

DOI: 10.3969/j.issn.2095-1787.2024.01.008

4 种烟碱受体激动剂对松材线虫的毒杀活性

于金英^{1,2}, 吕耀平¹, 王国丽¹, 刘冬梅¹, 雷秋艳¹, 贺小如¹, 汪 冶^{1*}

¹丽水学院生态学院, 浙江 丽水 323000; ²浙江理工大学生命科学与医药学院, 浙江 杭州 310002

摘要:【目的】探究 4 种烟碱受体激动剂对松材线虫的杀虫作用。【方法】采用浸渍法以及马尾松松枝水培试验分别进行杀线虫活性测定,并测定 4 种烟碱受体激动剂水溶液对松材线虫体内三磷酸腺苷酶(ATP)、过氧化氢酶(CAT)、乙酰胆碱酯酶(AChE)、超氧化物歧化酶(SOD)的影响。【结果】盐酸左旋咪唑、盐酸四咪唑、烟碱、酒石酸噻吩嘧啶 4 种烟碱受体激动剂对松材线虫有良好的毒杀活性,4 种药物水溶液浸渍处理松材线虫 48 h,半致死浓度 LC_{50} 值分别为 0.09、0.31、0.08、0.14 $mg \cdot mL^{-1}$;马尾松水培试验处理 12 d 后结果显示,盐酸左旋咪唑、盐酸四咪唑、烟碱、CK 处理组松枝均不发病,病情指数为 0,酒石酸噻吩嘧啶处理组部分枝叶变黄,病情指数为 31%,"CK+线虫"松枝枝叶完全变黄萎蔫,病情指数为 100%;4 种烟碱受体激动剂水溶液浸渍处理 48 h 后松材线虫体内 ATP、CAT、AChE、SOD 酶活性均低于对照组 ($P<0.05$)。【结论】盐酸左旋咪唑、盐酸四咪唑、烟碱、酒石酸噻吩嘧啶对松材线虫有良好的防治潜力,具有进一步深入研究和开发利用的前景。

关键词: 盐酸左旋咪唑; 盐酸四咪唑; 烟碱; 酒石酸噻吩嘧啶; 松材线虫; 杀线活性; 酶活性



开放科学标识码
(OSID 码)

The activity of four nicotinic receptor agonists against *Bursaphelenchus xylophilus*

YU Jinying^{1,2}, LÜ Yaoping¹, WANG Guoli¹, LIU Dongmei¹, LEI Qiuyan¹, HE Xiaoru¹, WANG Ye^{1*}

¹College of Ecology, Lishui University, Lishui, Zhejiang 323000, China;

²College of Life Sciences and Medicine, Zhejiang Sci-Tech University, Hangzhou, Zhejiang 310002, China

Abstract:【Aim】To investigate the insecticidal effect of four nicotine receptor agonists against pine wood nematode, *Bursaphelenchus xylophilus*.【Method】The nematicidal activity was measured on pine branches of *Pinus massoniana* grown in hydroponics. The effects of nicotinic receptor agonists in aqueous solution were examined on the activities of adenosine triphosphate (ATP), catalase (CAT), acetylcholinesterase (AChE), and superoxide dismutase (SOD) in *B. xylophilus*.【Result】Levamisole hydrochloride (LH), tetraimidazole hydrochloride (TH), nicotine (N), and thiophene pyrimidine tartrate (TPT) had significant toxic activity against *B. xylophilus*. The LC_{50} values of the four drugs were 0.09, 0.31, 0.08, and 0.14 $mg \cdot mL^{-1}$, respectively, when immersed in water for 48 h. The results of the hydroponic experiments after 12 d showed that the pine branches in the LH, TH, N, and CK treatment groups did not suffer from the disease (index=0). Some branches and leaves in the TPT treatment group turned yellow, with a disease index of 31%. The branches and leaves of "CK+nematode" pine completely turned yellow and wilted, with a disease index of 100%. ATP, CAT, AChE, and SOD activities in *B. xylophilus* treated with nicotinic receptor agonists (LH, TH, N, and TPT) for 48 h were lower than those in the control group ($P<0.05$).【Conclusion】In conclusion, nicotinic receptor agonists (LH, TH, N, and TPT) have potential as good biological controls against *B. xylophilus*, and have the prospect of further in-depth research, development, and utilization.

