

6 种药剂林间注干施药防控松材线虫效果分析

李 桥¹, 张绍勇², 仇辉康², 陈 明³, 叶玉珠¹, 袁 媛¹

(1. 浙江省景宁畲族自治县林业局, 浙江 景宁 323500; 2. 浙江农林大学 生物农药高效制备技术国家地方联合工程实验室, 浙江 临安 311300; 3. 浙江省缙云县森林病虫害防治检疫站, 浙江 缙云 321400)

摘要: 为研究注干施药预防松材线虫 *Bursaphelenchus xylophilus* 的效果, 以 6 种松材线虫药剂林间注干, 测定了施药 2 a 内的防治效果。采用高效液相色谱(HPLC)测定了各药剂主要有效成分注干后 3 个月和 1 a 的在树体残留动态, 并利用松材线虫恒温扩增核酸试纸条精准检测了注药后死亡松树体内松材线虫数量。结果表明: 6 种注干药剂林间防治后, 对松材线虫防治效果存在显著差异($P<0.05$), 各种注干药剂在注干 2 a 后将马尾松 *Pinus massoniana* 的死亡率控制在 0.4%~4.4%, 以甲维盐、阿维菌素、啉虫脲为主要成分的药剂注干防治效果在 80% 以上; 药后 1 a 高效液相色谱(HPLC)抽检测定的树体内各药剂均有残留(枯死松树中未检测到), 其中甲维盐质量分数较高, 平均为 (0.15 ± 0.11) mg·kg⁻¹。检测注药后死亡松树体内均有松材线虫, 且平均至少为 897.34 条·g⁻¹, 说明能在树体内传导的注干药剂均有一定的防效及持效期, 可在林间推广和应用。表 3 参 24

关键词: 森林保护学; 松材线虫; 药剂防治; 注干药剂; 残留检测; 林间效果

中图分类号: S763.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2016)04-0718-06

Field efficacy of six trunk-injected pesticides on *Bursaphelenchus xylophilus*

LI Qiao¹, ZHANG Shaoyong², QIU Huikang², CHEN Ming³, YE Yuzhu¹, YUAN Yuan¹

(1. Forest Enterprise of Jingning County, Jingning 323500, Zhejiang, China; 2. Local and National Joint Engineering Laboratory of Biopesticide High-efficient Preparation Technology, Zhejiang A & F University, Lin'an 311300, Zhejiang, China; 3. Forest Pest Control Quarantine Station of Jinyun County, Jinyun 321400, Zhejiang, China)

Abstract: Forest efficacy of six liquid-formulated trunk-injected pesticides (avermectin, emamectin benzoate, matrine and acetamiprid) were studied using auto flow trunk injection. After 15 months residues from liquid-formulated trunk-injections in pine were recovered and detected using high-performance liquid chromatography (HPLC). Also, positive and quantitative detection of *Bursaphelenchus xylophilus* (BX) in dead pine trees was studied with a BX Isothermal Amplification Diagnostic Kit. Results showed that the prevention effect from the six liquid-formulated trunk injection pesticides was significant ($P<0.05$) with one injection controlling pine death rate between 0.4%–4.4% for two consecutive years. Avermectin, emamectin benzoate, and aloperine with trunk-injection slowed the spread of pine wilt disease with a field efficacy above 80%. All liquid-formulated residue concentrations in the trunk xylem were reached except dead pine trees one year after injection the maximum residue concentration was found with emamectin benzoate [having at least (0.15 ± 0.11) mg·kg⁻¹]. Also, after injection all pine trees died due to BX nematodes with an average BX nematode content of at least 897.34 g⁻¹ in the trunk xylem. Thus, because of its favorable effect and long duration of efficacy, this liquid-formulated pesticide injection could be popularized and used in practical control. [Ch, 3 tab. 24 ref.]

