良好的中华稻蝗 5 龄若虫, 每组 15 头雄虫和 15 头雌虫, 设置 3 个生物学重复。不同温度处理 1 h 和 2 h 后分别取样, 每个生物学重复取 5 头雄虫和 5 头雌虫整虫, 经液氮冷冻后立即置于 -80°C 冰箱中保存作为实验材料。

1.4 总 RNA 的提取、纯化及 cDNA 合成

RNA 提取参照 RNA 提取试剂盒 RNAiso™ Plus 说明书进行。RNA 提取时将雌雄虫整虫混合研磨。总 RNA 的完整性用 1.5% 琼脂糖凝胶电泳检测, 总 RNA 纯度用 NanoDrop 2000 spectrophotometer 检测并进行定量。第一链 cDNA 用 M-MLV Reverse Transcriptase 试剂合成, 详细步骤参考说明书。

1.5 荧光定量 PCR 检测及数据分析

采用实时荧光定量 PCR 技术分析不同温度处理后 6 个 *OcsHSPs* 基因在中华稻蝗的表达。6 个 *sHSP* 基因分别为 *OcHSP19.1*、*OcHSP19.8*、*OcHSP20.4*、*OcHSP20.7*、*OcHSP21.1* 和 *OcHSP23.8*, GenBank 检索号分别为: KJ746486、KJ746487、

KJ746488、KJ746489、KJ746490 和 KJ746491。实时荧光定量 PCR 采用 SYBR Green 法在 Real time 7300 PCR 仪上检测, 以 β -actin 为内参基因, 以 20 倍稀释的 cDNA 为模板, 特异性扩增使用熔解曲线验证。反应参数: 94°C 预变性 15 s, 94°C 变性 15 s, 60°C 退火加延伸 31 s, 40 个循环。实时荧光定量 PCR 反应体系为 20 μ L, 包括: 10 μ L 的 2 $\times$ SYBR master mix, 2 μ L 20 倍稀释的 cDNA 模板, 0.8 μ L 基因特异性引物 (所用引物参考寇利花等 (2015) 及 Kou 等 (2016) 和 6.4 μ L 无菌去离子水。所有实验设 3 个生物学重复, 每个生物学重复有 2 个技术重复。采用 $2^{-\Delta\Delta Ct}$ 法进行数据处理, 以平均值 $\pm$ 标准误 (Mean $\pm$ SE) 表示, 并用 SPSS16.0 软件进行 ANOVA 分析和多重比较 (Tukey 法)。

2 结果与分析

2.1 不同温度对中华稻蝗 *OcHSP20.4* 和 *OcHSP20.7* 基因表达的影响

图 1 为不同温度处理后中华稻蝗 *OcHSP20.4* 和 *OcHSP20.7* 基因表达量的变化。从图 1 中可以看出, *OcHSP20.4* 和 *OcHSP20.7* 基因的表达水平在 27、32、37°C 处理相同时间后均无显著差异, 这 3 个温度处理不同时间也无显著变化, 但其表达量都在 42°C 出现显著升高, 处理后 2 h 的表达量显著高于 1 h 的表达量, 42°C 处理 2 h 的表达量分别是处理 1 h 的 2.11 倍和 2.44 倍。

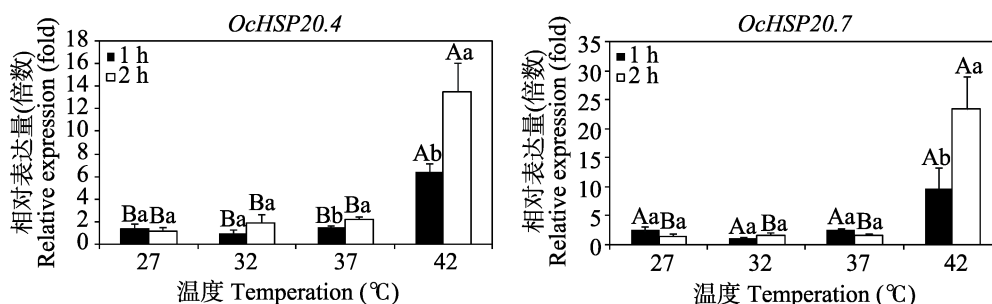


图 1 温度对中华稻蝗 *OcsHSPs20.4* 和 *OcHSP20.7* 基因表达的影响

Fig. 1 Effects of temperature on the expression levels of *OcsHSP20.4* and *OcHSP20.7* genes in *Oxya chinensis*

结果为 3 个生物学重复 ($n=3$) 的平均值, 记为平均值 $\pm$ 标准差。不同大写字母表示相同时间不同温度处理间差异显著, 不同小写字母表示同一温度不同处理时间的差异显著 ($P<0.05$)。下图同。

Each value of different part is the mean $\pm$ SD of three replicate. Histograms with capital letters indicate significant difference between different temperatures, while small letters indicate significant difference between different time ($P<0.05$). The same below.

