

温度对菊酯类杀虫剂在枸杞 蚜虫作用机制的影响*

张 丛^{1**} 牛婧玮¹ 常 静¹ 李海平^{1***} 刁青云²

(1. 内蒙古农业大学农学院, 呼和浩特 010019; 2. 中国农业科学院蜜蜂研究所, 北京 100093)

摘 要 【目的】枸杞蚜虫 *Aphis gossypii* Glover 是枸杞上的重要害虫, 危害枸杞的蚜虫主要是棉蚜, 化学防治是最主要的防治方法之一。菊酯类杀虫剂被认为是负温度系数的农药, 本文主要研究了温度对菊酯类杀虫剂在棉蚜作用机制的影响。【方法】室内采用药膜法测定了不同温度下 3 种菊酯类杀虫剂对棉蚜的毒力; 采用试剂盒测定了不同温度下 3 种菊酯类杀虫剂对棉蚜 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 和 $\text{Ca}^{2+}\text{-Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 的活性抑制; 采用 DPH 作为探针, 应用荧光偏振的方法测定了温度对菊酯类杀虫剂在棉蚜线粒体膜流动性的影响。【结果】在温度分别为 17、27、37 °C 时, 溴氰菊酯对棉蚜的毒力表现为正温度系数, 百树菊酯和氰戊菊酯表现为负温度系数。当 3 种菊酯类杀虫剂浓度为 1×10^{-4} mol/L, 3 种杀虫剂对两种 ATPase 的抑制均表现负温度系数。在不同温度下, 3 种杀虫剂对棉蚜线粒体膜流动性的影响表现出相似的变化趋势: 低温下影响大, 高温下影响小, 呈现负温度系数。【结论】影响菊酯类杀虫剂温度系数的机制比较复杂, ATPase 和线粒体膜流动性在负温度系数中起着重要的作用。

关键词 温度, 菊酯类杀虫剂, 棉蚜, 作用机制, 温度系数

Effect of temperature on the toxicity of pyrethroids to *Aphis gossypii* Glover

ZHANG Cong^{1**} NIU Jing-Wei¹ CHANG Jing¹ LI Hai-Ping^{1***} DIAO Qing-Yun²

(1. College of Agronomy, Inner Mongolia Agricultural University, Hohhot 010019, China;

2. Institute for the Apicultural Research, Chinese Academy of Agricultural Science, Beijing 100093, China)

Abstract 【Objectives】*Aphis gossypii* Glover is a major pest of wolfberry crops. Chemical control is currently one of the main methods used to control the crop damage caused by this pest. The effectiveness of pyrethroids is generally thought to decrease with temperature increasing. 【Methods】The effect of temperature on the toxicity of pyrethroids to *A. gossypii* was investigated. The residual film method was used to determine the toxicity of three pyrethroids to *A. gossypii* at 17, 27 and 37 °C. An ATPase kit was used to measure the effect of the above three pyrethroids on mitochondrial $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ and $\text{Ca}^{2+}\text{-Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ activity at different temperatures. Fluorescence polarization was used to study mitochondrial membrane fluidity in *A. gossypii* with DPH as a fluorescent probe. 【Results】In the three pyrethroids tested, the toxicity of deltamethrin increased, whereas that of phenvalerate and cyfluthrin, decreased with temperature increasing. At a pyrethroid concentration of 1×10^{-4} mol/L, the inhibitory effect of all the three pyrethroids on $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ and $\text{Ca}^{2+}\text{-Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ activity decreased with temperature increasing. There was similar trend in the effect of the three pyrethroids on mitochondrial membrane fluidity at the three tested temperatures. Changes in DPH polarization caused by the three pyrethroids were greater at lower than higher temperatures, which is consistent with the generally accepted negative correlation between pyrethroid toxicity and temperature. 【Conclusion】The relationship between temperature and pyrethroid toxicity is complex, and ATPase and mitochondrial membrane fluidity play an important role in the general negative temperature coefficient of pyrethroid toxicity.

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金 (31260440)

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

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: lihaiping5820@hotmail.com

收稿日期 Received: 2017-08-07, 接受日期 Accepted: 2018-03-15

Key words temperature, pyrethroid, *Aphis gossypii* Glover, mechanism, temperature coefficient

杀虫剂对害虫的毒性决定于许多因素,其中温度是重要的影响因子之一。一般认为大多数有机磷和氨基甲酸酯类杀虫剂的毒性与温度呈正相关,即正温度系数(Norment and Chambers, 1970; Chalfant, 1973; 马云华等, 2011),滴滴涕(DDT)和拟除虫菊酯类杀虫剂对某些昆虫具有负温度系数(Baker, 1957; Gammon, 1978; Sparlts *et al.*, 1983),但近年的研究表明,拟除虫菊酯类杀虫剂的温度效应因杀虫剂品种和靶标昆虫的不同而异(Everson and Tonks, 1981; Sparks *et al.*, 1982; 高希武和郑炳宗, 1989; Li *et al.*, 2006),同一种拟除虫菊酯类杀虫剂对不同昆虫可能具有完全相反的温度系数。