Key words: levamisole hydrochloride; tetraimidazole hydrochloride; nicotine; pyrantel tartrate salt; *Bursaphelenchus xylophilus*; nematicidal activity; enzymatic activity

收稿日期(Received): 2022-12-15 接受日期(Accepted): 2023-03-29

基金项目: 国家自然科学基金项目(31801306); 浙江省自然科学基金项目(Y3110477)

作者简介: 于金英, 女, 硕士研究生。研究方向: 生物资源开发利用。E-mail: 1421501922@qq.com

* 通信作者(Author for correspondence), 汪冶, E-mail: 33301816@qq.com

松材萎蔫病(pine wilt disease, PWD)是由松材线虫 *Bursaphelenchus xylophilus* (Steiner et Buhrer) Nickle 引起的最具破坏性的松树病害,已造成重大的经济和生态损失(田浩楷等,2017)。松材线虫最早发现于北美,1982年我国首次在南京中山陵的黑松 *Pinus thunbergii* Parl.上分离到该线虫。此后,松材线虫病在我国迅速蔓延,对松树生态系统造成了毁灭性破坏(赵捷等,2017)。通过注干技术施用(半)合成农药被认为是最有效的直接控制松材线虫的策略之一,并在亚洲国家得到了广泛应用(叶建仁,2019)。目前,已报道可防治松材线虫的药剂主要有阿维菌素、甲维盐等,剂型为乳剂和水乳剂。由于溶解性等问题,这些药剂在使用过程中需要使用助溶剂,大大增加了药剂的使用成本。此外,长期用药不仅使目标生物容易产生耐药性,而且对非目标生物有害,能引发环境和人类健康等问题(李铭等,2013)。因此,迫切需要高效且廉价的防治松材线虫病的农药制剂。

盐酸左旋咪唑是一种广谱的白色结晶粉末,为低毒杀线虫剂,对许多动物的胃肠道线虫具有高效杀虫效果但对哺乳动物宿主无害(Vielela *et al.*, 2018);盐酸四咪唑是盐酸左旋咪唑的中间体,常用作驱虫剂和抗蛔虫药;烟碱是一种从烟叶的水提取物中提取到的植物杀虫剂,早在17世纪,烟叶粉就已在民间用于杀虫,是农用杀虫剂的重要成分,对昆虫具有拒食、凋亡和生殖毒性的作用(吴映捷, 2017);酒石酸噻吩嘧啶常用于治疗动物寄生虫病(Betancourt *et al.*, 2015)。4种化合物均作用于蠕虫或昆虫烟碱受体,产生拟胆碱作用,引起虫体肌肉剧烈收缩,导致痉挛性麻痹,目前还没有应用于植物寄生线虫的防治。本试验采用室内浸渍法以及松枝水培法测定4种化合物对松材线虫的毒杀作用,为开发新型农药制剂防治松材线虫病提供理论依据。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 供试药品 盐酸左旋咪唑、盐酸四咪唑、烟碱、酒石酸噻吩嘧啶(上海源叶生物科技有限公司, 98%)。各取20 mg药物以蒸馏水溶解并稀释为5 mg·mL⁻¹的母液,置于4℃保存备用

1.1.2 供试线虫 试虫于浙江省丽水市莲都区大港头森林防疫站提供的马尾松 *Pinus massoniana*

Lamb.疫木中分离得到、经浙江省农业科学院鉴定为松材线虫,置于长有灰葡萄孢 *Botrytis cinerea* Pers的培养皿中,28℃避光饲养。

1.1.3 主要仪器 体视显微镜(Leica EZ4W,德国徕卡,德国)、离心机(凯达TG16G,湖南凯达科学仪器有限公司,中国)、紫外-可见分光光度计(日本岛津UV-1780,岛津公司,日本)、旋转薄膜蒸发仪(BUCHI-R210,瑞士步琦有限公司,瑞士)、恒温振荡培养箱(KS 4000i control, IKA, 德国)、超净工作台(博迅SW-CJ-1CU,上海博迅医疗生物仪器股份有限公司,中国)、超声波清洗器(SG250H,上海冠特超声仪器有限公司,中国)、旋涡混合器(GL-88B,海门市其林贝尔仪器制造有限公司,中国)、生化培养箱(SHP-150,上海森信实验仪器有限公司,中国)、电子天平(SQP,赛多利斯科学仪器(北京)有限公司,中国)。