2.2 不同温度对中华稻蝗 *OcHSP19.1* 和 *OcHSP19.8* 基因表达的影响

图2为不同温度处理后中华稻蝗 *OcHSP19.1* 和 *OcHSP19.8* 基因表达量的变化。从图2中可以看出,当相同温度不同时间处理后,中华稻蝗 *OcHSP19.1* 和 *OcHSP19.8* 基因的表达水平均无显著差异,而当同一时间不同温度处理后中华稻蝗 *OcHSP19.1* 和 *OcHSP19.8* 基因在 27、32、37℃ 这3个温度处理间无显著变化,但其表达量都在 42℃ 出现显著升高,其中 *OcHSP19.1* 基因经 42℃ 处理 1 h 和 2 h 分别是经 27℃ 处理的 10.39 倍和 17.38 倍; *OcHSP19.8* 基因 42℃ 处理 1 h 和 2 h 分别是经 37℃ 处理的 5.17 倍和 5.65 倍。

2.3 不同温度对中华稻蝗 *OcHSP21.1* 和 *OcHSP23.8* 基因表达的影响

图3为不同温度处理不同时间后中华稻蝗 *OcHSP21.1* 和 *OcHSP23.8* 基因表达的变化。

从图3中可以看出, *OcHSP21.1* 和 *OcHSP23.8* 基因的表达水平在不同温度处理后无显著变化,其表达水平在不同时间处理后也无明显差异。

2.4 多因素方差分析

经不同温度处理后中华稻蝗体内 *OcsHSPs* 基因表达的多因素方差分析结果见表1。从表1中可以看出,温度对中华稻蝗体内 *OcsHSPs* 基因的表达具有极显著的影响 ($P<0.001$),处理时间对中华稻蝗体内 *OcsHSPs* 基因的表达具有显著的影响 ($P<0.05$)。基因×温度之间有极显著的交互作用 ($P<0.001$),基因×时间、温度×时间、基因×温度×时间之间无明显交互作用。

3 讨论

自然界中昆虫种类繁多、数量庞大,这与其对各种外界环境条件的高度适应性相关。已有学者对温度、光周期、降水、UVB、CO 和 CO₂ 等因素对植食性昆虫的影响进行研究,结果表明温度是决定草食性昆虫数量和分布的重要因素,温度直接影响草食性昆虫的生存状态和种群数量等 (Bale *et al.*, 2002)。当外界环境温度高于或低于昆虫的适宜生存环境,昆虫可通过采用不同行为方式以躲避极端温度,或改变自身的生理结

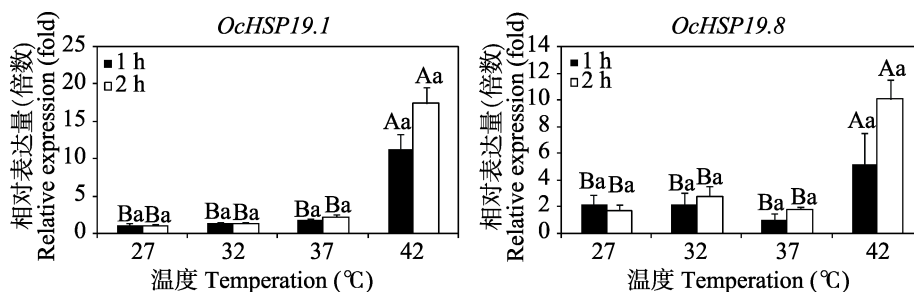


图2 温度对中华稻蝗 *OcsHSP19.1* 和 *OcsHSP19.8* 基因表达的影响

Fig. 2 Effects of temperature on the expression levels of *OcsHSP19.1* and *OcsHSP19.8* genes in *Oxya chinensis*