Key words: forest protection; *Bursaphelenchus xylophilus*; chemical control; trunk-injection agent; residue de-

收稿日期: 2015-06-22; 修回日期: 2015-11-09

基金项目: 国家林业公益性行业科研专项(201204501); 浙江省景宁县科技计划项目(2014A05-2)

作者简介: 李桥, 工程师, 从事农林病虫害测报、防治和害虫生物学研究。E-mail: liqiaoxinong@126.com。通

信作者: 张绍勇, 博士, 从事生物农药研究。E-mail: 1zhangshaoyong@163.com

tection; field efficacy

松材线虫 *Bursaphelenchus xylophilus* 是目前国际公认的检疫对象, 能引起林业上的最具毁灭性病害——松材线虫病^[1-2], 其原产于北美地区, 但在中国和日本造成的损失最为严重^[3-4]。在传入中国的 30 多年中, 此病迅速蔓延, 国内外学者、林业技术人员等对其防治手段进行不断探索与实践, 但至今尚未找到根除松材线虫病的方法^[5]。在众多松材线虫病的防治方法中, 注干施药是一种有效、安全的防治技术, 对未感病松树进行药剂注干能够起到很好的预防效果, 特别适合于重点风景名胜、自然文化遗产等地区的松材线虫病的防治, 在害虫种群的有效控制和保护天敌方面发挥着重要作用^[5-6]。对于注干药剂的筛选, 国内外学者也做了大量研究, 其中日本、葡萄牙等都开发预防松材线虫病的注射针剂^[6-7]。进入 21 世纪, 中国加大了对松材线虫病防治药物的筛选研究^[8-11], 取得了系列成果。在实际应用中, 林茂松等^[12]引入日本 2%阿维菌素针注射试验, 证明的确能预防松材线虫病。贾进伟^[13]研究了甲维盐注干对松材线虫病的预防和治疗效果表明, 提前注干预防对松材线虫的效果达 100%; 线虫侵染树体后 20 d 注药, 治疗效果仅为 20%, 林间试验注药预防 1 次, 可连续 3 a 将马尾松 *Pinus massoniana* 的死亡率控制在 1%以下, 说明注干防治可在一定程度上防控松材线虫的发生与传播。本研究选取市场上应用较多的 6 种药剂, 进行其林间防治效果试验并比较分析, 采用高效液相色谱测定了松树体内各药剂主要有效成分的残留量, 并利用松材线虫恒温扩增核酸试纸条检测试剂盒测定了注药前后死亡松树体内是否含有松材线虫。试验结果为松材线虫的有效防控提供数据参考。

1 材料与方法

1.1 供试仪器

Waters 600-2998 高效液相色谱仪(Waters Symmetry C18 250×4.6×5 μm), SPE 净化柱(C18, Vac 3 cc/200 mg), 美国 Waters 公司生产; IKA RV10 基本型立式旋转蒸发仪, 中国广州仪科实验室技术有限公司生产; 超声波清洗仪 KQ-500, 中国昆山市超声仪器有限公司生产; 摇摆式万能高速粉碎机, 中国温岭市林大机械有限公司生产; CGD-8 侧挂式电动打孔机, 中国临沂华森林业药械有限责任公司生产。

松材线虫恒温扩增核酸试纸条检测试剂盒及相关配件, 中国杭州优思达生物技术有限公司生产。

1.2 供试药剂

甲维盐标准品(质量分数为 97%), 阿维菌素标准品(质量分数为 99%), 中国浙江海正药业有限公司生产; 啶虫脒标准品(质量分数为 97%), 中国郑州绿康化工有限公司生产; 苦参碱(质量分数为 99%), 中国西安瑞仁生物技术有限公司生产; 甲醇、乙腈等试剂为色谱纯, 其他试剂均为分析纯, 中国国药集团化学试剂有限公司生产。

6 种注干药剂分别为质量分数为 1.0%的阿维菌素微胶囊悬浮剂(A), 质量分数为 3.0%的甲维盐松材线虫注干防治剂(B), 质量分数为 3.2%的阿维菌素注干剂(C), 质量分数为 5.0%的啶虫脒注干剂(D), 质量分数为 1.0%的甲维盐松材线虫注射液(E), 质量分数为 0.3%的苦参碱松材线虫疫苗注射液(F)。均购买自市场(鉴于行业关系, 不提供生产厂家)。