1.1.4 其他材料 超氧化物歧化酶(superoxide dismutase, SOD)、过氧化氢酶(catalase, CAT)、三磷酸腺苷酶(adenosine triphosphate, ATP)、乙酸胆碱酯酶(acetylcholinesterase, AChE)试剂盒(南京建成生物工程研究所);乙酸乙酯、二甲基亚砜等试剂(国药集团化学试剂有限公司)。

1.2 方法

1.2.1 室内毒力测定 参照黄正杰等(2013)方法,用M9缓冲液收集处于J4期的线虫,冲洗3次后加入裂解液(裂解液:M9缓冲液=7:3),涡旋5 min,5000 r·min⁻¹离心5 min后弃上清,加入M9缓冲液,重复3次最终得到线虫卵,并打入灰葡萄孢培养基上,培养2~3 d即得到同一生长期的松材线虫,使用贝尔曼漏斗法收集线虫至离心管中,于4000 r·min⁻¹离心5 min,用0.9%生理盐水冲洗3次,配制成100条·mL⁻¹的线虫悬浮液,在24孔板中每孔加入0.5 mL的线虫悬浮液,再加入等量药液,以背景溶液作为空白对照,设置3个平行试验,分别于处理后12、24、36和48 h,在体视显微镜下观察线虫的存活状况。虫体运动且为S形判定为活虫。由于线虫存在假死现象,对虫体不运动且身体僵直的线虫采用针刺法反复刺激,若仍僵直不动,判定为死虫。计算死亡率和校正死亡率(尹晓燕等,2013)。

死亡率/%=(死虫数/供试虫数)×100;

校正死亡率/%=[(处理组死亡率-对照组死亡

率)/(1-对照组死亡率)] $\times 100$ 。

1.2.2 马尾松松枝水培试验 将 4 种活性化合物分别配制质量分数为 $1 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 的溶液,然后取 200 mL 药液装入 300 mL 的三角瓶中,并将处理好的健康松枝插入药液中,瓶口用脱脂棉密封。并设置 CK(蒸馏水)处理、“CK+松材线虫”处理作对照。参考王玉嫄等(1985)方法,选用截枝套管法接种线虫:选择松枝的一个侧枝,剪掉离主枝约 5 cm 的枝梢,使截面朝上,在截面处包裹少许脱脂棉,覆盖长度约 10 cm 的乳胶管,用绳子将乳胶管的基部绑住,从管口接种松材线虫悬浮液(约 1000 条),然后用湿润的脱脂棉塞住管口,以保持乳胶管内的湿度。接种后,每 3 d 观察一次松枝外部病症,观察 12 d,设置 3 个平行试验。参考谈家金和冯志新(2001)、翁群芳等(2005)方法,对各松枝病情分级并计算病情指数,病情分为 0 级:针叶绿色,松枝正常;1 级:松枝 1/4 以下针叶发黄;2 级:松枝 1/4~3/4 针叶发黄;3 级:松枝 1/4 以上针叶发黄,1/2 以下针叶枯萎;4 级:松枝 1/2 以上针叶枯萎,松枝濒死或死亡。

$$\text{病情指数}/\% = \frac{\sum (X_i \times a_i)}{\sum (X_i \times a_{\max})} \times 100$$

式中, X_i 为各病级的松枝数, a_i 为各病级, $a_{\max}$ 为最高病级。

1.2.3 对松材线虫酶活力的影响 取 4 mL 松材线虫(约 10 万条),分别加入 1 mL 配制好的药物溶液,溶液的终浓度为药物 48 h 的半致死浓度,充分混匀,以背景溶液作为对照,每处理设 3 次重复。将各管置于 28°C 培养箱中避光培养,分别于 12、24、36 和 48 h 充分摇匀后取出 1 mL, $4000 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 5 min,去上清,无菌水清洗 3 次。加入适量生理盐水冰浴匀浆, $2500 \text{ r} \cdot \text{min}^{-1}$ 离心 10 min 后取上清,生理盐水定容至 1 mL。使用考马斯亮蓝 G250 染色法测定线虫匀浆液的蛋白含量,并根据酶试剂盒说明测定酶的活性,设置 3 个平行试验(吴佳雯等,2022)。

1.3 数据分析

利用 Graphpad Prism 8.0 (GraphPad Software; 美国)处理数据、图表。采用 Graphpad Prism 8.0 软件计算半数致死浓度(LC_{50})、进行方差分析(analysis of variance, ANOVA),使用 Tukey 检验($P =$