虽然有关拟除虫菊酯类杀虫剂温度系数有一些报道,但是对其机制仍然比较模糊。拟除虫菊酯类杀虫剂进入昆虫体内后作用于昆虫的神经系统,已有的研究证实,ATPase 是 DDT 及拟除虫菊酯类杀虫剂的作用靶标之一,这两类杀虫剂可以抑制昆虫体内 ATPase 的活性(Jones and Lee, 1986; 何运转等, 2001; 李海平等, 2006; Li *et al.*, 2015)。Gammon (1978) 研究证实了 DDT 对德国小蠊 ATPase 的抑制表现为负温度系数。曾晓芑(1995)在研究杀虫剂对家蝇线粒体 ATPase 活性的影响时,也发现氯菊酯和溴氰菊酯对家蝇体内 OS-Mg²⁺-ATPase 的抑制表现为负温度系数。对于拟除虫菊酯类药剂的毒性因温度不同而导致的变化, Amanda 等(2009)认为是由于母体化合物积累的增加和神经敏感性的增加,从而加剧了拟除虫菊酯在低温的毒性。

生物膜的典型特点是具有流动性,膜的流动性受很多因素的影响,其中温度是最主要的因素之一。曾晓芑等(1998)研究了几种菊酯类杀虫剂在不同温度下对家蝇飞翔肌线粒体膜流动性的影响, Braguini 等(2004)在不同温度下研究了氰戊菊酯对老鼠脑突触体膜和人工膜的影响,都表明温度在菊酯类杀虫剂对膜流动性的影响方面有很大的作用。

枸杞是我国名贵中药材,又是滋补保健佳

品,其保健作用和药用价值日益受到人们的重视。内蒙古是我国枸杞的主要分布区,其得天独厚的栽培条件使枸杞在内蒙古发展很快。枸杞蚜虫是危害枸杞的三大害虫之一,危害枸杞的蚜虫主要是棉蚜 *Aphis gossypii* Glover,主要危害枸杞叶片、花器、幼果及嫩枝等。目前对棉蚜的防治主要以化学防治为主,菊酯类杀虫剂在棉蚜的防治上有一定的应用。因此本文选取了 3 种菊酯类杀虫剂,测定其与棉蚜毒力之间的温度系数,以及温度对这 3 种菊酯类杀虫剂对棉蚜 ATPase 活性和细胞膜流动性的影响,以期从不同角度探讨拟除虫菊酯类杀虫剂的温度效应。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

棉蚜采自内蒙古自治区呼和浩特市枸杞种植区,采回后在室内枸杞植株上饲养。选用个体大小、发育状况大体一致的无翅若蚜(3 龄)用于实验。

1.2 供试药剂及试剂

99%溴氰菊酯(Deltamethrin)原药, 95%百树菊酯(Cyfluthrin)原药, 92.5%氰戊菊酯(Phenvalerate)原药,(江苏扬农化工有限公司提供)。牛血清白蛋白(BSA), 美国 Sigma 公司产品,纯度 99%;考马斯亮蓝 G-250, DPH(1, 6-Diphenyl-1, 3, 5-hexatriene) 1, 6-二甲基-1, 3, 5-己三烯,(Fluka 公司);ATPase 测试盒,(南京建成生物工程研究所第一分所产品),其他所选试剂均为国产分析纯。

1.3 生物测定方法

参照 Shotkoski 等(1990)和鲁艳辉等(2009)的玻璃药膜法,测定溴氰菊酯、百树菊酯和氰戊菊酯对棉蚜的毒性。根据预实验的结果,将每种药剂用丙酮稀释成不同浓度梯度的 5-6 个浓度,且重复 3 次,对照用丙酮处理。其中溴氰菊酯浓度范围为:5、10、20、40、60、80 mg/L, 氰戊

菊酯浓度为: 0.625、1.25、2.5、5、10、20 mg/L, 百树菊酯浓度为: 0.625、1.25、2.5、5、10、20 mg/L。将上述处理好的杀虫剂分别加入 15 mm×100 mm 指形管内, 使药液均匀着于管壁, 多余药液倒出, 待丙酮挥发后, 将棉蚜用毛笔轻轻置于管内, 分别在温度为 17、27、37 ℃, 相对湿度为 60% 的恒温生化培养箱中进行生测培养。温度设计根据前人对负温度系数研究的文献, 多数选择这 3 个温度, 且符合一般昆虫发育所需要的温度范围。在处理 3 h 后观察并记录结果, 用毛笔轻触蚜虫, 不动则记为死亡, 用不大于 10% 的死亡率进行校正。用 POLO 软件处理数据, 计算 LD_{50} 值和斜率 (b)。