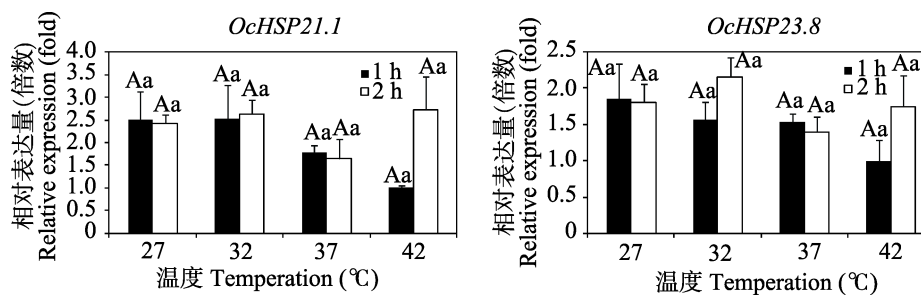


图3 温度对中华稻蝗 *OcsHSP21.1* 和 *OcsHSP23.8* 基因表达的影响

Fig. 3 Effects of temperature on the expression level of *OcsHSP21.1* and *OcsHSP23.8* genes in *Oxya chinensis*

表 1 中华稻蝗体内 *OcsHSPs* 基因经温度处理多因素方差分析结果
Table 1 ANOVA results of *OcsHSP* gene expression of *Oxya chinensis* after temperature treatment

方差来源 Source	III型的平方和 Type III sum of squares	自由度 Degrees of freedom	均方 Mean square	<i>F</i> 值 The value of <i>F</i>	<i>P</i> 值 The value of <i>P</i>
修正模型 Corrected model	632.637 ^a	47	13.460	36.090	0.000
截距 Intercept	56 856.792	1	56 856.792	152 442.706	0.000
基因 Gene	452.606	5	90.521	242.703	0.000
温度 Temperature	88.997	3	29.666	79.539	0.000
时间 Time	2.153	1	2.153	5.773	0.018
基因×温度 Gene×Temperature	82.107	15	5.474	14.676	0.000
基因×时间 Gene×Time	1.838	5	0.368	0.985	0.431
温度×时间 Temperature×Time	0.236	3	0.079	0.211	0.888
基因×温度×时间 Gene×Temperature×Time	4.700	15	0.313	0.840	0.631
误差 Error	35.805	96	0.373		
总离差 Total deviation	57 525.235	144			
校正总离差 Corrected total deviation	668.443	143			

a: $R^2=0.862$ (调整 $R^2=0.920$)。
a: $R\text{ Squared}=0.946$ (Adjusted $R\text{ Squared}=0.920$)。

构以忍受环境条件的变化 (Hoffmann and Parsons, 2012)。当外界环境发生变化时, 生物体内的重要的反应之一是合成热休克蛋白, 其能够对受外界压力破坏的蛋白进行重新折叠, 从而降低外界压力对生物体的伤害 (Sørensen *et al.*, 2003)。

本文中华稻蝗小分子热休克蛋白基因 *OcHSP19.1*、*OcHSP19.8*、*OcHSP20.4* 和 *OcHSP20.7* 基因都在高温处理后出现显著高表达, 可能与昆虫机体的自我保护机制有关, 在高温时机体可迅速合成大量热休克蛋白以保护机体避免高温伤害。研究发现, 小菜蛾绒茧蜂 *Cotesia vestalis* *CvHsp40*、*CvHsc70*、*CvHsp70* 和 *CvHsp90* 基因能够被高温诱导, 尤其是 *CvHsp40* 基因在 37℃ 和 42℃ 的表达水平显著升高, 可能是由于高温诱导热休克蛋白基因的表达升高以抵御外界高温对生物体的危害 (Shi *et al.*, 2013)。本文研究结果与小菜蛾绒茧蜂中的研究结果类似。

不同温度处理后中华稻蝗 *OcHSP21.1* 和 *OcHSP23.8* 基因的表达水平无明显变化, 表明在中华稻蝗体内不同的热休克蛋白功能存在差异,

推测这两个蛋白可能在温度的胁迫下不发挥作用, 而由其他热休克蛋白代偿。有学者采用从 - 11℃ 到 42℃ 的 19 个逐渐升高的不同温度处理二化螟 *Chilo suppressalis*, 发现 *Cshsp21.4* 和 *Cshsp21.7a* 这两个基因的表达水平基本无变化, 分析认为可能是由于二化螟体内其他 *sHSPs* 基因参与了抵抗外界压力, 如 *Cshsp19.8* 和 *Cshsp21.7b* 基因在高温时表达水平显著升高, 从而代偿了 *Cshsp21.4* 和 *Cshsp21.7a* 基因的功能 (Lu *et al.*, 2013)。本文研究结果与二化螟中 *Cshsp21.4* 和 *Cshsp21.7a* 基因的研究结果相似。

在植物中也有类似的研究结果, 如刚毛怪柳 *Tamarix hispida* 中 9 个 *HSPs* 基因在不同温度处理时, 其表达情况也不相同, *ThsHSP2* 基因的表达水平随着温度的升高呈现明显的上升趋势, 可能是对高温环境的适应; 而不同温度处理后 *ThsHSP3* 和 *ThsHSP4* 基因的表达水平无明显变化, 可能是由于机体内其他 *HSPs* 基因或其他系统发挥作用以抵御外界温度的变化 (Yang *et al.*, 2014)。

