

杀灭松材线虫的高效药物筛选与毒性测定

来燕学¹, 池树友¹, 王亚红¹, 张毅丰¹, 韩正敏²

(1. 浙江省宁波市森林病虫害防治检疫站, 浙江 宁波 315010; 2. 南京林业大学 森林资源与环境学院, 江苏 南京 210037)

摘要: 为筛选出对松材线虫 *Bursaphelenchus xylophilus* 具有高效快速杀灭作用的药物, 采用线虫悬浮液 + 农药的直接触杀法, 选择了 22 种药物处理松材线虫 1 h, 测定了对松材线虫的半致死浓度(LC₅₀)。结果表明: 不同药物对松材线虫表现出不同的杀灭作用, 供试的 22 种药物中, 甲基阿维菌素(甲维盐)杀灭效果最好, 1 h 半致死浓度仅为 0.3 mg·L⁻¹; 杀螟丹效果最差, 1 h 半致死浓度达 21 053 mg·L⁻¹。另外, 苦参碱、抑太保、溴氰菊酯和阿维菌素等 4 种药物对松材线虫具有很强的毒杀作用, 其 1 h 半致死浓度分别为 1.2, 2.5, 4.2 和 4.5 mg·L⁻¹。甲维盐和阿维菌素能高效快速杀灭松材线虫; 这些对松材线虫高效敏感药物的筛选成功, 为开发树干注射剂防治松材线虫病提供了基础。图 1 表 3 参 25

关键词: 森林保护学; 松材线虫; 药剂防治; 毒性; 甲维盐; 阿维菌素; 半致死浓度

中图分类号: S763.3 **文献标志码:** A **文章编号:** 2095-0756(2011)03-0479-07

Pesticide toxicity and selection for the pine wood nematode

LAI Yan-xue¹, CHI Shu-you¹, WANG Ya-hong¹, ZHANG Yi-feng¹, HAN Zheng-min²

(1. Forest Pest Control and Quarantine Center of Ningbo City, Ningbo 315010, Zhejiang, China; 2. College of Forest Resources and Environment, Nanjing Forestry University, Nanjing 210037, Jiangsu, China)

Abstract: To determine highly toxic and fast-acting pesticides to combat the pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*), a toxicity test of 22 kinds of pesticide used against the pine wood nematode (PWN) was conducted using a PWN suspension liquid plus pesticide with a processing time of 1 h to determine a median lethal concentration (LC₅₀) for each pesticide. Results showed that the LC₅₀ after a 1 h treatment was best with emamectin (0.3 mg·L⁻¹) and worst with cartap (21.053 g·L⁻¹). In addition, four kinds of pesticide revealed acute activity toward the pine wood nematode with an LC₅₀ after 1 h treatment of: matrin (1.2 mg·L⁻¹), chlorfluazuron (2.5 mg·L⁻¹), deltamethrin (4.2 mg·L⁻¹), and abamectin (4.5 mg·L⁻¹). This meant that emamectin and abamectin could quickly and efficiently kill PWN, and the selected pesticides with acute activity to PWN could be used to develop a trunk injection against pine wilt disease. [Ch, 1 fig. 3 tab. 25 ref.]

Key words: forest protection; *Bursaphelenchus xylophilus* (pine wood nematode); chemical control; toxicity; emamectin; abamectin; median lethal concentration (LC₅₀)

松材线虫 *Bursaphelenchus xylophilus* 病在中国蔓延扩散, 已经导致大量松树 *Pinus* spp. 枯萎死亡, 局部地区松林毁灭, 造成生态灾难^[1-2]; 一些景区, 由于松材线虫病危害, 名贵古松大量消失, 造成不可弥补损失^[3]。控制传播媒介昆虫——松墨天牛 *Monochamus alternatus*, 仍是目前防治松材线虫病的技术方法。这些方法多缺乏针对性或在山地对高大树体不便使用、难以到位, 效果不尽人意。用药物在松树基部“打一针”而起到预防松材线虫病, 是保护松林安全必须突破的技术和方法。日本在这一领域已

收稿日期: 2010-04-29; 修回日期: 2010-12-06

基金项目: 浙江省宁波市科技基金资助项目(2003C10067)

作者简介: 来燕学, 教授级高级工程师, 从事森林病虫害防治研究。E-mail: 87169312@163.com

做了许多很有成效的工作^[4-5]；中国研究者也为实现这个目标做了一些工作，但尚处于药物筛选^[6-14]或简单注射试验过程之中^[15-16]。为突破这项关键技术，作者收集了 22 种常用农药，在室内做了筛选和毒性测定，获得了对松材线虫具有高度敏感的药物，展示了良好的开发应用价值。