1.4 棉蚜 ATPase 酶液制备及酶活性测定

将 100 头棉蚜, 加入 2 mL Tris-HCl 缓冲液 (pH 7.4, 含 0.05% TritonX-100), 在冰浴条件下匀浆。匀浆液在 4 ℃ 3 000×g 下离心 10 min, 取上清液, 再在 10 000×g 下离心 30 min, 弃上清液, 沉淀用上述缓冲液再溶解作为酶源备用。分别在 17、27、37 ℃ 条件下测定棉蚜 ATPase 酶活性。每个样品测定 3 次, 记录原始数据。

1.5 菊酯类杀虫剂对棉蚜 ATPase 活性的抑制

利用丙酮将杀虫剂原药稀释成不同的浓度梯度。在反应时将药剂与酶液混合加入体系中, 分别在 17、27、37 ℃ 条件下进行测定, 重复 3 次。对抑制率进行反正弦开平方转换后, 进行差异显著性分析。抑制率计算公式:

$$\text{抑制率}(\%) = (\text{对照活性} - \text{药剂处理活性}) / \text{对照活性} \times 100。$$

1.6 棉蚜线粒体膜荧光偏振度的测定

1.6.1 棉蚜线粒体膜的提取 棉蚜线粒体膜的提取参照 Voss 等 (1961) 的方法, 有改进。首先配制冷蔗糖提取液, 保存在 4 ℃ 的条件下。挑取 100 头无翅蚜虫, 放入玻璃匀浆器中, 加入冷蔗糖提取液, 在冰浴条件下匀浆, 匀浆液在 4 ℃, 3 000×g 离心 10 min, 取上清液, 再在 10 000×g 离心 30 min, 弃去上清液, 用上述冷蔗糖提取液悬浮沉淀, 再次离心, 最后制得的线粒

体沉淀用相同提取液悬浮备用。

1.6.2 DPH 的制备 参照林克椿等 (1981) 的方法。DPH 使用前, 以四氢呋喃作溶剂, 配制浓度为 2×10^{-3} mol/L 的储备液, 低温保存在棕色瓶中。试验需要的 DPH 溶液, 与使用前配制, 用 PBS (0.01 mol/L 磷酸缓冲液, pH 7.4; 0.14 mol/L NaCl) 稀释储备液, 使 DPH 浓度为 2×10^{-6} mol/L。因四氢呋喃为有机溶剂, 配制 2×10^{-6} mol/L 溶液时, 需猛烈震荡 5-10 min, 然后备用。

1.6.3 荧光探针标记 在制备好的线粒体悬浮液中加入缓冲液, 调整蛋白含量约为 300 μg/mL 左右, 再加 2 mL 2×10^{-6} mol/L DPH 荧光探针, 反应总体积为 4 mL, 在 25 ℃ 下温育 30 min 即可。

1.6.4 荧光偏振度的测定 荧光偏振度的测定采用 Cheng 和 Levy (1979)、Harrls 和 Simin (1987) 的方法。用 PE 公司 LC-55 型荧光分光光度计 (带偏振附件) 测定线粒体膜的偏振度。激发波长 362 nm, 发射波长 432 nm, 狭缝宽度 10 nm, 用恒温水浴控制测试温度。以不加 DPH 溶液的线粒体悬浮液测定体系作为对照, 以消除散射光和其它因素的影响。

1.7 蛋白含量的测定

参照 Bradford (1976) 考马斯亮蓝 G-250 法, 用牛血清蛋白 (BSA) 测定蛋白含量, 绘制标准曲线, 由标准曲线计算酶液中的蛋白含量。

2 结果与分析

2.1 不同温度下 3 种菊酯类杀虫剂对棉蚜的毒力

在不同的温度下测定了 3 种菊酯类杀虫剂对棉蚜的毒力, 见表 1。溴氰菊酯对棉蚜的作用表现出规则的正温度系数, 且随着温度的升高毒力也在升高。氰戊菊酯与溴氰菊酯正好相反, 对棉蚜表现出负温度系数, 随着温度的升高毒力减小。百树菊酯总的呈现负温度系数。在 17 ℃ 与 27 ℃, 17 ℃ 与 37 ℃ 之间存在负温度系数, 系数分别为 0.21 倍和 0.51 倍, 但是在 27 ℃ 与 37 ℃ 却存在正温度系数, 系数为 2.48 倍。

表 1 不同温度下 3 种菊酯类杀虫剂对棉蚜毒力的影响
Table 1 Influence of post-treatment temperature on pyrethroid toxicity to *Aphis gossypii*

药剂 Insecticide	温度 Temperature ()	毒力值 LC ₅₀ (mg/L)	95%置信限 95% Fiducil limit (lower - upper)	斜率±标准误 Slope ± SE	温度系数* Temperature coefficients	
					10	20
溴氰菊酯 Deltamethrin	17	49.169	33.053-73.973	1.033±0.188		
	27	24.979	15.695-37.896	1.370 ± 0.145	+1.97	
	37	20.713	14.107-26.969	1.531±0.231	+1.21	+2.37
氰戊菊酯 Phenvalerate	17	3.485	2.253-4.930	1.099±0.138		
	27	5.551	3.876-7.510	1.183±0.134	-0.63	
	37	6.109	2.723-11.447	0.556±0.118	-0.91	- 0.57
百树菊酯 Cyfluthrin	17	1.473	0.597-2.573	0.735±0.113		
	27	7.047	4.706-9.863	1.055±0.123	-0.21	
	37	2.840	1.751-4.084	1.049±0.126	+2.48	- 0.51

*：温度系数分别表示相差 10 和 20 的系数（+：正温度系数；-：负温度系数）。

*: Temperature coefficients for 10 and 20 differences in temperature; +: Positive; -: Negative.