最近的一些研究发现,生物体 sHSPs 对压力的反应及其表达水平变化的调节有助于机体耐热性的提高,如小菜蛾绒茧蜂在 27°C 时 sHSPs 基因表达水平明显低于其他温度,因为该物种适于生存的春秋季节较短,平均温度在 27°C,长期生存于该温度条件,机体产生了耐热性,从而 sHSPs 基因表达水平降低 (Queitsch *et al.*, 2002; Sørensen *et al.*, 2003; Shi *et al.*, 2013)。

综上所述,不同温度处理下中华稻蝗 6 个 *OcsHSPs* 基因的表达式有所差异。中华稻蝗热休克蛋白基因 *OcHSP19.1*、*OcHSP19.8*、*OcHSP20.4* 和 *OcHSP20.7* 基因均在高温处理后出现显著高表达,可能与昆虫机体的自我保护机制有关,在高温时机体可迅速合成大量热休克蛋白以保护机体免受高温伤害。由多因素方差分析结果可知,中华稻蝗体内 *OcHSP19.1*、*OcHSP19.8*、*OcHSP20.4*、*OcHSP20.7*、*OcHSP21.1* 和 *OcHSP23.8* 6 个 *OcsHSPs* 基因在抵抗温度变化时存在极显著的交互作用,表明其基因表达量之间的相互关联,且各基因具有特定的表达模式。今后本课题组将进一步从转录调控水平开展工作,以深入揭示中华稻蝗小分子热休克蛋白的生物学功能。

4 结论

中华稻蝗 6 个 *OcsHSPs* 基因在不同温度下的应答反应不同。高温时热休克蛋白基因 *OcHSP19.1*、*OcHSP19.8*、*OcHSP20.4* 和 *OcHSP20.7* 的表达升高,可能参与抵御外界高温对生物体的危害。热休克蛋白基因 *OcHSP21.1* 和 *OcHSP23.8* 随温度的变化而表达量没有发生明显影响,可能由于机体内其他基因或者其他系统起作用以代偿其功能。研究发现,不同温度处理后中华稻蝗 6 个 *OcsHSPs* 基因在体内具有不同的表达模式,这 6 个 *OcsHSPs* 基因经不同温度处理后的表达量存在极显著的交互作用,显示不同的 *OcsHSPs* 基因对温度变化的应答反应具有差异。

参考文献 (References)

Bale JS, Masters GJ, Hodkinson ID, Awmack C, Bezemer TM,

Brown VK, 2002. Herbivory in global climate change research: direct effects of rising temperature on insect herbivores. *Global Change Biology*, 8(1): 1–16.

Basha E, Friedrich KL, Vierling E, 2006. The N-terminal arm of small heat shock proteins is important for both chaperone activity and substrate specificity. *The Journal of Biological Chemistry*, 281(52): 39943–39952.

Chen YL, 2000. The characteristics causes and biological treatment of the locust disaster. *Bulletin of Biology*, 35(7): 1–5. [陈永林, 2000. 蝗虫灾害的特点、成因和生物学治理. 生物学通报, 35(7): 1–5.]

Fan HJ, Chai Z, 2013. Small molecular heat shock protein and ischemic heart disease. *Progress in Physiological Sciences*, 44(5): 395–398. [樊慧杰, 柴智, 2013. 小分子热休克蛋白与缺血性心脏病. 生理科学进展, 44(5): 395–398.]

Gu J, Huang LX, Shen Y, Huang LH, Feng QL, 2012. Hsp70 and small Hsps are the major heat shock protein members involved in midgut metamorphosis in the common cutworm, *Spodoptera litum*. *Insect Molecular Biology*, 21(5): 535–543.

Guo HX, Wang CY, Zhao L, Wang LJ, Wang J, Hou YJ, Guo JX, 2013. Research progress of small heat shock protein. *Journal of Shanxi Agricultural Sciences*, 41(12): 1421–1423. [郭虹霞, 王创云, 赵丽, 王陆军, 王晋, 侯雅静, 郭晶心, 2013. 小分子热激蛋白的研究进展. 山西农业科学, 41(12): 1421–1423.]

Hoffmann AA, Parsons PA, 1991. Evolution and physiology. (Book Reviews: Evolutionary Genetics and Environmental Stress.). *Science*, 254: 448–449.

