应用昆虫学报 *Chinese Journal of Applied Entomology* 2019, 56(4): 687–693. DOI: 10.7679/j.issn.2095–1353.2019.079

温度胁迫对腐食酪螨抗氧化能力的影响*

王 静[1**] 阙生全[2**] 奚剑飞[1] 邹志文[1] 辛天蓉[1] 夏 斌[1***]

（1. 南昌大学生命科学学院，南昌 330031；2. 江西省林业科学院，南昌 330013）

摘 要 **【目的】** 以储藏物主要害螨腐食酪螨 *Tyrophagus putrescentiae*（Schrank）为研究对象，采用温度胁迫处理，探讨其体内抗氧化系统对不同温度胁迫的响应机制。**【方法】** 采用低温（0、5、10、15、20 ℃）、常温（25 ℃）、高温（30、33、36、39、42 和 45 ℃）胁迫处理 1、2、3 h 后，测定腐食酪螨超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化物酶（POD）和谷胱甘肽-*S*-转移酶（GSTs）3 种酶的活力以及总抗氧化（T-AOC）能力和丙二醛（MDA）含量的变化。**【结果】** 腐食酪螨 3 种抗氧化酶的活力、总抗氧化能力和 MDA 含量变化都与胁迫温度和时间密切相关；无论低温还是高温胁迫，SOD 酶和 GSTs 酶活性较对照组均显著增加，说明它们在清除活性氧（ROS）过程中发挥着重要作用。**【结论】** 温度胁迫对腐食酪螨有重要作用，可提高其抗氧化酶活力。

关键词 腐食酪螨；温度胁迫； 抗氧化酶活力

Effect of temperature stress on the antioxidant capacity of *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank)

WANG Jing[1**] QUE Sheng-Quan[2**] XI Jian-Fei[1] ZOU Zhi-Wen[1]
XIN Tian-Rong[1] XIA Bin[1***]

(1. School of Life Sciences, Nanchang University, Nanchang 330031, China;
2. Jiangxi Academy of Forestry, Nanchang 330013, China)

Abstract **[Objectives]** To investigate the antioxidant system of the storage pest mite *Tyrophagus putrescentiae* under different temperature stress treatments. **[Methods]** The activity of superoxidedismutase (SOD), peroxidase (POD), glutathione-*S*-transferase (GSTs), total antioxidant (T-AOC) capacity and malondialdehyde (MDA), were measured after 1, 2 and 3 hours exposure to low (0, 5, 10, 15, 20 ℃), control (25 ℃), or high (30, 33, 36, 39, 42, 45 ℃), temperatures. **[Results]** The activities of all three antioxidant enzymes, total antioxidant capacity and MDA content were closely related to both temperature and the duration of exposure. SOD enzyme and GSTs increased significantly under the low and high temperature treatments, indicating that temperature plays an important role in eliminating ROS. **[Conclusion]** The activity of antioxidant enzymes in *T. putrescentiae* were affected by temperature stress.

Key words *Tyrophagus putrescentiae*; temperature stress; antioxidant enzyme activity

腐食酪螨 *Tyrophagus putrescentiae*（Schrank）隶属于蛛形纲 Arachnida、蜱螨亚纲 Acari、疥螨亚目 Sarcoptiformes、粉螨科 Acaridae（Krantz and Walter, 2009），该螨是世界性害螨，国内主要分布云南、福建、西藏、河南、四川、江西、台湾等地，国外主要分布于荷兰、俄罗斯、美国、新西兰等地；腐食酪螨食性杂，危害各种储藏物，其尸体、排泄物及代谢物等污染各种储藏物（王

*资助项目 Supported projects：江西省主要学科学术带头人项目（20172BCB22004）；国家自然科学基金（NSFC-31760621, 31860601）；江西省自然科学基金（20161ACB20003，20181BAB204005）；江西省教育厅项目（GTT14167）