2.2 不同温度下 3 种菊酯类杀虫剂对棉蚜两种 ATPase 活性的抑制

在药剂浓度为 1×10^{-4} mol/L 时，溴氰菊酯、氰戊菊酯和百树菊酯 3 种杀虫剂对 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase 和 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+}$ -ATPase 活性的抑制见表 2。这 3 种杀虫剂对两种 ATPase 的抑制都表现为负

温度系数。其中溴氰菊酯对 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+}$ -ATPase 的抑制，百树菊酯对 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase 的抑制，虽然总体抑制趋势呈现负温度系数，但不同温度下抑制率没有显著差异。溴氰菊酯对 $\text{Na}^+ - \text{K}^+$ -ATPase 的抑制在 17 和 37 有显著差异，呈明显的负温度系数。百树菊酯在 17、27、37 相比，对 $\text{Ca}^{2+} - \text{Mg}^{2+}$ -ATPase 的抑制率有显著差异。氰戊

表 2 不同温度下 3 种菊酯类杀虫剂对棉蚜两种 ATPase 的抑制
Table 2 Inhibition of 3 pyrethroids to two kinds of ATPase of *Aphis gossypii* at three temperatures

药剂* Insecticides	温度 Temperature ()	Na ⁺ -K ⁺ -ATPase 抑制率	温度系数 Temperature coefficient	Ca ²⁺ -Mg ²⁺ -ATPase 抑制率	温度系数 Temperature coefficient
		Na ⁺ -K ⁺ -ATPase inhibition (%)±SE		Ca ²⁺ -Mg ²⁺ -ATPase inhibition (%)±SE	
溴氰菊酯 Deltamethrin	17	63.636±1.750 a	—	46.497±3.978 a	—
	27	58.065±2.812 ab		47.826±1.438 a	
	37	47.586±3.160 b		37.714±1.714 a	
氰戊菊酯 Phenvalerate	17	56.061±0.875 a	—	50.318±1.103 a	—
	27	51.613±1.707 a		46.739±2.369 a	
	37	36.552±2.487 b		36.000±2.619 b	
百树菊酯 Cyfluthrin	17	48.485±1.750 a	—	47.134±2.297 a	—
	27	47.742±1.707 a		46.196±1.960 a	
	37	40.690±2.487 a		30.286±1.143 b	

*：终浓度 Concentration: 1×10^{-4} mol/L. 不同字母表示一种药剂温度间差异显著 ($P \leq 0.05$)。

Data within a column followed by the different small letters are significantly different ($P \leq 0.05$).

菊酯对两种 ATPase 活性的抑制一致，都是 17、27、37 相比有显著差异。

2.3 不同温度下 3 种菊酯类杀虫剂对棉蚜线粒体膜流动性的影响

生物膜流动性的大小随温度的变化而变化，一般认为高温下膜的流动性大于低温下的流动性。由图 1 可以看出，3 种药剂总体都是在低温下对膜流动性影响大，而在高温下影响小，表现为明显的负温度系数。

3 讨论

一直以来，拟除虫菊酯类杀虫剂被认为是负温度系数的杀虫剂。很多研究人员对不同菊酯类杀虫剂对不同昆虫的温度系数进行了研究，但结论各异，表明拟除虫菊酯类杀虫剂的负温度系数比较复杂，可能因杀虫剂、昆虫的种类而异。近年来研究较多的拟除虫菊酯类杀虫剂对不同昆虫的温度系数情况见表 3。

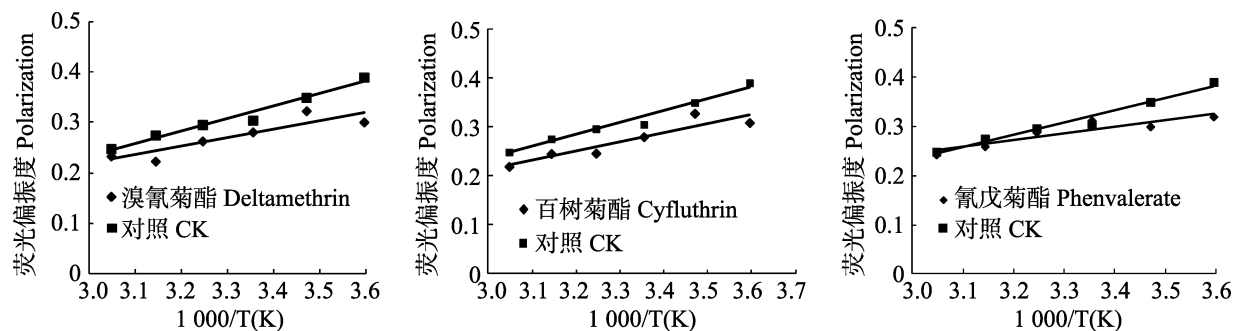


图 1 不同温度下药剂对 DPH 标记的棉蚜线粒体膜偏振度的影响
Fig. 1 Fluorescence polarization of DPH in mitochondrial membrane as a function of temperature in the absence (0 μmol·L⁻¹) and presence of pyrethroids (100 μmol·L⁻¹)