0.05)比较数据之间的差异显著性。

2 结果与分析

2.1 对松材线虫的杀虫活性

将松材线虫置于不同系列浓度(0.50、0.25、0.10和0.05 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$)的药物溶液中,浸渍处理后 12、24、36 和 48 h,分别观察松材线虫的存活状况并计算校正死亡率(图 1)。图 1 表明,药物对松材线虫的毒杀活性随着样品浓度的提高而增加,其中杀线活性由高到低依次为盐酸左旋咪唑、盐酸四咪唑、烟碱、酒石酸噻吩嘧啶。在 $0.50 \text{ mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 浓度下,4 种药物水溶液浸渍处理松材线虫 48 h 后,均表现出良好的杀虫活性,其中盐酸左旋咪唑、盐酸四咪唑、烟碱 3 种药物水溶液浸渍处理松材线虫 48 h 后,松材线虫的校正死亡率为 100%。

2.2 半致死浓度 LC_{50}

运用 Graphpad Prism 8.0 对松材线虫暴露于药物溶液中的校正死亡率数据进行拟合,得到 LC_{50} 值以及毒力回归方程(表 1)。结果显示,药物溶液对不同处理时间点对松材线虫均表现出显著的杀虫活性,在 48 h 时松材线虫死亡率达到最高值,盐酸四咪唑、酒石酸噻吩嘧啶、盐酸左旋咪唑、烟碱的 LC_{50} 值分别为 0.09、0.31、0.08、0.14 $\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$ 。

2.3 松枝水培试验结果

松枝水培试验结果表明(表 2),处理 3 d 后,4 种烟碱受体激动剂处理组松枝均不发病,病情指数为 0,与 CK 处理组的病情指数相同,“CK+线虫”处理组开始出现针叶失水病情;处理 6 d 后,盐酸左旋咪唑、盐酸四咪唑、烟碱、CK 处理组松枝均不发病,病情指数为 0,酒石酸噻吩嘧啶处理组个别枝叶有失水情况,“CK+线虫”松枝枝叶变黄萎蔫,病情指数为 65%;处理 9 d 后,盐酸左旋咪唑、盐酸四咪唑、烟碱、CK 处理组松枝均不发病,病情指数为 0,酒石酸噻吩嘧啶处理组部分枝叶变黄,病情指数为 19%,“CK+线虫”松枝枝叶持续变黄萎蔫,病情指数为 75%;处理 12 d 后,盐酸左旋咪唑、盐酸四咪唑、烟碱、CK 处理组松枝均不发病,病情指数为 0,酒石酸噻吩嘧啶处理组部分枝叶变黄,病情指数为 31%,“CK+线虫”松枝枝叶完全变黄萎蔫,病情指数为 100%。整体结果可看出,4 种烟碱受体激动剂水溶液对松材线虫引起的松树萎蔫病有一定的防治效果,能明显延缓松材线虫病的发展。