1.3 试验方法

1.3.1 林间防治试验 注干试验地于浙江省景宁畲族自治县沙湾镇仙姑村 3, 4, 11 和 12 号小班松材线虫病发生区, 为独立山头, 共计 33.3 hm^2 , 距村 1 000 m, 属纯马尾松林, 平均树高 15 m, 平均胸径 20 cm, 密度 1 050 株· hm^{-2} 左右。将试验地随机划分为 8 块标准样地, 标准样地 0.67 hm^2 , 样地间距大于 500 m。其中 6 种注干药剂各 1 块, 清理及不清理枯死松树处理各 1 块作为对照。除清理枯死松树对照标准样地(仅 2013 年 1 月 10 日清理)外, 其他试验标准样地不进行枯死松树处理(2012 年 9 月至 2015 年 1 月)。于 2013 年 1 月 10 日注干药剂标准样地选择 500 株健康马尾松树按照厂家使用要求注干施药(50 $\text{mL}\cdot\text{株}^{-1}$), 药剂注干部位距离地面松树基部 10 cm 处, 注干后用红色喷漆进行编号标记并在册记录, 清理枯死松树和不清理枯死松树对照区分别选择 500 株健康马尾松进行标记并编号。注药当日(2013 年 1 月 10 日), 分别调查统计 7 块标准样地(除清理枯死松树对照样地)的松树枯死数量, 并分别于 2014 年 1 月 10 日和 2015 年 1 月 10 日调查 8 块标准样地中, 标记 500 株马尾松树的死亡数量。

1.3.2 松树体内各药剂残留量测定 ①样品采集：用高枝剪勾取注药3个月和1 a后的相同试验马尾松主干树枝5段(至少50 cm长)，每种注干药剂取样30株树，其中每标准样地中死亡马尾松树全部取样，于实验室内自然阴干，粉碎机打成细小木屑后备用。②样品提取和净化^[13]：称取备用木屑100.0 g于1 000 mL三角瓶中，加入300 mL $V(\text{丙酮}):V(\text{水})=1:1$ 混合液，震荡提取30 min，重复3次，过滤去除残渣后合并提取液，40 ℃水浴减压浓缩至干，用10 mL $V(\text{甲醇}):V(\text{水})=80:20$ 混合液溶解，2 000转·min⁻¹离心5 min，取上清液过0.45 μm滤膜，待净化。采用C18-SPE柱净化，分别用5 mL的 $V(\text{甲醇}):V(\text{水})=80:20$ 混合液活化和平衡小柱，取1 mL待净化提取液上样，然后用20 mL甲醇淋洗3次后(上样和洗脱过程中流速保持1 mL·min⁻¹)，收集洗脱液150 mL圆底烧瓶中，无水硫酸镁干燥30 min后，40 ℃水浴减压浓缩至干，用1 mL甲醇溶解残留物后待高效液相色谱(HPLC)检测。③样品残留量检测分析：各种药剂的分析方法参考下列国家标准和文献并加以改进：甲维盐和阿维菌素参照SNT 2114-2008《进出口水果和蔬菜中阿维菌素残留量检测方法 液相色谱法》测定，啉虫脲参照GB/T 23584-2009《水果、蔬菜中啉虫脲残留量的测定》进行测定，苦参碱参照文献[14]的方法测定。采用外标法将各药剂将配制质量浓度为0.1, 0.5, 1.0, 5.0, 10.0 mg·L⁻¹的系列标准工作溶液，按照分析方法中注干药剂的仪器色谱条件进行测定，并绘制标准曲线。④添加回收率：将未注药的空白木段，阴干，粉碎，30 ℃下烘箱烘干至质量不再变化，每20 g空白木屑中添加一定量的药剂标准品，将空白木屑中药剂添加水平调整到分别为0.05 mg·kg⁻¹，重复3次，按上述①②③顺序方法对样品进行提取、净化，测定添加回收率。

1.3.3 枯死松树松材线虫阳性及含量检测 将样地中注干后所有死亡松树进行取样、线虫分离并统计松材线虫含量，利用松材线虫恒温扩增核酸试纸条检测试剂盒进行阳性检测、结果读判。结果描述及判定标准为：阴性：仅在质控区C出现1条红线，表示样品中无松材线虫。阳性：出现2条红线，1条检测线，1条质控线，表示样品中存在松材线虫。无效：无红色线条出现，表明核酸试纸条失效或一次性核酸检测装置损坏，使用原样本重新扩增和检测。