T(K): 绝对温度(K) Thermodynamic temperature (K).

表 3 拟除虫菊酯类杀虫剂对不同昆虫的温度系数
Table 3 Toxicity of pyrethroids to some pest at different temperature

药剂 Insecticide	昆虫 Insect	温度 Temperature ()	毒力 LD ₅₀ (μg/g)	毒力比值 LD ₅₀ ratio	斜率 Slope	文献来源 Reference
溴氰菊酯 Deltamethrin	草地夜蛾 <i>S. frugiperda</i>	15.6	0.34	+1.89	1.71	Sparks, 1982
		26.7	0.18		1.54	
		37.8	0.18		1.31	
	粉纹夜蛾 <i>T. ni</i>	15.6	0.005	-3.20	2.39	Sparks, 1982
		26.7	0.012		1.88	
		37.8	0.016		2.08	
	烟芽夜蛾 <i>H. virescens</i>	15.6	0.088	+5.0	2.11	Sparks, 1982
		26.7	0.044		1.45	
		37.8	0.016		1.73	
	棉子象鼻虫 <i>A. grandis grandis</i>	15.6	0.005	-13.00	5.43	Sparks et al., 1983
		26.7	0.032		1.21	
		37.8	0.065		1.79	
	二化螟 <i>C. suppressalis</i>	17.0	0.029 6	+5.59	1.56	Li et al., 2006
		27.0	0.001 8		2.08	
		37.0	0.005 3		0.79	

续表 3 (Table 3 continued)

药剂 Insecticide	昆虫 Insect	温度 Temperature ()	毒力 LD ₅₀ (μg/g)	毒力比值 LD ₅₀ ratio	斜率 Slope	文献来源 Reference
联苯菊酯 Bifenthrin	玉米螟 <i>O. nubilalis</i>	24.0	2.33	-9.5	0.83	Musser and Shelton, 2005
		29.0	11.60		1.09	
		35.0	22.10		0.71	
	二化螟 <i>C. suppressalis</i>	17.0	0.003 2	+1.68	1.52	Li et al., 2006
		27.0	0.005 0		1.86	
		37.0	0.001 9		3.60	
氯菊酯 Permethrin	草地夜蛾 <i>S. frugiperda</i>	15.6	0.208	-5.21	1.86	Sparks, 1982
		26.7	0.733		2.25	
		37.8	1.084		4.08	
	粉纹夜蛾 <i>T. ni</i>	15.6	0.072	-7.5	2.90	Sparks, 1982
		26.7	0.244		3.58	
		37.8	0.540		3.10	
	烟芽夜蛾 <i>H. virescens</i>	15.6	0.216	-9.0	1.51	Sparks, 1982
		26.7	1.440		2.99	
		37.8	1.944		1.64	
	棉子象鼻虫 <i>A. grandis grandis</i>	15.6	0.013	-9.23	2.52	Sparks et al., 1983
		26.7	0.053		2.02	
		37.8	0.120		4.83	
	粘虫 <i>M. separate</i>	20.0	0.790	-1.80	0.54	高希武和郑炳宗, 1989
		30.0	1.400		3.12	
氯氰菊酯 Cypermrthrin	烟芽夜蛾 <i>H. virescens</i>	15.6	0.283	-1.81	1.52	Sparks, 1982
		26.7	0.241		4.29	
		37.8	0.511		2.34	
	粘虫 <i>M. separate</i>	20.0	3.130	1.40	0.93	高希武和郑炳宗, 1989
		30.0	2.170		1.07	
氰戊菊酯 Fenvalerate	烟芽夜蛾 <i>H. virescens</i>	15.6	0.512	2.29	1.65	Sparks, 1982
		26.7	0.396		2.65	
		37.8	0.224		1.64	
	粘虫 <i>M. separate</i>	20.0	0.890	1.25	7.56	高希武和郑炳宗, 1989
		30.0	0.710		1.46	
高效氯氟氰菊酯 λ-Cyhaloyhrin	德国小蠊 <i>B. germanica</i>	19.0	0.005 3	1.21	6.70	Valles et al., 1998
		26.0	0.004 7		8.40	
		31.0	0.004 4		10.50	
甲氰菊酯 Fenpropathrin	烟粉虱 <i>B. tabaci</i>	20.0	2 641.68	2.21	1.11	郑宇等, 2012
		27.0	1 424.21		1.16	
		34.0	1 193.09		1.32	