**共同第一作者 Co-first authors，E-mail：451641824@qq.com；503738991@qq.com

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：xiabin9@163.com

收稿日期 Received：2019-04-13；接受日期 Accepted：2019-06-15

慧勇和李朝品，2005），降低谷物的发芽率，影响粮食的品质；还能传播各种致病菌，危害人体健康（李朝品，2002）。

温度是影响储藏物害虫腐食酪螨生长发育与繁殖的重要生态因子。研究表明，腐食酪螨适宜的温度范围为 23-30 ℃，36 ℃以上高温不利于其生长与繁殖，42 ℃以上死亡率高（Yang *et al.*，2013）；当温度增加至 45 ℃时，该螨逐渐死亡，在 55.5 ℃下仅处理 8 min 该螨全部死亡（于晓和范青海，2002）。

温度变化会影响昆虫（螨）生长及体内新陈代谢，还伴随着氧化应激反应（Hazel, 1995），机体内产生的氧应激反应破坏活性氧（Reactive oxygen species, ROS）浓度平衡，短时间内产生大量的 ROS，形成自由基，导致脂类、蛋白质、核酸等生物大分子受到损伤，进而使细胞受到威胁（Diano，2013；Drougard *et al.*，2015），在长期进化过程中，昆虫（螨）体内有一套高效抗氧化系统来减轻自由基胁迫。这个系统主要包括过超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化物酶（POD）、过氧化氢酶（CAT）和谷胱甘肽-*S*-转移酶（GSH-ST）等（Yang *et al.*，2010；Yang，2011；Zhang *et al.*，2015）。SOD 清除自由基 O^{2-}形成 O_2 和 H_2O_2，CAT 和 POD 具有分解 H_2O_2 能力（Ma *et al.*，2012）；昆虫（螨）通过这 3 种酶协调作用，将 ROS 维持在低浓度水平，防止机体受到毒害。GSTs 是一种清除脂质过氧化物和氢过氧化物的抗氧化剂（Parkes *et al.*，1993）。有机体总抗氧化能力则可通过测定 T-AOC 的含量来反映（Yang *et al.*，2010）；丙二醛（MDA）是脂质过氧化最重要的产物之一，通过其浓度可衡量脂质损伤程度（Ju *et al.*，2014）。

目前国内外对腐食酪螨的研究主要集中在生物学特性、季节动态、防治、分子进化及抗原机制等方面，温度胁迫对腐食酪螨抗氧化系统的影响尚不明确。本研究以腐食酪螨为实验材料，以 25 ℃为对照，0-45 ℃低温、高温共 11 个温度梯度下，测定了超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化物酶（POD）、谷胱甘肽-*S*-转移酶（GSTs）3 种酶的活力以及总抗氧化（T-AOC）能力和丙二醛含量的变化及体内抗氧化系统的响应，为了解高温、低温胁迫下腐食酪螨生理生化反应机制奠定基础。

1 材料与方法

1.1 供试虫源

腐食酪螨实验种群于 2012 年 10 月采集于江西南昌市新建县望城饲料加工厂，进行形态鉴定（Fan and Zhang，2007），以新鲜麦麸为饲料，在智能人工气候箱（RXZ，宁波东南仪器有限公司）中进行饲养，温度（26±1）℃，相对湿度 75%-80%，黑暗条件。

1.2 温度胁迫下腐食酪螨的抗氧化酶活力测定

1.2.1 温度胁迫处理　每个处理组挑取腐食酪螨 2-3 日龄雌成螨 400 头，置于 1.5 mL 带微孔封口离心管内，置于低温（0、5、10、15、20 ℃）和高温（30、33、36、39、42、45 ℃）下处理 1、2、3 h。以 25 ℃为对照，每组重复 3 次。

1.2.2 酶液提取　将温度胁迫处理过的腐食酪螨雌成螨转移至 2 mL 的玻璃匀浆器中，加入 200 μL 0.05 mol/L pH 7.0 PBS 缓冲液，冰浴匀浆后，将匀浆液在高速冷冻离心机（5417R，德国 Eppendorf 公司）4 ℃，4 000 r/min，离心 15 min，所得上清液就是酶提取液。