1.4 数据统计方法

数据采用软件SPSS 20.0进行统计分析。

2 结果与分析

2.1 药剂注干后防治效果

林间各处理防治效果见表1。由表1可知：与不清理死树对照区相比，各种注干药剂施药对松材线虫病的防治效果显著，均与对照组差异显著($P<0.05$)。各注干药剂在注干2 a后将马尾松的死亡率控制在0.4%~4.4%，防治效果为58.49%~96.23%；6种防治药剂中，3.0%甲维盐注干防治剂、3.2%阿维菌素注干剂、5.0%啉虫脲注干剂防治效果较好，1 a后其注干标准样地松树死亡率分别为0.4%，0.8%和0.6%，防治效果均大于82.61%，药后2 a其防治效果均大于86.79%，与其他几种处理有显著性差异($P<0.05$)；1.0%阿维菌素微胶囊悬浮剂及1.0%甲维盐注射液的防治效果大于79.25%；0.3%苦参碱疫苗

表1 各种药剂防治效果

Table 1 Control effect of different trunk injections in forest

药剂	注干松树/株	死亡松树/株 (药后1 a/2 a)	松树死亡率/% (药后1 a/2 a)	防治效果/%	
				药后1 a	药后2 a
A	500	7/11	1.4/2.2	69.57 c	79.25 c
B	500	2/2	0.4/0.4	91.30 a	96.23 a
C	500	4/5	0.8/1.0	82.61 b	90.57 ab
D	500	3/7	0.6/1.4	86.96 ab	86.79 b
E	500	6/10	1.2/2.0	73.91 c	81.13 c
F	500	12/22	2.4/4.4	47.83 e	58.49 e
G	500	10/20	2.0/4.0	56.52 d	62.26 d
H	500	23/53	4.6/10.6		-

说明：字母相同代表在 $\alpha=0.05$ 水平上没有显著性差异。

注射液较差。清理死树对照也有一定的效果，松树死亡率分别仅为 2.0%和 4.0%，不清理死树对照样地的马尾松死亡率最高，2 a 后高达 10.6%，与整片林地防治前的平均死亡率相当(约为 10.0%)。

2.2 松树体内各药剂残留量

采用高效液相色谱测定了各药剂的质量分数，添加回收率均在 85%以上。6 种药剂有效成分在药后 3 个月和 1 a 在树体内均能被检测到(表 2)。其中，5.0%啉虫脒注干剂与 3.0%甲维盐注干防治剂在药后 3 个月检测，树体内残留药剂质量分数最高，分别为(5.67 ± 1.07)和(2.65 ± 0.35) mg·kg⁻¹；而在药后 1 a，3%甲维盐注干防治剂、1.0%甲维盐注射液在树体内残留质量分数较高，分别为(0.95 ± 0.11)和(0.15 ± 0.04) mg·kg⁻¹，说明各药剂能在树体内有一定的持效期。对药后死亡松树进行药剂残留量检测，所有药剂均未被检测到。

表 2 各种药剂注干后树体内后药剂残留量

Table 2 Residue of different trunk injections in pine tree

药剂	添加回收率/%	取样松树数/株	药后 3 个月树体内药剂平均 均残留量/(mg·kg ⁻¹)	药后 1 a 树体内药剂平均 残留量/(mg·kg ⁻¹)	死亡松树体内药剂平均残 留量/(mg·kg ⁻¹)
A	100.25 ± 1.32	30	0.005 ± 0.002 0	0.002 0 ± 0.000 5	0
B	99.86 ± 2.16	30	2.650 ± 0.350 0	0.950 0 ± 0.110 0	0
C	97.86 ± 0.76	30	0.250 ± 0.075 0	0.050 0 ± 0.003 0	0
D	95.86 ± 0.26	30	5.670 ± 1.070 0	0.140 0 ± 0.060 0	0
E	99.13 ± 3.11	30	1.340 ± 0.650 0	0.150 0 ± 0.040 0	0
F	85.13 ± 2.46	30	0.010 ± 0.002 0	0.001 0 ± 0.000 5	0

2.3 枯死松树松材线虫阳性及线虫数量检测

采用松材线虫恒温扩增核酸试纸条检测试剂盒，对样地中注干后所有死亡松树采用贝尔曼漏斗法进行线虫分离，并进行线虫阳性检测。结果表明：所有死亡松树内均含有松材线虫，含线虫数量至少为 897.34 条·g⁻¹。