已有的研究已经证实, DDT 和拟除虫菊酯类杀虫剂对鳞翅目的很多昆虫具有负温度系数, 但造成负温度系数的机制比较复杂。Das 和 McIntosh (1961) 研究发现, DDT 的温度系数可以改变, 如 DDT 对埃及伊蚊的毒力就表现为正温度系数, 他们认为 DDT 是否表现为负温度系数, 与测定的温度范围和检查昆虫死亡率的时间有关。同样, 同一种拟除虫菊酯类杀虫剂对不同的虫种可能具有完全相反的温度系数, 不同的拟除虫菊酯类杀虫剂对同一种昆虫也可能表现出完全相反的温度系数。看来负温度系数是否产生, 因昆虫种类、拟除虫菊酯类杀虫剂的种类和测定的温度范围不同而异。

关于 DDT 和菊酯类杀虫剂负温度效应产生的机理, 目前有三种假说: 一是作用靶位点的差异, 二是代谢机制的差异, 三是膜脂溶性的差异 (Munson *et al.*, 1954)。其中第三种假说被认为是最不可能, 因为神经膜主要由磷脂组成, 高温下处于液晶态的膜较多而使膜上结合的农药多, 所以应该拥有正温度系数。

靶标作用位点的不同, 已经被很多研究证实 (Gammom, 1978; Starkus and Narahashi, 1978; Adams and Miller, 1979)。代谢机制的影响虽然研究的很少 (McIntosh, 1957; Scott and Georgiou, 1984), 但 Scott 和 Georgiou (1984) 在研究菊酯类农药在不同温度下对家蝇的影响时, 证实几种菊酯类杀虫剂对家蝇表现出负温度系数, 主要与代谢/排泄/再分布 (MER) 和作用位点的活力有关。

温度是影响膜流动性最主要的因素之一。Scott 和 Georgiou (1984) 认为膜脂溶性的差异是负温度系数的产生机制之一。Braguini 等 (2004) 在研究氰戊菊酯对老鼠脑突触体膜流动性的影响时, 发现氰戊菊酯无论是对老鼠脑突触体膜还是人工膜, 都是在低温下影响大, 高温下影响小, 表现为负温度系数。Li 等 (2009) 研究表明, 溴氰菊酯、联苯菊酯、氟氯氰菊酯都是在低温下对二化螟线粒体膜流动性影响大, 而在高温下影响小, 表现为明显的负温度系数。曾晓芃 (1998) 研究了几种菊酯类杀虫剂在不同温度下

对家蝇飞翔肌线粒体膜流动性的影响, 结果表明氯菊酯在低温下对膜荧光偏振度的影响大, 而溴氰菊酯在高温下对膜流动性的影响更大, 认为菊酯类杀虫剂的温度系数可能与菊酯类杀虫剂的结构也有关系。本研究也表明供试的 3 种菊酯类杀虫剂对棉蚜线粒体膜流动性都表现为明显的负温度系数, 说明线粒体膜流动性在菊酯类杀虫剂的负温度系数中起着重要作用。

ATPase 是除虫菊酯类杀虫剂的重要靶标之一, 菊酯类杀虫剂可抑制昆虫体内 ATPase 的活性 (Scott and Georgiou, 1984)。ATPase 通过水解 ATP 为离子转运提供能量, $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 在每个反应过程中, 通过把 3 个 Na 离子泵出膜外, 2 个 K 离子泵进膜内, 维持通过质膜的两种电化学梯度。当 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 受强烈的抑制时, 离子流受抑制, 水被吸收、滞留, 引起各种谷氨酸盐及其他神经递质的释放, 进而引发中枢神经系统的疾病 (吴海华和郭艳琼, 2010)。所以, 拟除虫菊酯作用于钠通道的同时抑制了 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 的活性。虽然菊酯类杀虫剂对 ATPase 的抑制很早就有研究, 但是对于温度对 ATPase 的抑制影响研究很少。Li 等 (2006) 在不同温度下研究溴氰菊酯对二化螟体内 ATPase 活性抑制, 结果表现出负温度系数。曾晓芃等 (1995) 在不同的温度下测定溴氰菊酯和氯菊酯对家蝇线粒体 ATPase 活性的影响, 都表现为负温度系数。这都与我们试验中溴氰菊酯对棉蚜体内的 $\text{Na}^+\text{-K}^+\text{-ATPase}$ 和 $\text{Ca}^{2+}\text{-Mg}^{2+}\text{-ATPase}$ 活性的抑制一样, 呈现负温度系数。

因为温度效应造成药效下降的例子也有。Musser 和 Shelton (2005) 报道, 2002 年用菊酯类药剂防治玉米螟造成药效下降, 结果表明是因为温度造成的影响。我国疆域辽阔, 枸杞在我国种植面积广阔, 区域间温度差异较大, 明确拟除虫菊酯类杀虫剂与温度之间的关系, 在防治棉蚜中有利于人们依据环境因素合理施药, 充分发挥杀虫剂的药效。