1 材料和方法

1.1 供试农药

供试农药共 22 种，从市场上选购。其中 4 种为有机磷，3 种为特异性昆虫生长调节剂，6 种为杀螨剂，3 种菊酯类杀虫剂，2 种为氨基甲酸酯类杀虫剂，4 种为其他杀虫剂(表 1)。

表 1 供试药物名录

Table 1 List of tested pesticides

农药种类	化学名称	类别	剂型	生产企业
乐果	O, O-二甲基-S-(N-甲基氨基甲酰甲基)二硫代磷酸酯	有机磷杀虫杀螨剂	40%乳油, 内吸	中国杭州庆丰农化有限公司
辛硫磷	O, O-二乙基-O- α -氰基苯叉胺基硫逐磷酸酯	有机磷杀虫剂	40%乳油	中国江苏宝灵农药化工公司
乙酰甲胺磷	O, S-二甲基乙酰基硫代磷酸酯	有机磷杀虫剂	30%乳油, 内吸	中国江苏化工农药集团
敌敌畏	O, O-二甲基-O-(2, 2-二氯)乙烯基磷酸酯	有机磷类杀虫剂	80%乳油	中国山东高密康丰农化有限公司
灭幼脲三号	1-(2-氯苯甲酰基)-3-(4-氯苯基)脲	特异性昆虫生长调节剂	25%悬浮剂	中国吉林通化农药化工有限公司
抑太保	1-(3, 5-二氯-4-(3-氯-5-三氟甲基-2-吡啶氧基)苯基)-3-(2, 6-二氟苯甲酰基)脲	除虫脲类杀虫剂	5%乳油	日本石原产业株式会社
噻嗪酮	2-特丁基亚氨基-3-异丙基-5-苯基-3, 4, 5, 6-四氢-2H-1, 3, 5-硫二唑-4-酮	特异性调节剂	95%原粉	中国山东青岛瀚生生物科技有限公司
单甲脒	N-(2, 4-二甲苯基)-N, -甲基甲脒盐酸盐	有机氮杀螨剂	25%盐酸盐水剂, 内吸	中国浙江新安化工集团
卡死克	1-(2-氯-4-(三氟甲甲基)苯氧基)(2-氟-4-苯基)-3-(2, 6-二氟苯甲酰)脲	氟虫脲类杀螨杀虫剂	5%乳油, 内吸	中国上海高伦现代农业股份有限公司
扫螨净	2-叔丁基-5-(4-叔丁基苄硫基)-4-氯哒嗪-3-(2H)-酮	杀螨剂	15%乳油	中国江苏克胜集团有限公司
阿维菌素	α -L-齐墩果糖基- α -齐墩果糖基二糖-(13-烯丙基)-十六元大环内酯式	抗生素类杀螨剂	1.8%乳油	中国四川成都普惠生物工程有限公司
甲维盐	4“-表甲胺基-4”脱氧阿维菌素苯甲酸盐	抗生素类杀螨剂	0.2%乳油, 内吸	中国山东京博农化有限公司
三唑锡	1-(三环己基甲锡烷基)-1 氢-1, 2, 4-三氮杂茂	杀螨剂	25%可湿性粉剂	中国浙江禾本农药化学有限公司
氯氰菊酯	α -氰基-(3-苯氧苄基)(1RS)-1R, 3R-3-(2, 2-二氯乙烯基)-2, 2-二甲基环丙烷羧酸酯	菊酯类杀虫剂	4.5%乳油	中国江苏农药研究所
溴氰菊酯	α -氰基-3-苯氧苄基(1RS)顺式-3-(2, 2-二溴乙烯基)-2, 2-二甲基环丙烷羧酸酯	菊酯类杀虫剂	2.5%乳油	德国拜耳作物科学公司
联苯菊酯	3-(2-氯-3, 3, 3-三氟丙烯-1-基)-2, 2-二甲基环丙烷羧酸-2-甲基-3-苯基苄基酯	菊酯类杀虫剂杀螨剂	5%乳油	中国山东农药研究所
杀螟丹	1, 3-二-(氨基甲酰硫)-2-二甲基丙烷盐酸盐	氨基甲酸酯类杀虫剂	95%原粉	中国江苏溧阳市化工厂
涕灭威	O-(甲基氨基甲酰基)-2-甲基-2-甲硫基丙醛肟	氨基甲酸酯类杀虫杀线剂	5%颗粒剂	中国山东华阳有限公司
杀虫双	2-二甲胺基-1, 3-双硫代磺酸钠基丙烷	沙蚕类毒素杀虫剂	18%水剂, 内吸	中国江苏溧阳力华化学有限公司
锐劲特	(RS)-5-氨基-1-2 (2,6-二氯-4 α -三氟基苯基)-4-3-氟甲基亚磺酰基吡唑-3-腈	苯基吡唑类杀虫剂	5%悬浮剂	德国拜耳作物科学公司
吡虫啉	1-(6-氯-3-吡啶基甲基)-N-硝基亚咪唑烷-2-基胺	硝基亚甲基类杀虫剂	5%乳油, 内吸	中国江苏克胜集团有限公司
苦参碱	苦参总碱	植物源类杀虫剂	0.36%水剂	中国浙江湖州绿纯生物科技有限公司