1.2.3 蛋白质含量测定　参考 Bradford（1976）方法，对蛋白质进行提取和测定。在可见光波长为 595 nm 下读出 OD 值，重复测量 3 次。根据蛋白质含量和 OD 值制作蛋白质标准曲线。

1.2.4 抗氧化酶活性和总抗氧化能力的测定　超氧化物歧化酶（SOD）、过氧化物酶（POD）和谷胱甘肽-*S*-转移酶（GSTs）的活性、总抗氧化（T-AOC）能力及丙二醛（MDA）含量测定参照南京建成生物工程研究所试剂盒说明书进行。

1.3 数据统计与分析

运用 SPSS22.0 软件对数据进行单因素方差分析（One-way ANOVA，$P<0.05$）。

2　结果与分析

2.1　温度胁迫对 SOD 活性的影响

温度胁迫后，腐食酪螨体内的 SOD 酶活性变化如图 1 所示。结果分析表明，温度胁迫显著影响腐食酪螨 SOD 酶活性（$F_{11,107}$=118.72，P<0.05），处理组 SOD 酶活性普遍显著高于对照组；在高温组和低温组中，均随着温度的升高，SOD 酶活性均逐渐升高。相同温度胁迫 2 h 时随着胁迫时间的增加 SOD 酶的活性也升高；胁迫 3 h 后，SOD 的酶活并无显著变化。低温处理下随着处理时间的延长，SOD 酶活性逐渐升高，在 42 ℃和 45 ℃时，随着处理时间延长，SOD 酶活性逐渐降低。

2.2　温度胁迫对 POD 活性的影响

温度胁迫后，腐食酪螨体内的 POD 酶活性变化如图 2 所示，可以看出，温度胁迫对腐食酪螨 POD 酶活性有显著性差异（$F_{11,107}$=107.39，P<0.05），其中 30 ℃处理时 POD 酶活性最强，是 25 ℃的 1.98 倍，其次为 20、33、36 ℃处理组。随着处理时间的延长，0-15 ℃处理组 POD 酶活性呈现下降趋势，20 ℃时先上升后急速降低。30 ℃时呈稳步上升，33 ℃时呈逐渐降低态势，42 ℃和 45 ℃的高温处理下，POD 酶活性随处理时间延长而上升，且 45 ℃上升幅度显著大于 42 ℃。

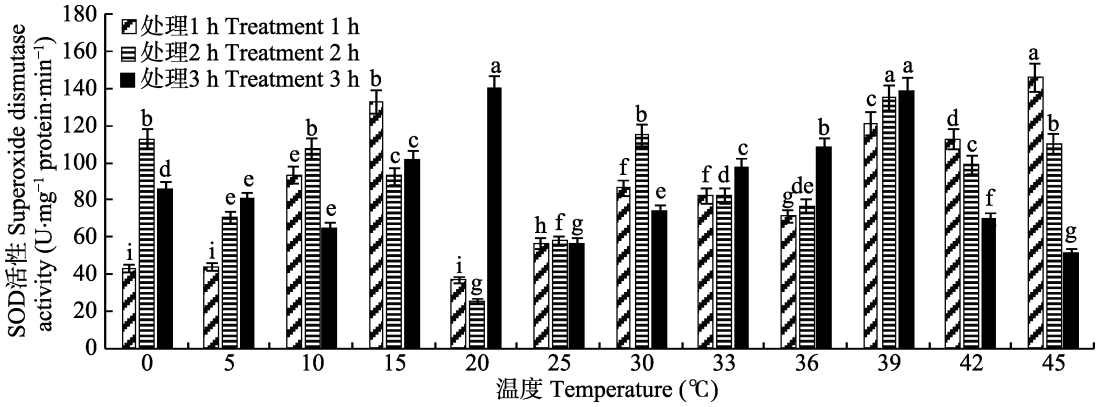

图 1　热胁迫对腐食酪螨 SOD 酶活性的影响

Fig. 1　Effects of different thermal stresses on superoxide dismutase (SOD) activity of *Tyrophagus putrescentiae*

25 ℃为对照，柱形图数值表示 Mean± SE；柱上标有不同字母表示显著性差异（P<0.05，LSD）。下图同。

25 ℃ served as a control. Each value represents the (mean ± SE) of three replications. Histograms with different letters indicate significant difference (P<0.05, LSD). The same below.