参考文献 (References)

Adams ME, Miller TA, 1979. Site of action of pyrethroids: repetitive

- "backfiring" in flight motor units of house fly. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 11: 218–225.
- Amanda DH, Jing Y, Lydy MJ, 2009. Temperature as a toxicity identification evaluation tool for pyrethroid insecticides: Toxicokinetic confirmation. *Environment Toxicology and Chemistry*, 28 (5): 1051–1058.
- Baker RJ, 1957. Some effect of temperature on adult house flies treated with DDT. *Journal of Economic Entomology*, 50(4): 446–450.
- Bradford MM, 1976. A rapid and sensitive method for quantization of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein-dye binding. *Annals Biochemistry*, 72: 248–254.
- Braguini WL, Cadena SM, Camieri EG, Rocha ME, Oliveira MB, 2004. Effects of deltamethrin on function of rat mitochondria and on native and synthetic model membrane. *Toxicology Letters*, 152: 191–202.
- Chalfant RB, 1973. Cabbage looper: effect of temperature on the toxicity of insecticides in the laboratory. *Journal of Economic Entomology*, 66(2): 339–341.
- Cheng S, Levy D, 1979. The effects of cell proliferation on the lipid composition and fluidity of hepatocyte plasma membrane. *Archives of Biochemistry and Biophysics*, 196(2): 424–429.
- Das MA, McIntosh H, 1961. Effect of time and temperature on toxicity of insecticides to insects. . Test of seven positions in the range of 10–28 . *Annals of Applied Biology*, 49(2): 267–289.
- Everson PR, Tonks NV, 1981. The effect of temperature on the toxicity of several pesticides to *Phytoseiulus persimilis* (Acarina: Phytoseiidae) and *Tetranychus urticae* (Acarina: Tetranychidae). *Canadian Entomologist*, 113(4): 333–336.
- Gammon DW, 1978. Effect of DDT on the cockroach nervous system at three temperatures. *Pesticide Science*, 9: 95–104.
- Gao XW, Zheng BZ, 1989. Effect of temperature on the toxicity of pyrethroids to *Mythimna separata*. *Pesticide*, 28(6): 46–47. [高希武, 郑炳宗, 1989. 几种拟除虫菊酯杀虫剂对黏虫毒性的温度效应. *农药*, 28(6): 46–47.]
- Harrls RA, Simon FR, 1987. What should hepatologists know about membrane fluidity? *Hepatology*, 7(1): 177–180.
- He YZ, Li M, He FQ, Feng GL, Wang YC, 2001. Inhibition of pyrethroids to Ca^{2+} -ATPase and Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase in house fly(*Musca domestica*). *Acta Entomology Sinica*, 44(3): 297–303. [何运转, 李梅, 何凤琴, 冯国蕾, 王荫长, 2001. 拟除虫菊酯对家蝇 Ca^{2+} -ATPase 和 Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase 的抑制作用. *昆虫学报*, 44(3): 297–303.]
- Jones GJ, Lee AG, 1986. Effect of pyrethroids on the activity of a purified (Ca^{2+} - Mg^{2+}) - ATPase. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 25: 420–425.
- Li HP, Feng T, Shi XY, Liang P, Gao XW, 2006. Effect of temperature on toxicity of pyrethroids and endosulfan, activity of mitochondrial Na^{+} - K^{+} -ATPase and Ca^{2+} - Mg^{2+} -ATPase in *Chilo suppressalis* (Walker) (Lepidoptera : Pyralidae). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 86: 151–156.
- Li HP, Feng T, Tao LM, Liu X, Jiang H, Lin RH, Gao XW, 2006. Inhibition of ATPase activity in mitochondria of *Chilo suppressalis* by common insecticides. *Acta Entomology Sinica*, 49(2): 254–259. [李海平, 冯涛, 陶岭梅, 刘雪, 江辉, 林荣华, 梁沛, 高希武, 2006. 九种常用杀虫剂对二化螟线粒体 ATPase 活力的抑制作用. *昆虫学报*, 49(2): 254–259.]
- Li HP, Feng T, Shi XY, Liang P, Zhang Q, Gao XW, 2009. Effects of pyrethroids and endosulfan on fluidity of mitochondria membrane in *Chilo suppressalis* (walker). *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 95: 72–76.
- Li HP, Chang J, Feng T, Gao XW, 2015. Differential effects of insecticides on mitochondrial membrane fluidity and ATPase activity between the wolf spider and the rice stem borer. *Journal of Integrative Agriculture*, 14(12): 2574–2580.
- Lin KC, Nie SQ, Bo HQ, Qiao YL, 1981. Membrane fluidity of ascites tumor by fluorescence probe DPH. *Acta Biochemistry and Biophysics Sinica*, (6): 32–35. [林克椿, 聂松青, 薄慧卿, 乔玉兰, 1981. 用荧光探针 DPH 研究腹水癌细胞膜脂流动. *生物化学与生物物理学报*, (6): 32–35.]
- Lu YH, Yang T, Gao XW, 2009. Establishment of baseline susceptibility data to various insecticides for aphids *Rhopalosiphum padi* (L.) and *Sitobion avenae* (Fabricius) (Homoptera: Aphididae) by the method of residual film in glass tube. *Acta Entomology Sinica*, 52(1): 52–58. [鲁艳辉, 杨婷, 高希武, 2009. 禾谷缢管蚜和麦长管蚜玻璃管药膜法敏感毒力基线的建立. *昆虫学报*, 52(1): 52–58.]
- Ma YH, Gao ZL, Li YF, Dang ZH, Pan WL, 2011. Effect of temperature on the toxicity of several insecticides to the English grain aphid, *Sitobion avenae*. *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(6): 1661–1668. [马云华, 高占林, 李耀发, 党志红, 潘文亮, 2011. 四种类型杀虫剂对麦长管蚜的温度效应及其与主要解毒酶的关系. *应用昆虫学报*, 48(6): 1661–1668.]
- McIntosh AH, 1957. Particle size of insecticidal suspensions and their contact toxicity. *Annals Applied Biology*, 45(1): 189–205.
- Munson SC, Padilla GM, Weissmann ML, 1954. Insect lipids and insecticidal action. *Journal of Economic Entomology*, 47(4):