1.2 供试线虫

松材线虫分离自南京紫金山自然感病枯死的黑松 *Pinus thunbergii* 病木。先将病死树木材切成薄片，用贝曼漏斗法分离得到线虫。得到的线虫经镜检确认为松材线虫后，挑取雌成虫 10 条、雄成虫 4 条，置于长满灰葡萄孢菌 *Botrytis cinerea* 的马铃薯葡萄糖琼脂培养基(PDA)平板上，25 ℃恒温箱中培养。待线虫基本食完菌丝后，再进一步扩大培养。最后用无菌水将培养在灰葡萄孢平板上的线虫洗下，配制成浓度为 5 000 ~ 6 000 条·mL⁻¹ 的线虫悬浮液，供试验备用。

1.3 测定方法

药效测定采用线虫悬浮液+农药直接接触杀法。即把各种农药配制成一定的质量浓度，在试管内同时加入 1 mL 一定质量浓度的农药和 1 mL 线虫悬浮液，震动混合后放置一定时间，在显微镜下检查线虫的成活情况，统计线虫死亡率。具体分 3 个步骤：①把各种农药按商品剂型稀释成 100，500，1 000，5 000，10 000 和 50 000 倍液，用这一系列质量浓度稀释液处理线虫 1 h，先找出各种农药的开始死亡浓度(校正死亡率 20%以下的质量浓度)和全部死亡浓度(100%死亡的质量浓度)；②以这 2 个质量浓度为基准，其间再设 3 ~ 4 个质量浓度梯度，处理线虫并检查线虫在各个质量浓度下的死亡率，得出校正死亡率；③计算农药质量浓度和线虫校正死亡率之间的回归方程。根据回归方程，计算线虫校正死亡率在 50%时的农药处理质量浓度(按农药有效成分含量计)，即为该农药对松材线虫的半致死浓度(LC₅₀)。

2 结果与分析

供试的 22 种农药，经溶解稀释后对松材线虫测定了致死作用(表 2)。结果表明，所筛选的药物对松材线虫均有毒性但是差异很大，最强的是甲维盐，1 h 半致死中浓度为 0.3 mg·L⁻¹，最小的是杀螟丹，1 h 半致死中浓度为 21 053.0 mg·L⁻¹。

表 2 22 种农药对松材线虫半致死浓度测定
Table 2 LC₅₀ determination of 22 kinds of liquid pesticides against *Bursaphelenchus xylophilus*