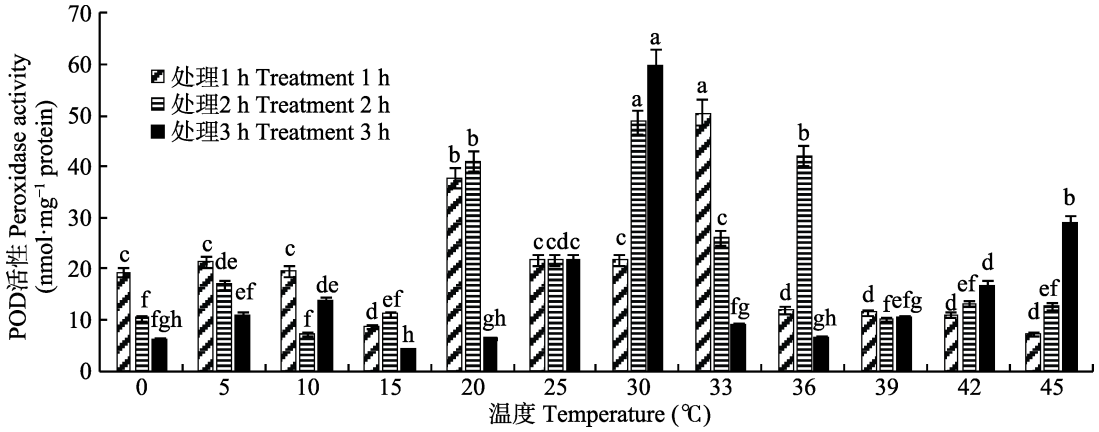

图 2　热胁迫对腐食酪螨 POD 酶活性的影响

Fig. 2　Effects of different thermal stresses on peroxidase (POD) activity of *Tyrophagus putrescentiae*

2.3 温度胁迫对 GSTs 活性的影响

温度胁迫后，腐食酪螨体内的 GSTs 酶活性变化如图 3 所示，温度胁迫对 GSTs 酶活性存在显著影响（$F_{11,107}$=672.56，P<0.05）。低温胁迫下 GSTs 酶活性略高于高温处理组。随着胁迫时间的增加，GSTs 活性在低温区随温度的降低呈上升趋势，高温区则随温度的升高先上升后降低。温度胁迫 1 h 后，20 ℃时该螨体内的 GSTs 酶活性最强，是 25 ℃的 2.26 倍，45 ℃时活性最低；温度胁迫处理 2 h 后，体内的 GSTs 酶活性在 0 ℃时最高，30 ℃活性最低 温度胁迫处理 3 h 后，体内的 GSTs 酶活性在 5 ℃时最高，30 ℃和 42 ℃时最低。各温度下，GSTs 酶活性受处理时间长短的影响很小。

2.4 温度胁迫对 T-AOC 的影响

温度胁迫后，腐食酪螨体内的 T-AOC 变化如图 4 所示，不同的胁迫温度对 T-AOC 影响显著（$F_{11,107}$=573.46，P<0.05），低温处理组 T-AOC 活性大多高于对照组，但高温处理组 T-AOC 活性大多低于对照组。10 ℃胁迫处理 1 h、2 h 均显著提高了 T-AOC 活性，但在 3 h 后迅速下降，39 ℃处理不同时长，均显著提高了 T-AOC 的活性。低温处理组 T-AOC 活性略高于高温处理组，在极高的 42 ℃和 45 ℃时，T-AOC 活性一直处于较低的水平。