表 3 注干后枯死松树松材线虫阳性及线虫数量检测

Table 3 Positive and quantitative detection of *Bursaphelenchus xylophilus* in died pine tree

药剂	死亡松树数(药后 1 a)/株	阳性检测	死亡松树数(药后 2 a)/株	阳性检测	平均线虫数量(药后 2 a)/(条·g ⁻¹)
A	7	全部阳性	11	全部阳性	1 678.45
B	2	全部阳性	2	全部阳性	1 376.47
C	4	全部阳性	5	全部阳性	2 311.20
D	3	全部阳性	7	全部阳性	897.34
E	6	全部阳性	10	全部阳性	899.11
F	12	全部阳性	22	全部阳性	1 356.20
G	10	全部阳性	20	全部阳性	3 421.70
H	23	全部阳性	53	全部阳性	2 996.78

3 结论与讨论

研究了 6 种药剂注干施药防控松材线虫的林中效果，并初步测定了药剂主要成分注药 3 个月和 1 a 后在树体内残留动态及添加回收率。各药剂有效成分注干后在松树体内均能被检测到，其中 5.0%啉虫脒注干剂与 3.0%甲维盐注干防治剂在药后 3 个月检测质量分数最高，分别为(5.67 ± 1.07)和(2.65 ± 0.35) mg·kg⁻¹，均高于药剂对松材线虫的 95%致死浓度值($L_{0.95}$)0.75 mg·kg⁻¹，而在药后 1 a，3.0%甲维盐注干防治剂质量分数较高为(0.95 ± 0.11) mg·kg⁻¹，依然高于 $L_{0.95}$ (0.75 mg·L⁻¹)^[13]，注药 2 a 后，尽管马尾松的死亡率由防治 1 a 后的 0.2%~2.4%增加至防治 2 a 后的 0.4%~4.4%，药剂持效期有所下降，但其防治效果还是有所提高，所有药剂在注干 2 a 后防治效果在 80%以上(除 0.3%苦参碱疫苗注射液外)，说明各药剂能在树体内有一定的持效期且能一定程度杀死线虫。

药剂在树木体内传导与蒸腾作用有极其密切的关系。药剂在树体内的长距离输导发生在木质部(向

顶性)或韧皮层(向顶性和向基性)^[15],而在散孔材和针叶树体内的输导则是在整个木质部边材中进行^[16]。接种试验和组织病理学研究表明:树脂道泌脂细胞最先受到线虫侵袭,造成轴向和射线薄壁细胞死亡^[17]。受害树木木质部中的射线薄壁细胞的死亡可以使管胞空穴化,因而造成木质部输水堵塞,致使药剂在树体内传导缓慢甚至不能传导^[18-19]。同时,树木的种类、树龄及天气条件如温度、湿度、风速等都会影响树木对水分及药剂的吸收和传导,杀虫剂的理化性质对传导速度和传导量的影响更为明显,因此,即使药剂注干,仍可能传导不充分或不传导,从而导致部分树木受松材线虫病危害而缓慢死亡^[20]。对药后死亡松树体内没有检测到药剂残留量,说明药剂并未随树木蒸腾作用在体内传导,没有对松材线虫起到预防作用。对死亡松树中进行松材线虫检测均呈阳性且线虫数量均大于 897.34 条·g⁻¹也证明了残留检测结果。

本试验中,砍伐松林中死树是一种传统的防治手段,但不能清除林中且有隐蔽性“松材线虫病潜在携带者”的松树^[2]。据 FUTAI^[21]报道:松树感染松材线虫后,受到外界环境如气候变冷、温度过高等影响,松材线虫在松树体内繁殖受到严重影响,进入“潜伏期”,致使松树不能立刻表现出症状或发病死亡,但这些松树缓慢的变化,难逃松材线虫的传播媒介松墨天牛 *Monochamus alternatus* 的“法眼”,依然可以传播松材线虫。野外观察结果证实,在线虫侵染的初期,进入树木的线虫大多分布在侵染点周围,线虫群体的增长则是在病树分泌树脂停止和出现外部症状后开始,树脂道、射线和形成层内出现空洞,并缓慢延伸至皮层和木质部,引起组织的破坏,导致松树在 1~2 a 内死亡^[22]。实验中清理死树对照区 2 a 后,松树死亡率还是有明显的增加(表 1),与上述研究结果相符。