农药种类	稀释倍数/死亡率/%				回归方程	回归系数	1 h LC ₅₀ /(mg·L ⁻¹)
	1	2	3	4			
乐果	100/68.0	200/52.0	500/10.0		$y = 81.69 - 0.144\ 0\ x$	$r = -\ 0.999\ 6$	1 818.0
辛硫磷	1000/79.0	2 000/40.0	3 000/31.0	4 000/0.0	$y = 99.00 - 0.024\ 6\ x$	$r = -\ 0.97\ 6$	201.0
乙酰甲胺磷	100/71.0	200/56.0	300/42.0	400/30.0	$y = 84.00 - 0.137\ 0\ x$	$r = -\ 0.999\ 0$	1 210.0
敌敌畏	1 000/80.0	2 000/60.0	5 000/0		$y = 100.00 - 0.020\ 0\ x$	$r = -\ 1.000\ 0$	320.0
灭幼脉三号	100/75.0	200/70.0	500/39.0	800/16.0	$y = 84.93 - 0.087\ 0\ x$	$r = -\ 0.997\ 0$	625.0
抑太保	10 000/60.5	20 000/48.9	50 000/21.1		$y = 69.40 - 0.000\ 97\ x$	$r = -\ 0.999\ 0$	2.5
噻嗪酮	100/26.0	500/38.0	1 000/55.0	1 500/61.9	$y = 24.75 + 0.026\ 4\ x$	$r = 0.986\ 09$	956.0
单甲脒	10/52.0	20/49.0	50/44.0		$y = 53.462 - 0.192\ 0\ x$	$r = -\ 0.991\ 0$	13 889.0
卡死克	5 000/73.7	10 000/40.1	20 000/16.0		$y = 85.75 - 0.003\ 6\ x$	$r = -\ 0.960\ 0$	5.1
扫螨净	5 000/74.1	10 000/54.4	20 000/41.0		$y = 80.80 - 2.082\ 9\ x$	$r = -\ 0.955\ 4$	10.1
阿维菌素	2 000/65.3	3 000/51.7	4 000/48.0	5 000/46.8	$y = 73.67 - 0.005\ 9\ x$	$r = -\ 0.900\ 0$	4.5
甲维盐	1 000/62.0	5 000/57.0	10 000/38.0	15 000/33.3	$y = 64.95 - 0.002\ 24\ x$	$r = -\ 0.969\ 5$	0.3
三唑锡	500/44.2	1 000/48.0	2 000/57.0	4 000/67.0	$y = 41.86 + 0.006\ 5\ x$	$r = 0.990\ 0$	1 256.0
溴氰菊酯	4 000/57	5 000/54.0	6 000/52.0	7 000/44.3	$y = 73.88 - 0.004\ 0\ x$	$r = -\ 0.955\ 0$	4.2
氯氰菊酯	3 000/80	5 000/63.0	8 000/28.0		$y = 87.00 - 0.010\ 5\ x$	$r = -\ 0.996\ 6$	7.5
联苯菊酯	2 000/59.7	3 000/49.0	4 000/41.0	5 000/32.0	$y = 77.31 - 0.009\ 1\ x$	$r = -\ 0.998\ 0$	16.7
杀螟丹	10 000/45.0	20 000/51.0	50 000/60.0		$y = 42.46 + 0.000\ 36\ x$	$r = 0.986\ 0$	21 053.0
涕灭威	100/28.9	500/44.0	1 000/56.0	1 500/74.0	$y = 26.48 + 0.031\ 3\ x$	$r = 0.996\ 6$	752.0
杀虫双	5/53	10/50.0	20/44.0	50/28.0	$y = 55.497 - 0.553\ 0\ x$	$r = -\ 0.999\ 6$	1 811.0
锐劲特	5/52.0	10/48.0	20/45.9	30/42.1	$y = 52.91 - 0.363\ 4\ x$	$r = -\ 0.975\ 0$	6 250.0
吡虫啉	1 000/60.3	2 000/46.0	3 000/40.1	4 000/39.8	$y = 63.40 - 0.007\ 4\ x$	$r = -\ 0.906\ 0$	25.2
苦参碱	1 000/69.5	2 000/59.9	3 000/50.1	4 000/40.1	$y = 79.40 - 0.009\ 8\ x$	$r = -\ 0.999\ 9$	1.2

按所测药物对松材线虫 1 h 半致死浓度 LC_{50} , 可把 22 种药物分为 5 级: ①对松材线虫具有超强致死作用(1 h LC_{50} 小于 $2.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)的有 2 种: 甲维盐($0.3 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 苦参碱($1.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$); ②强致死作用(1 h LC_{50} 为 $2.0 \sim 6.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)的有 4 种: 抑太保($2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 溴氰菊酯($4.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 阿维菌素($4.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 卡死克($5.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$); ③较强致死作用(1 h LC_{50} 为 $6.0 \sim 26.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)有 4 种: 氯氰菊酯($7.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 扫螨净($10.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 联苯菊酯($16.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 吡虫啉($25.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$); ④中等致死作用(1 h LC_{50} 为 $26.0 \sim 1\,000.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)的有 5 种: 辛硫磷($201.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 敌敌畏($320.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 灭幼脲三号($625.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 涕灭威($752.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 噻嗪酮($956.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$); ⑤弱致死作用(1 h LC_{50} 大于 $1\,000.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)有 7 种: 乐果($1\,818.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 三唑锡($1\,256.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 乙酰甲胺磷($1\,210.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 锐劲特($6\,250.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 杀虫双($1811 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 单甲脒($13\,889.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 杀螟丹($21\,053.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$)。

按药物的大类分析, 菊酯类药物效果最好, 对松材线虫杀灭活性表现为极差最小, 1 h 半致死浓度区间为 $4.2 \sim 16.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 毒性最强, 1 h LC_{50} 平均数为 $9.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 。氨基甲酸酯类药物效果最差, 对松材线虫杀灭活性表现为极差最大, 1 h LC_{50} 区间为 $752.0 \sim 21\,053.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 毒性最弱, 1 h LC_{50} 平均数为 $10\,902.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ (表 3)。

表 3 农药大类对松材线虫半致死浓度与平均数

Table 3 Pesticide influence on LC_{50} and mean LC_{50} of *Bursaphelenchus xylophilus*

药物大类	供试种数	药物名称	药效范围 1 h LC_{50} / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)	平均数 1h LC_{50} / ($\text{mg} \cdot \text{L}^{-1}$)
有机磷	4	乐果, 辛硫磷, 乙酰甲胺磷, 敌敌畏	201.0 ~ 1 818.0	887.3
昆虫特异调节剂	3	灭幼脲三号, 抑太保, 噻嗪酮	2.5 ~ 956.0	527.8
杀螨剂	6	单甲脒, 卡死克, 扫螨净, 阿维菌素, 甲维盐, 三唑锡	0.3 ~ 13 889.0	2 527.5
菊酯类	3	溴氰菊酯, 氯氰菊酯, 联苯菊酯	4.2 ~ 16.7	9.5
氨基甲酸酯类	2	杀螟丹, 涕灭威	752.0 ~ 21 053.0	10 902.5
其他	4	杀虫双, 锐劲特, 吡虫啉, 苦参碱	1.2 ~ 6 250.0	2 021.9