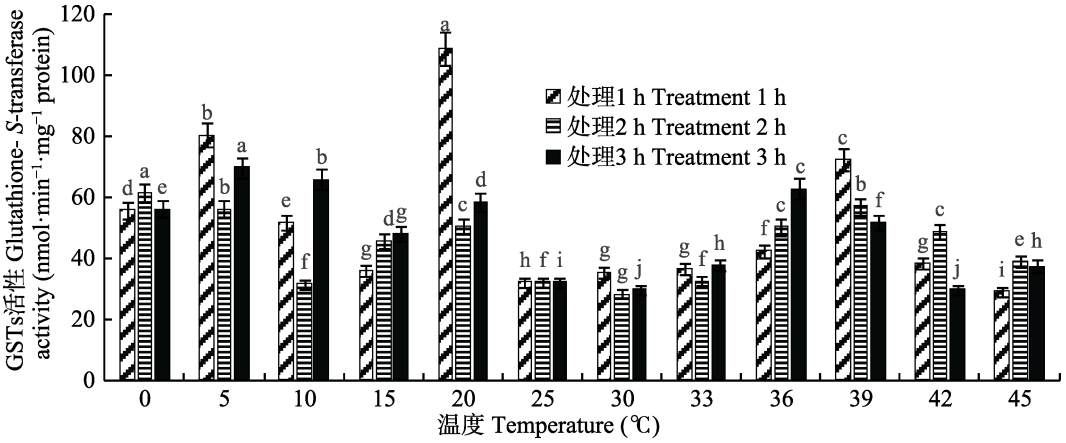

图 3 热胁迫对腐食酪螨 GSTs 活性的影响

Fig. 3 Effects of different thermal stresses on glutathione- *S*-transferase (GSTs) activity of *Tyrophagus putrescentiae*

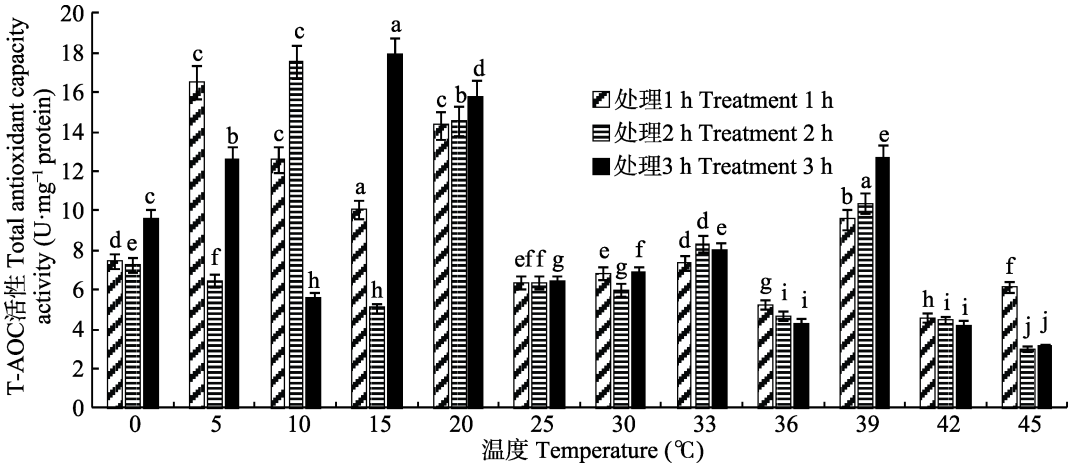

图 4 热胁迫对腐食酪螨 T-AOC 活性的影响

Fig. 4 Effects of different thermal stresses on the total antioxidant capacity (T-AOC) activity of *Tyrophagus putrescentiae*

2.5　温度胁迫对 MDA 含量的影响

温度胁迫后，腐食酪螨体内 MDA 含量变化如图 5 所示，温度胁迫下 MDA 含量存在显著差异（$F_{11,107}$=577.96，P<0.05），温度胁迫后 MDA 含量均高于对照组，10、30、39 ℃时，在不同时长处理下均处于较高的位置，20 ℃处理下 MDA 含量随着处理时间延长而稳步升高，而在 42 ℃和 45 ℃的高温处理下，其含量呈现相反的变化规律。