注干施药防治松材线虫,是一种“打点控面”的防治技术,注入树体内的药剂在一定程度上可以灭杀松材线虫^[6,12,23],也可影响松墨天牛的生长发育,控制松墨天牛种群密度,抑制其传播松材线虫^[24]。上述 6 种药剂注药 2 a 后的松树死亡率较不清理死树对照区域明显降低。从防治后的数据得知,高浓度的甲维盐、阿维菌素系列药剂防效均在 80%以上,对新疫点的拔除,老疫点控制均具有实际应用价值,推荐在重点防治区预防应用。

4 参考文献

- [1] MAMIYA Y, ENDA N. Transmission of *Bursaphelenchus lignicolus* (Nematoda: Aphelenchoididae) by *Monochamus alternatus* (Coleoptera:Cerambycidae) [J]. *Nematologica*, 1971, **18**(2): 159 – 162.
- [2] YANG Baojun, WANG Qiuli. Distribution of the pinewood nematode in China and susceptibility of some Chinese and exotic pines to the nematode [J]. *Can J For Res*, 1989, **19**(12): 1527 – 1530.
- [3] MOON Y S, LEE S M, PARK J D, *et al.* Distribution and control of the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* and its vector Japanese pine sawyer, *Monochamus alternatus* [J]. *J For Sci*, 1995, **51**: 119 – 126.
- [4] OH I J, JU W T, KIM Y J, *et al.* Occurrence of *Bursaphelenchus mucronatus* (Nematoda: Aphelenchoididae) and the microhabitat distribution of fungi in declining pine trees in a locale in Korea [J]. *Entomol Res*, 2014, **44**(3): 93 – 101.
- [5] 李兰英, 高岚, 温亚利, 等. 松材线虫病研究进展[J]. 浙江林业科技, 2006, **26**(5): 74 – 79.
LI Lanying, GAO Lan, WEN Yali, *et al.* Advance in research on *Bursaphelenchus xylophilus* [J]. *J Zhejiang For Sci Technol*, 2006, **26**(5): 74 – 79.
- [6] TAKAI K, SOEJIMA T, SUZUKI T, *et al.* Emamectin benzoate as a candidate for a trunk-injection agent against the pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* [J]. *Pest Manage Sci*, 2000, **56**(10): 937 – 941.
- [7] SOUSA E, NAVES P, VIEIRA M. Prevention of pine wilt disease induced by *Bursaphelenchus xylophilus* and *Monochamus galloprovincialis* by trunk injection of emamectin benzoate [J]. *Phytoparasitica*, 2013, **41**(2): 143 – 148.
- [8] 赵博光, 吴如其, 李小平. 苦豆碱防治松材线虫病的林间试验[J]. 林业科学, 1998, **34**(6): 113 – 117.
ZHAO Boguang, WU Ruqi, LI Xiaoping. Field tests of controlling the pine wilt disease with the alkaloid-aloperine [J]. *Sci Silv Sin*, 1998, **34**(6): 113 – 117.
- [9] 来燕学, 池树友, 王亚红, 等. 杀灭松材线虫的高效药物筛选与毒性测定[J]. 浙江农林大学学报, 2011, **28**(3): 479 – 485.
LAI Yanxue, CHI Shuyou, WANG Yahong, *et al.* Pesticide toxicity and selection for the pine wood nematode [J]. *J Zhejiang A & F Univ*, 2011, **28**(3): 479 – 485.