按药物的化学类别分析, 对松材线虫 1 h 半致死浓度 LC_{50} 最强的是大环内酯类的抗生素, 即甲维盐和阿维菌素; 植物源苦参碱对松材线虫也有超强的杀灭作用; 菊酯类药物对松材线虫也有很强的杀灭活性, 所选的溴氰菊酯、氯氰菊酯和联苯菊酯 3 种菊酯均对松材线虫表现出高强致死性, 1 h LC_{50} 分别为 $4.2, 7.5, 16.7 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 特异性昆虫生长调节剂, 如虫脲类、噻酮类、硝基亚甲基类对松材线虫也有杀灭活性, 但差异较大。如除虫脲类的抑太保 1 h LC_{50} 为 $2.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 氟虫脲类的卡死克 1h LC_{50} 为 $5.1 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 硝基亚甲基类的吡虫啉 1 h LC_{50} 为 $25.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$; 有机磷类、沙蚕毒素类、氨基甲酸酯类或其他药物对松材线虫具有一定的致死作用但效果较差。

按药物所对应的靶标害虫分析, 杀螨剂对松材线虫表现出最敏感的杀灭特性, 如甲维盐、阿维菌素、卡死克、扫螨净和溴氰菊酯; 杀虫剂次之, 如苦参碱类、菊酯类和虫脲类, 甚至有机磷类都对线虫有致死作用; 杀线虫剂对松材线虫的活性最低, 如典型的杀线虫剂涕灭威对松材线虫 1 h 半致死浓度(LC_{50})为 $752.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$, 不及有机磷杀虫剂辛硫磷($201.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 敌敌畏($320.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 特别是杀螟丹($21\,053.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$), 表现出最弱的杀松材线虫活性, 实是意外。这说明药物按杀螨剂、杀虫剂、杀线剂分类对松材线虫没有实质意义。

药物质量浓度对松材线虫的触杀速度和杀灭率均有影响。选择扫螨净, 稀释 2 000 倍、5 000 倍、10 000 倍、20 000 倍和 50 000 倍, 分别处理松材线虫, 观察松材线虫的触杀速度和死亡率(图 1)。由图 1 可见, 扫螨净的浓度越高, 杀灭松材线虫的速度越快, 杀灭率亦越高; 浓度越低, 杀灭松材线虫的速度越慢, 杀灭率亦越低。2 000 倍的扫螨净, 经 10 min, 松材线虫的死亡率达到 68.2%, 经 1.5 h 死亡率达到 100%; 0.5 万倍的扫螨净, 经 10 min, 松材线虫的死亡率只达 20.8%, 经 2.0 h 死亡率才达到 100%; 1.0 万倍的扫螨净, 经 10 min, 松材线虫的死亡率只有 14.3%, 经 1.0 h 死亡率才达到 54.4%, 经 42.0 h, 松材线虫死亡率才达 93.0%。扫螨净处理 1.0 h, 0.2 万, 0.5 万, 1.0 万, 2.0 万倍和 5.0 万倍质

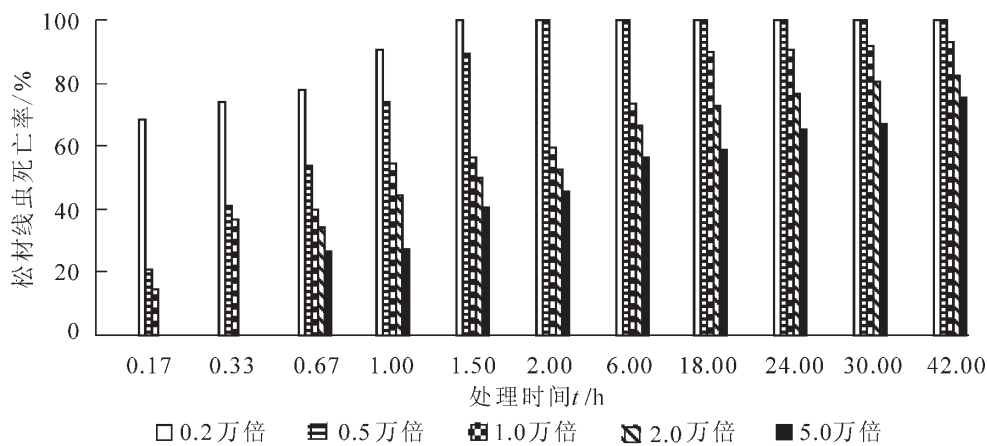


图 1 扫螨净不同质量浓度、不同时间处理松材线虫的死亡率

Figure 1 Effect of *Bursaphelenchus xylophilus* mortality rate on different concentrations and different treatments of pyriduben