3　讨论

螨类是一种变温动物，环境温度对其影响很大。环境温度的变化会引起其体内一系列的生理反应，为了探索腐食酪螨在热胁迫下的抗氧化反应，本研究测定了 11 个温度梯度胁迫下腐食酪螨的 SOD、POD、GSTs、T-AOC、MDA 的活性。结果显示上述 5 种酶在热胁迫下均发生了显著变化，表明 3 种抗氧化酶、总抗氧化能力和脂质过氧化物在腐食酪螨抵御温度胁迫过程中发挥了重要作用。

SOD 酶是生物体中一种重要的抗氧化酶，能够降低自由基的水平。李庆等（2012）发现 5 ℃胁迫下西藏飞蝗体内的 SOD 酶活性显著提高。本研究表明，低温胁迫能诱导腐食酪螨 SOD 酶活性增加，从而提高腐食酪螨的抗寒能力。随着低温胁迫时间的延长，SOD 酶活性是呈先上升后下降趋势，与 An 和 Choi（2010）的研究结果相一致。高温胁迫可能导致腐食酪螨体内过氧化反应，但当暴露在 45 ℃高温时，该螨体内的 SOD 酶活性随胁迫时间的延长而逐渐降低。由此推断，当暴露在 45 ℃以上高温时腐食酪螨处体内产生大量的 ROS，其 ROS 浓度已经打破抗氧化平衡状态，从而使腐食酪螨细胞受到一定的伤害。

昆虫体内的 POD 酶能够分解 H_2O_2，防止 H_2O_2 对细胞产生毒害（Zhang *et al*., 2015）。本研究结果表明，随着胁迫时间的增加，无论暴露在低温或高温下，腐食酪螨体内的 POD 酶活性与对照相比有显著差异，处理组的 POD 酶活性普遍低于对照组，说明腐食酪螨体内 POD 酶活性对抗热胁迫能力有限，然而在不同胁迫时间下，30 ℃和 33 ℃时 POD 酶活性都会突增，这与 Soares 等（2009）的研究发现相一致，这可能是由于在该温度下，与 POD 酶协同作用的酶 CAT 活性较低，导致 POD 活性增加以代谢体内的 H_2O_2。

GSTs 通过代谢脂质过氧化物减轻活性氧带来的伤害。当暴露在高温时，腐食酪螨体内的 GSTs 酶活性显著高于对照，这表明热胁迫下腐食酪螨体内脂质发生过氧化，这与 Yang 等（2010）研究相似。同样，暴露在低温时腐食酪螨体内的 GSTs 酶活性明显高于对照组，表明腐

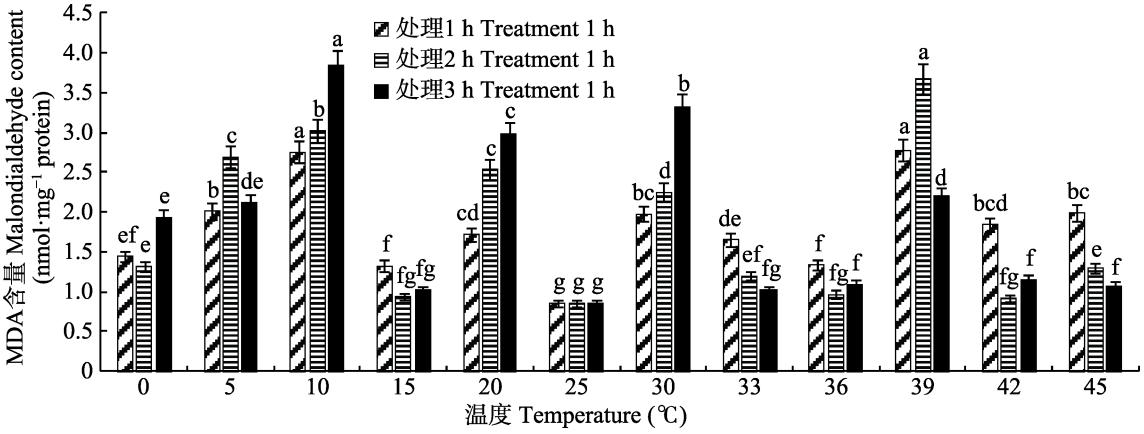

图 5　热胁迫对腐食酪螨 MDA 含量的影响

Fig. 5　Effects of different thermal stresses on the total antioxidant capacity (MDA) activity of *Tyrophagus putrescentiae*