Huang LH, Wang CA, Kang L, 2009. Cloning and expression of five heat shock protein gene in relative to cold hardening and development in the leafminer, *Liriomyza sativa*. *Journal of Insect Physiology*, (55): 279–285.

Kou LH, Wu HH, Liu YM, Zhang YP, Guo YP, Ma EB, 2015. Expression analysis of *OcsHSP* genes in testis and ovary of *Oxya chinensis* exposed to acute cadmium. *Journal of Agro-Environment Science*, 34(1): 7–14. [寇利花, 吴海花, 刘耀明, 张育平, 张建珍, 郭亚平, 马恩波, 2015. 镉急性染毒对中华稻蝗精卵巢小分子热休克蛋白基因表达的影响. 农业环境科学, 34(1): 7–14.]

Kou LH, Wu HH, Liu YM, Zhang YP, Zhang JZ, Guo YP, Ma EB, 2016. Molecular characterization of six small heat shock proteins and their responses under cadmium stress in *Oxya chinensis* (Orthoptera: Acridoidea). *Environmental Entomology*, 45(1): 258–267.

Li ZW, Li X, Yu QY, Xiang ZH, Kishino H, Zhang Z, 2009. The

- small heat shock protein (sHSP) genes in the silkworm, *Bombyx mori*, and comparative analysis with other insect sHSP genes. *BMC Evolutionary Biology*, 9(1): 1–14.
- Liu QN, Zhu BJ, Dai LS, Fu WW, Lin KZ, Liu CL, 2013. Overexpression of small heat shock protein 21 protects the Chinese oak silkworm *Antheraea pernyi* against thermal stress. *Journal of Insect Physiology*, 59(8): 848–854.
- Liu ZH, Yao PB, Guo XQ, Xu BH, 2014. Two small heat shock protein genes in *Apis cerana cerana*: characterization, regulation, and developmental expression. *Gene*, 545(2): 205–214.
- Lu MX, Hua J, Cui YD, Du YZ, 2013. Five small heat shock protein genes from *Chilo suppressalis*: characteristics of gene, genomic organization, structural analysis, and transcription profiles. *Cell Stress and Chaperones*, 19(1): 1–14.
- Luo SJ, 2010. Cloning and analysis of small heat shock gene Hsp23.7 from *Bombyx mori*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 47(3): 467–471. [罗素娟, 2010. 家蚕小热激蛋白家族成员 HSP23.7 基因的克隆与分析. *昆虫知识*, 47(3): 467–471.]
- Moerman AM, Klein C, 1997. Developmental regulation of Hsp32, a small heat shock protein in *Dictyostelium discoideum*. *Experimental Cell Research*, 237(1): 149–157.
- Morrow G, Tanguay RM, 2012. Small heat shock protein expression and functions during development. *The International Journal of Biochemistry & Cell Biology*, 44(10): 1613–1621.
- Morrow G, Samson M, Michaud S, Tanquay RM, 2004. Overexpression of the small mitochondrial Hsp22 extends *Drosophila* life span and increases resistance to oxidative stress. *FASEB Journal*, 18(3): 598–599.
- Queitsch C, Sangster TA, Lindquist S, 2002. Hsp90 as a capacitor of phenotypic variation. *Nature*, 417(6889): 618–624.
- Shi M, Wang YN, Zhu N, Chen XX, 2013. Four heat shock protein genes of the endoparasitoid wasp, *Cotesia vestalis*, and their transcriptional profiles in relation to developmental stages and temperature. *PLoS ONE*, 8(3): 1–10.
- Sun AQ, Ge SJ, Dong W, Shan XD, Dong ST, Zhang JD, 2015. Cloning and function analysis of small heat shock protein gene *ZmHSP17.7* from maize. *Acta Agronomica Sinica*, 41(3): 414–421. [孙爱清, 葛淑娟, 董伟, 单晓笛, 董树亭, 张杰道, 2015. 玉米小分子热激蛋白 *ZmHSP17.7* 基因的克隆与功能分析. *作物学报*, 41(3): 414–421.]
- Sørensen JG, Kristensen TN, Loeschcke V, 2003. The evolutionary and ecological role of heat shock protein. *Ecology Letters*, 6(11): 1025–1037.
- Taylor RP, Benjamin IJ, 2005. Small heat shock proteins: a new classification scheme in mammals. *Journal of Molecular and Cellular Cardiology*, 38(3): 433–444.
- Yang GY, Wang YC, Zhang KM, Gao CQ, 2014. Expression analysis of nine small heat shock protein genes from *Tamarix hispida* in response to different abiotic stresses and abscisic acid treatment. *Molecular Biology Reports*, 41(3): 1279–1289.