量浓度所对应的松材线虫死亡率分别为 90.5%，74.1%，54.4%，44.0%和 27.5%，递减梯度较为明显。这里有 3 个现象值得注意：一是药物质量浓度与松材线虫死亡率不成比例。如 0.2 万倍的扫螨净处理 1.0 h，松材线虫死亡率 90.5%不是 2.0 万倍时死亡率 44.0%的 10 倍；二是处理时间与松材线虫死亡率不成比例。如 0.5 万倍的扫螨净处理 1/3 h，松材线虫死亡率 41.1%，不是处理 2/3 h 时的死亡率 53.8%的 2 倍；三是低质量浓度处理存在线虫不死现象，如 10 000 倍的扫螨净处理 1.0 h 松材线虫死亡率达到 54.4%，而到 42.0 h 观察，松材线虫死亡率只为 93.0%，没有达到 100%。

3 讨论

试验表明，多种药物对松材线虫有直接的触杀作用。大环内酯类抗生素对松材线虫有超强的触杀活性，尤其是甲基阿维菌素(甲维盐)杀虫活性最强，是传统杀线虫药物涕灭威的 2 506 倍；植物碱类苦参碱对松材线虫也有较高的触杀活性，1 h 半致死浓度(LC₅₀)只有 1.2 mg·L⁻¹；筛选的 5 个药物，甲维盐、苦参碱、抑太保、溴氰菊酯和阿维菌素等的 1 h LC₅₀ 小于 4.5 mg·L⁻¹，杀灭松材线虫活性很强。从理论上讲，1 m³ 蓄积树体只需注入这些药物 0.3，1.2，2.5，4.2 和 4.5 g，就能达到杀灭松材线虫的目的。近几年，国内对杀松材线虫药物筛选研究工作逐步深入，选出一批有效药物，尤其是植物源药物，表现出很高的杀虫活性，如苦豆碱 120 h LC₅₀ 达到 26.3 mg·L⁻¹ [9-10]，骆驼蓬碱 48 h LC₅₀ 可达 86.2 mg·L⁻¹ [11-12]，鱼藤酮丙酮溶液 24 h LC₅₀ 为 2.8 mg·L⁻¹，而其纳米悬浮剂 24 h LC₅₀ 为 0.38 mg·L⁻¹ [13]。上述比较可见：这些药物中，杀虫速度最快，用量最少还是甲基阿维菌素，而把甲基阿维菌素也改成纳米悬浮剂，效果值得进一步关注。

松材线虫的神经系统是多种药物敏感的靶标。松材线虫有发达的神经系统 [17]，这次筛选的甲维盐、阿维菌素、苦参碱和溴氰菊酯等的作用机制都是干扰害虫的神经生理活动的药物。甲维盐、阿维菌素通过刺激害虫的神经末梢触突，释放出神经传递抑制物质 GABA(γ-氨基丁酸)，导致受 GABA 控制的氯离子(Cl⁻)通道开关延迟开放，大量 Cl⁻涌入造成神经膜电位极化阻断神经传导使害虫死亡 [19-20]；苦参碱机理复杂多样，尚未彻底明了，但主要还是神经毒，作用于害虫的中枢神经，促进 GABA 和甘氨酸(Gly)释放 [21]，杀灭害虫；溴氰菊酯也是神经毒剂，作用于神经细胞膜的钠离子(Na⁺)和钙离子(Ca²⁺)离子通道，促使害虫麻痹死亡 [22]。松材线虫发达的神经系统成为高效的神经毒剂的靶标，使神经毒剂对松材虫有超强的杀灭活性。作用于乙酰胆碱酯酶(AchE)的神经毒剂对松材线虫也有作用，但相对较弱。松材线虫 4 d 一代，蜕皮频繁，用抑太保等生长调节剂，激活害虫的酚氧化酶和几丁质酶 [22-25]也能杀死松材线虫，是这次筛选试验的新发现，值得进一步研究。

松材线虫悬浮液加药触杀法比培养基喷药接种线虫法更能发挥药物效果。松材线虫悬浮液加药触杀法模拟了松材线虫在松树输导系统的生活环境，使农药能充分、均匀地与松材线虫接触，反映的线虫致死率更为准确、快速；而培养基喷药接种线虫法，要把农药喷洒在经 7 ~ 10 d 培养的灰葡萄孢菌丝上，再观察线虫的死亡率，药物难以与线虫充分、均匀地接触，测算的线虫死亡率难以准确，而且耗时费