食酪螨经低温胁迫时其体内 GSTs 酶在清除 H_2O_2 方面发挥着一定的作用。推测可能是由于低温胁迫导致该螨体内脂质过氧化物积累，诱导酶活力增加。

T-AOC 是指有机体体内的总抗氧化能力。腐食酪螨在 15 ℃胁迫 3 h 时 T-AOC 活性最大，低温处理组的抗氧化能力高于对照和高温处理组，低温胁迫下腐食酪螨的 T-AOC 活性较强，伴随胁迫时间的增加，胁迫温度高于 25 ℃时腐食酪螨 T-AOC 活力低于对照组，表明高温对腐食酪螨的影响较小，诱导的抗氧化反应也少，说明该螨可能还存在其他的抗氧化机制，据报道昆虫体内还存在多元醇如山梨醇、海藻糖等小分子物质，它们在对抗氧化胁迫方面起到一些作用（Storeyand Storey，1988；Košťál *et al.*，2007）。另有研究表明热激蛋白通过氧化酶依赖的 NADPH 参与抵御活性氧的毒害（Maridonneau-Parini *et al.*，1993）。

MDA 是脂质过氧化物的主要分解产物，是衡量细胞受氧化胁迫程度的指标之一。本研究结果表明，腐食酪螨经低温胁迫后体内的 MDA 含量与对照相比显著增加，低温胁迫也能诱导其体内的 MDA 含量增加。在高温胁迫情况下，随胁迫时间延长，该螨内的 MDA 含量总体呈下降趋势，这也表明腐食酪螨随高温胁迫体内的抗氧化能力逐渐增强，从而清除了体内过多的活性氧。Joaniss 和 Storey（1996）研究发现，当有机体体内的 GSTs 酶活性增加时其 MDA 含量减少。

综上所述，温度胁迫与螨类体内的生理生化变化密切相关，能诱导腐食酪螨体内产生过氧化反应，特别是 SOD 和 GSTs 的活性显著增加，表明抗氧化酶在腐食酪螨抵御温度胁迫过程中发挥了重要作用。

参考文献 (References)

An MI, Choi CY, 2010. Activity of antioxidant enzymes and physiological responses in ark shell, *Scapharca broughtonii*, exposed to thermal and osmotic stress: effects on hemolymph and biochemical parameters. *Comparative Biochemistry & Physiology Part B Biochemistry & Molecular Biology*, 155(1): 34–42.

Barker PS, 1967. The effects of high humidity and different temperatures on the biology of *Tyrophagus putrescentiae* (Schrank) (Acarina: Tyrogliphidae). *Candian Journal of Zoology*, 45(1): 91–96.

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(1/2): 248–254.

Diano S, 2013. Role of reactive oxygen species in hypothalamic regulation of energy metabolism. *Endocrinology and Metabolism*, 28(1): 3–5.

Drougard A, Fournel A, ValetP, Knauf C, 2015. Impact of hypothalamic reactive oxygen species in the regulation of energy metabolism and food intake. *Frontiers in Neuroscience*, 9: 56.

Fan QH, Zhang ZQ, 2007. *Tyrophagus* (Acari: Astigmata: Acaridae). *Fauna of New Zealand*, 56: 30–31.

Hazel JR. 1995. Thermal adaptation in biological membranes: is homeoviscous adaptation the explanation. *Annual Review of Physiology*, 57(1): 19–42.

Joanisse DR, Storey KB, 1996. Oxidative stress and antioxidants in overwintering larvae of cold-hardy goldenrod gall insects. *Journal of Experimental Biology*, 199(7): 1483–1491.