- 578–587.
- Musser FR, Shelton AM, 2005. The influence of post-exposure temperature on the toxicity of insecticides to *Ostrunia nubilalis* (Lepidoptera: Crambidae). *Pest Management Science*, 61: 508–510.
- Norment BR, Chambers HW, 1970. Temperature relationships in organophosphorus poisoning in boll weevils. *Journal of Economic Entomology*, 63(2): 502–504.
- Scott JG, Georgiou GP, 1984. Influence of temperature on knockdown, toxicity and resistance to pyrethroids in the house fly, *Musca domestica*. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 21: 53–62.
- Shotkoski FA, Mayo ZB, Peters LL, 1990. Induced disulfoton resistance in green bugs (Homoptera: Aphididae). *Journal of Economic Entomology*, 83(6): 2147–2152.
- Sparks TC, Shour MH, Wellemeyer EG, 1982. Temperature-toxicity relationships of pyrethroids on three lepidopteran. *Journal of Economic Entomology*, 75(4): 643–646.
- Sparks TC, Pavloff AM, Rose RL, Dan FC, 1983. Temperature toxicity relationships of pyrethroids on *Heliothis virescens* (F.) (Lepidoptera: Noctuidae) and *Anthonomus grandis grandis* Boheman (Coleoptera: Curculionidae). *Journal of Economic Entomology*, 76(2): 243–246.
- Starkus JG, Narahashi T, 1978. Temperature dependence of allethrin-induced repetitive discharges in nerves. *Pesticide Biochemistry and Physiology*, 9: 225–230.
- Valles SM, Sanchez AH, Brenner RJ, Koehler PG, 1998. Temperature effects on lambda-cyhalothrin toxicity in insecticide-susceptible and resistant German cockroach (Dictyoptera: Blattellidae). *Florida Entomologist*, 81(2): 193–201.
- Voss DO, Campelo AP, Bacial M, 1961. The respiratory chain and oxidative phosphorylation of rat brain mitochondria. *Biochemistry and Biophysics Research Common*, 4: 48–51.
- Wu HH, Guo YQ, 2010. Insecticide Toxicity. Beijing: China Agriculture Science Technology Press. 196–200. [吴海花, 郭艳琼, 2010. 杀虫剂毒理学. 北京: 中国农业科学技术出版社. 196–200.]
- Zeng XP, 1995. Study of the effect insecticides on the mitochondrial energy linked ATPase in the house flies (*Musca domestica*). *China Journal Vector Biology and Control*, 6(4): 253–256. [曾晓芃, 1995. 杀虫剂对家蝇线粒体 ATP 酶活性影响的研究. 中国媒介生物学及控制杂志, 6(4): 253–256.]
- Zeng XP, Ma Y, Tong Y, Xue SQ, 1998. Study on the effect of insecticides on the fluidity of mitochondrial membrane in housefly (*Musca domestica*). *China Journal Vector Biology and Control*, 9(6): 429–435. [曾晓芃, 马彦, 佟颖, 薛素琴, 1998. 杀虫剂对家蝇线粒体膜脂流动性影响的研究. 中国媒介生物学及控制杂志, 9(6): 429–435.]
- Zheng Y, Zhao JW, He YX, Huang J, Weng QY, 2012. Development of insecticide resistance and its effect factors in field population of *Bemisia tabaci* in Fujian province, East China. *Chinese Journal of Applied Ecology*, 23(1): 271–277. [郑宇, 赵建伟, 何玉仙, 黄健, 翁启勇, 2012. 福建省烟粉虱田间种群抗药性发展及其影响因素. 应用生态学报, 23(1): 271–277.]