功。这次测试的苦参碱,用松材线虫悬浮液加药触杀法 1 h LC_{50} 为 $1.2 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,而用培养基喷药接种线虫法, $100.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 苦参碱经 5 d,松材线虫繁殖抑制率才达到 36.3%^[25];阿维菌素,用松材线虫悬浮液加药触杀法 1 h LC_{50} 为 $4.5 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$,而用培养基喷药接种线虫法, $800.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$ 阿维菌素经 5 d,松材线虫死亡率才达到 41.2%^[8]。按这个思路,只要把阿维菌素等药物通过合适溶剂注入树木,均匀分布于树体就能达到预防松材线虫病目的。

涕灭威是专用杀线剂,对松材线虫的毒性曾有报道^[7]。本试验也寄予希望,但结果不理想,1 h 半致死浓度(LC_{50})仅为 $752.0 \text{ mg} \cdot \text{L}^{-1}$;而且,根据中华人民共和国农业部第 199 号公告(2008),涕灭威是不得在蔬菜、果树、茶叶、中草药上使用的限止使用药物,没有开发利用价值。其他有机磷如乐果、辛硫磷、乙酰甲胺磷和敌敌畏,虽然不被禁止,但考虑到环保发展需要和使用安全,开发利用价值也不高。考虑到对松材线虫活性和环保要求和使用安全方便,下一步最有开发价值的药物是甲维盐、苦参碱、抑太保和阿维菌素等,其中甲维盐和阿维菌素药效高,环境友好,可优先开发。

参考文献:

- [1] 程湖瑞,林茂松,黎伟强.南京黑松上发生萎蔫线虫病[J].森林病虫通讯,1983(4):1-5.
CHEN Hurui, LIN Maosong, LI Weiqiang. The pine wilt disease on *Pinus thunbergii* in Nanjing [J]. *For Pest Dis*, 1983(4): 1-5.
- [2] 孙肇凤.中国科协组织并邀请专家专题考察松材线虫病的防治[J].林业科学,1999,35(4):57.
SUN Zhaofeng. Experts organized and invited by CAST investigating the control of pine wilt disease [J]. *Sci Silv Sin*, 1999, 35(4): 57.
- [3] 来燕学,陆高,王亚红,等.松兰山景区松材线虫病综合治理研究[J].江苏林业科技,2003,30(6):13-16.
LAI Yanxue, LU Gao, WANG Yahong, et al. Practice and effectiveness of integrated control to pine wilt disease in the scenic pine forest [J]. *J Jiangsu For Sci Technol*, 2003, 30(6): 13-16.
- [4] 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: 365-370.
- [5] 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: 937-941.
- [6] 朱克恭,姚仕义,张井义.克线磷防治松材线虫病的研究[J].浙江林业科技,1994,14(1):16-19.
ZHU Kegong, YAO Shiyi, ZHANG Jingyi. Study on control of *Bursaphelenchus xylophilus* of pine by *Monochamus ulternatus* [J]. *J Zhejiang For Sci Technol*, 1994, 14(1): 16-19.
- [7] 李周直,王正义,彭龙慧.数种农药对松材线虫病的毒效试验[J].森林病虫通讯,1994(1):23-26.
LI Zhouzhi, WANG Zhengyi, PENG Longhui. Toxicity effect to *Bursaphelenchus xylophilus* of several pesticides [J]. *For Pest Dis*, 1994(1): 23-26.
- [8] 吴广超,王焱,宋国贤,等.防治松材线虫病的室内药剂筛选[J].中国森林病虫,2004,23(5):10-13.
WU Guangchao, WANG Yan, SONG Guoxian, et al. Nematocides screening against pine wood nematode in lab [J]. *For Pest Dis*, 2004, 23(5): 10-13.
- [9] 赵博光.苦豆碱对松材线虫病的杀线活性[J].林业科学,1996,32(3):243-247.
ZHAO Boguang. Nematicidal activity of aloperine against pine wood nematodes [J]. *Sci Silv Sin*, 1996, 32(3): 243-247.
- [10] 赵博光,赵贞伟,王华光.苦豆草生物对松材线虫的抑制作用[J].南京林业大学学报:自然科学版,2006,30(6):129-131.
ZHAO Boguang, ZHAO Zhenwei, WANG Huaguang. Inhibitory effects of alkaloids of *Sophora alopecuroides* on pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*) [J]. *J Nanjing For Univ Nat Sci Ed*, 2006, 30(6): 129-131.
- [11] 翁群芳,钟国华,丘麒,等.28种植物提取物对松材线虫的毒杀作用[J].华中农业大学学报,2005,24(5):459-464.
WENG Qunfang, ZHONG Guohua, QIU Qi, et al. Biological activities of extracts of 28 species of plants against *Bursaphelenchus xylophilus* [J]. *J Huazhong Agric Univ*, 2005, 24(5): 459-464.
- [12] 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 Meiying, *et al.* Bioactivities and physiological effects of extracts of *Peganum harmala* against *Bursaphelenchus xylophilus* [J]. *Sci Agric Sin*, 2005, **38** (10): 2014 – 2022.
- [13] 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 Pest Sci*, 2005, **7** (2): 171 – 175.
- [14] 龙鼎新, 伍一军, 李薇, 等. 8 种化学药剂单独及两两联合染毒对松材线虫杀灭作用试验[J]. 浙江林业科技, 2006, **26** (5): 39 – 42.
- LONG Dingxin, WU Yijun, LI Wei, *et al.* Toxicities of eight chemicals on *Bursaphelenchus xylophilus* [J]. *J Zhejiang For Sci Technol*, 2006, **26** (5): 39 – 42.
- [15] 来燕学, 俞林祥, 周永平, 等. 松材线虫病濒死树急救技术与救活机理[J]. 浙江林学院学报, 2000, **17** (4): 404 – 409.
- LAI Yanxue, YU Linxiang, ZHOU Yongping, *et al.* First aid techniques and mechanism for dying pine trees damaged by pine wilt disease [J]. *J Zhejiang For Coll*, 2000, **17** (4): 404 – 409.
- [16] 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]. 农药学报, 2001, **3** (3): 40 – 44.
- LIN Maosong, ZHOU Guoming. The activity of abamectin for pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus* control [J]. *Chin J Pest Sci*, 2001, **3** (3): 40 – 44.
- [17] 张绍升. 植物线虫病诊断与防治[M]. 福州: 福建科学技术出版社, 1991: 11 – 12.
- [18] SHOOP W L, MROZIK H, FISHER M H. Structure and activity of avermectins and milbemycins in animal health [J]. *Vet Parasitol*, 1995, **59** (2): 139 – 156.
- [19] 闫淑萍, 赵健. 阿维菌素及其衍生物的合成[J]. 河北化工, 2004 (6): 6 – 9.
- YAN Shuping, ZHAO Jian. Synthesis of avermectins and their derivatives [J]. *Hebei Chem Eng Ind*, 2004 (6): 6 – 9.
- [20] 耿群美, 李兰城, 贾晓英. 苦参碱、氧化苦参碱对小鼠脑中递质 γ -氨基丁酸和甘氨酸含量的影响[J]. 内蒙古医学院学报, 1992, **14** (1): 8 – 9, 12.
- GENG Qunmei, LI Lancheng, JIA Xiaoying. Effect of matrine and oxymatrine on contents of transmitters-r-aminobutyrate acid and glycine in the brain of mice [J]. *Acta Acad Med Neimongol*, 1992, **14** (1): 8 – 9, 12.
- [21] 郭腾群, 贺秉军, 高永闯, 等. 溴氰菊酯对神经细胞钙通道和钙库的激活作用[J]. 昆虫学报, 2000, **43** (3): 248 – 254.
- GUO Tengqun, HE Bingjun, GAO Yongchuang. Active effect of deltamethrine on calcium channels and calcium store of culture neurons [J]. *Acta Entomol Sin*, 2000, **43** (3): 248 – 254.
- [22] 刘玉娣, 赵士熙, 吴刚. 小菜蛾对抑太保的敏感性及其酰胺酶的活力[J]. 福建农林大学学报: 自然科学版, 2002, **31** (2): 181 – 184.
- LIU Yudi, ZHAO Shixi, WU Gang. Diamondback moth's sensitivity to chlorfluazuron and amidase activity [J]. *J Fujian Agric For Univ Nat Sci Ed*, 2002, **31** (2): 181 – 184.
- [23] 吴刚, 尚稚珍. 抑太保对亚洲玉米螟表皮酚氧化酶及几丁质酶活力的影响[J]. 昆虫学报, 1992, **35** (3): 306 – 311.
- WU Gang, SHANG Zhizhen. Effects of atabron on phenoloxidase and chitinase in the cuticle of *Ostrinia furnacalis* larva [J]. *Acta Entomol Sin*, 1992, **35** (3): 306 – 311.
- [24] 吴刚, 宫田正. 酰胺酶在小菜蛾对抑太保抗性中的作用[J]. 福建农业大学学报, 1998, **27** (1): 92 – 95.
- WU Gang, GONG Tianzheng. The function of the amidase in the diamondback moth's resistance to chlorfluazuron [J]. *J Fujian Agric Univ*, 1998, **27** (1): 92 – 95.
- [25] 杨雪云, 赵博光, 巨云为. 苦参碱和氧化苦参碱的抑菌活性及增效作用[J]. 南京林业大学学报: 自然科学版, 2008, **32** (2): 79 – 82.
- YANG Xueyun, ZHAO Boguang, JU Yunwei. Antifungal activities and synergetic tests of matrine and oxymatrine to some tree pathogens [J]. *J Nanjing For Univ Nat Sci Ed*, 2008, **32** (2): 79 – 82.