Ju RT, Wei HP, Wang F, Zhou XH, Li B, 2014. Anaerobic respiration and antioxidant responses of *Corythucha ciliata* (Say) adults to heat-induced oxidative stress under laboratory and field conditions. *Cell Stress Chaperones*, 19(2): 255–262.

Košťál V, Zahradníková H, Simek P, Zeleny J, 2007. Multiple component system of sugars and polyols in the overwintering spruce bark beetle, *Ips typographus*. *Journal of Insect Physiology*, 53(6): 580–586.

Krantz GW, Walter DE, 2009. A Manual of Acarology. Third Edition. Lubbock: Texas Tech. University Press.565–657.

Li CP, 2002. Experiment study on the capacity of tyrophagus putrescentiae in carrying and transmitting mold. *Acta Arachnologica Sinica*, 11(1): 58–60. [李朝品, 2002. 腐食酪螨、粉尘螨传播霉菌的实验研究. 蛛形学报, 11(1): 58–60.]

Li JY, Chen X, Moghaddam SHH, Chen M, Zhong BX, 2009. Shotgun proteomics approach to characterizing the embryonic proteome of the silkworm, *Bombyx mori*, at labrum appearance stage. *Insect Molecular Biology*, 18(5): 649–660.

Li Q，Wu L, Yang G, Kuan 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.]

Ma LQ, Duan DD, Wang YN, Cheng J, Liu YB, Shi GL, 2012. The effects of lupeol from the petroleum ether extract of inula britanica on the biological and enzyme activity of *Tetranychus cinnabarinus*. Information Technology and Agricultural Engineerring. Sanya China: 557–564.

Maridonneau-Parini I, Malawista SE, Stubbe H, Russo-Marie F, Polla BS, 1993. Heat shock in human neutrophils: superoxide generation is inhibited by a mechanism distinct from heat-denaturation of NADPH oxidase and is protected by heat shock proteins in thermotolerant cells. *Journal of Cellular Physiology*, 156(1): 204–211.

Parkes TL, Hilliker AJ, Phillips JP, 1993. Genetic and biochemical analysis of glutathione-S-transferase in the oxygen defense system of *Drosophila melanogaster*. *Genome*, 36(5): 1007–1014.

Soares NC, Rita F, Jesus MV, Candido PR, Jackson PA, 2009. Associating wound-related changes in the apoplast proteome of Medicago with early steps in the ROS signal-transduction pathway. *Journal of Proteome Research*, 8(5): 2298.

Storey KB, Storey JM, 1988. Freeze tolerance in animals. *Physiological Reviews*, 68(1): 27–84.

Wang HY, Li CP，2005. Tyroglyphus hazards and prevention. *Chin. J. Vector Bio. & Control*, 16(5): 403–405. [王慧勇，李朝品, 2005. 粉螨危害及防制措施. 中国媒介生物学及控制杂志, 16(5): 403–405.]

Yang JY, Kim MG, Lee HS, 2013. Acaricidal toxicities of 1-hydroxynaphthalene from *Scutellaria barbata* and its derivatives against house dust and storage mites. *PlantaMedica*, 79(11): 946–951.

Yang LH, Hai 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, 2011. Study on mechanisms of *Panonychus citri* (McGregor) in response to thermal stress. Doctoral dissertation. Chongqing: Southwest University. [杨丽红, 2011. 柑橘全爪螨 *Panonychus citri* (McGregor)对热胁迫的响应机制研究. 博士学位论文. 重庆: 西南大学.]

Yu X, Fan QH, 2002. Occurrence and control of *Tyrophagus putrescentiae*. Agricultural Science and Technology of Fu Jian, (6): 49–50. [于晓, 范青海, 2002. 腐食酪螨的发生与防治. 福建农业科技, (6): 49–50.]

Zhang S, FuW, Ning L, Fan Z, Liu TX, 2015. Antioxidant responses of *Propylaea japonica* (Coleoptera: Coccinellidae) exposed to high temperature stress. *Journal of Insect Physiology*, 73(2015): 47–52.