- [10] 翁群芳, 钟国华, 胡美英, 等. 骆驼蓬提取物对松材线虫的生物活性及生理效应[J]. 中国农业科学, 2005, **38**(10): 2014 – 2022.
WENG Qunfang, ZHONG Guohua, HU Meiyang, *et al.* Bioactivities and physiological effects of extracts of *Peganum harmala* against *Bursaphelenchus xylophilus* [J]. *Sci Agric Sin*, 2005, **38**(10): 2014 – 2022.
- [11] 胡林, 徐汉虹, 梁明龙. 鱼藤酮水基纳米悬浮剂的特性及对松材线虫的杀虫作用[J]. 农药学学报, 2005, **7**(2): 171 – 175.
HU Lin, XU Hanhong, LIANG Minglong. The characterization of aqueous nanosuspension of rotenone and the bioactivity against *Bursaphelenchus xylophilus* [J]. *Chin J Pestic Sci*, 2005, **7**(2): 171 – 175.
- [12] 林茂松, 周国明. 2%阿维菌素乳油对松材线虫的生物活性测定[J]. 农药学学报, 2001, **3**(3): 40 – 44.
LIN Maosong, ZHOU Guoming. The activity of abamectin for pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* control [J]. *Chin J Pestic Sci*, 2001, **3**(3): 40 – 44.
- [13] 贾进伟. 甲维盐注干施用对松材线虫病防治机理初探[D]. 临安: 浙江农林大学, 2013.
JIA Jinwei, *Primary Research on Prevention Mechanism of Emamectin Benzoate Trunk Injection Against Pine Wilt Disease* [D]. Lin'an: Zhejiang A & F University, 2013.
- [14] 孙扬, 徐应明, 秦冬梅, 等. 苦参碱在黄瓜和土壤中的检测方法及其残留动态研究[J]. 农业环境科学学报, 2010, **29**(4): 686 – 691.
SUN Yang, XU Yinming, QIN Dongmei, *et al.* Residue detection and degradation of matrine in cucumber and soil[J]. *J Agro-Environ Sci*, 2010, **29**(4): 686 – 691.
- [15] MENDEL R M, RECKMANN U, FÜHR F. Xylem transport of the pesticide in imidacloprid in *Citrus* [J]. *Acta Horti*, 2000, **531**(18): 129 – 134.
- [16] REARDON R C, BARRETT L J, KPERBER T W, *et al.* Implantation and injection of systemic to suppress seed and cone insects in Douglas fir in Montana [J]. *Can Entomol*, 1985, **117**(8): 961 – 969.
- [17] KUSUNOKI M. Symptom development of pine wilt disease-histopathological observations with electron microscope [J]. *Jpn J Phytopathol*, 1987, **53**(5): 622 – 629.
- [18] IKEDA T, SUZAKI T. Influence of pine-wood nematodes on hydraulic conductivity and water status in *Pinus thunbergii* [J]. *J Jpn For Soc*, 1984, **66**(10): 412 – 420.
- [19] FUKUDA K, HOGETSU T, SUZUKI K. Cavitation and cytological changes in xylem of pine seedling inoculated with virulent and avirulent isolates of *Bursaphelenchus xylophilus* and *B. mucronatus* [J]. *J Jpn For Soc*, 1992, **74**(4): 289 – 299.
- [20] 唐光辉, 陈安良, 冯俊涛, 等. 树干注药技术研究进展[J]. 西北林学院学报, 2006, **21**(4): 117 – 120.
TANG Guanghui, CHEN Anliang, FENG Juntao, *et al.* Review on trunk injection technique [J]. *J Northwest For Univ*, 2006, **21**(4): 117 – 120.
- [21] FUTAI K. Role of asymptomatic carrier trees in epidemic spread of pine wilt disease [J]. *J For Res*, 2003, **8**(4): 253 – 260.
- [22] MAMIYA Y. Initial pathological changes and disease development in pine trees induced by the pine wood nematode *Bursaphelenchus xylophilus* [J]. *Jpn J Phytopathol*, 1985, **51**(5): 546 – 555.
- [23] TAKAI K, SUZUKI T, KAWAZU K. Development and preventative effect against pine wilt disease of a novel liquid formulation of emamectin benzoate [J]. *Pest Manage Sci*, 2003, **59**(3): 365 – 370.
- [24] 张爱良, 贾进伟, 张旭, 等. 甲维盐注干施用对松墨天牛种群的影响[J]. 中国森林病虫, 2014, **33**(1): 8 – 10.
ZHANG Ailiang, JIA Jinwei, ZHANG Xu, *et al.* Influence of trunk-injection of emamectin benzoate on *Monochamus alternatus* [J]. *For Pest Dis*, 2014, **33**(1): 8 – 10.