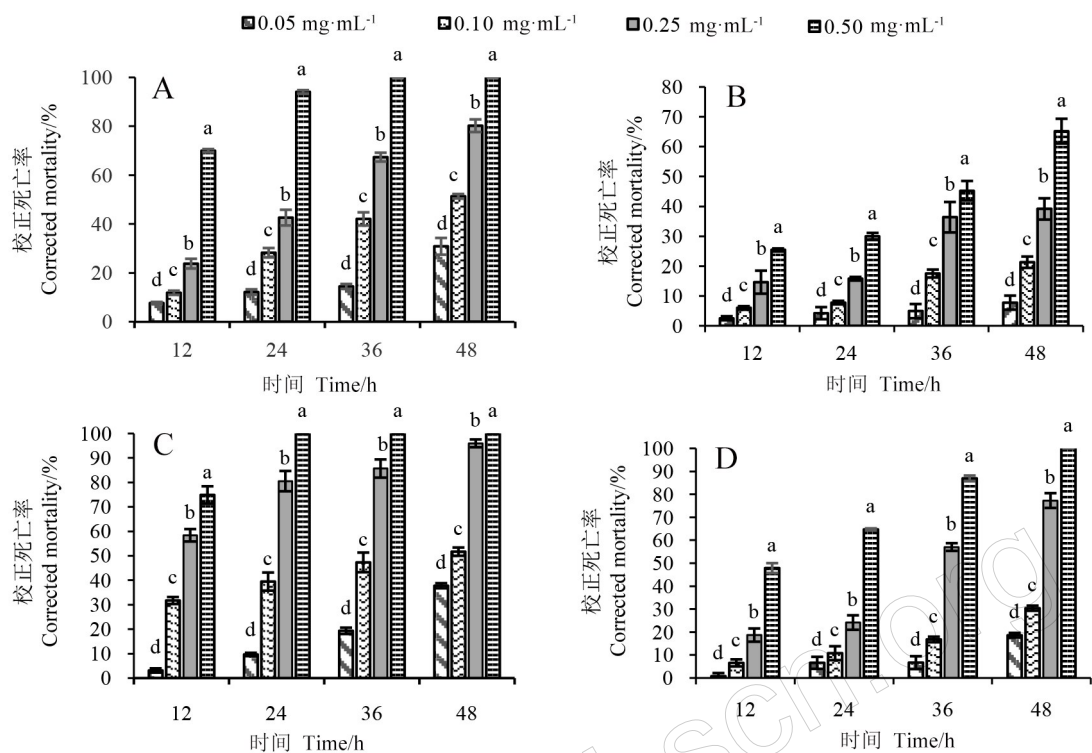


图 1 4 种药物对松材线虫的校正死亡率

Fig.1 Corrected mortality of pine branches exposed to the four drugs against *B. xylophilus*

A: 盐酸四咪唑; B: 酒石酸噻吩吡啶; C: 盐酸左旋咪唑; D: 烟碱。同组不同小字母表示 0.05 水平上差异显著。
A: Tetraimidazole hydrochloride; B: Thiophene pyrimidine tartrate; C: Levamisole hydrochloride; D: Nicotine.

Data with different lowercase letters indicated significant difference at 0.05 level.

表 1 4 种药物毒杀松材线虫作用 48 h 的 LC₅₀ 值

Table 1 LC₅₀ values of the four drugs against *B. xylophilus*

药剂 Drugs	斜率±标准误 Slope±SE	半致死浓度(95%置信限) LC ₅₀ (95% CL)/(mg·mL ⁻¹)	R ²	χ ²	P	df
盐酸四咪唑 Tetraimidazole hydrochlorid	2.856±0.431	0.09 (0.07~0.11)	0.8678	2.640	0.267	2
酒石酸噻吩吡啶 Pyrantel tartrate salt	1.061±0.188	0.31 (0.25~0.38)	0.9670	0.368	0.832	2
盐酸左旋咪唑 Levamisole hydrochloride	0.044±173.000	0.08 (0.05~0.11)	0.9142	0.049	0.976	2
烟碱 Nicotine	3.127±0.397	0.14 (0.11~0.17)	0.8921	2.343	0.310	2

表 2 4 种药物水溶液对松枝试验病情指数的影响

Table 2 Effect of the four drug aqueous solutions on disease index of pine branch test

处理 Treatment	病情指数 Disease index/%			
	3 d	6 d	9 d	12 d
盐酸四咪唑 Tetraimidazole hydrochlorid	0.00	0.00	0.00	0.00
酒石酸噻吩吡啶 Pyrantel tartrate salt	0.00	0.00	19.00	31.00
盐酸左旋咪唑 Levamisole hydrochloride	0.00	0.00	0.00	0.00
烟碱 Nicotine	0.00	0.00	0.00	0.00
CK+松材线虫 CK+nematode	0.00	65.00	75.00	100.00
CK	0.00	0.00	0.00	0.00

2.4 对松材线虫酶活力的影响

2.4.1 对松材线虫乙酰胆碱酯酶活性的影响 松材线虫乙酰胆碱酯对药物非常敏感,处理过程中,对照组 AChE 酶活力变化平缓,4 组给药处理组 AChE 酶活力均呈下降趋势,6 h 时给药组酶活力低于对照组 ($P<0.05$),但给药组与对照组酶活力相差

较小。6~48 h 间,给药组酶活力急剧下降,整个过程中酶活力显著低于对照组 ($P<0.05$) (图 2A)。
2.4.2 对松材线虫三磷酸腺苷酶活性的影响 由图 2B 可知,给药处理组与对照组变化趋势相对一致,均处于下降趋势,给药处理组的 ATP 酶活力在不同时间点均低于对照组的 ATP 酶活力,并且存在

显著差异($P<0.05$)。

2.4.3 对松材线虫超氧化物歧化酶的影响 图 2C 显示,在松材线虫暴露 12 h 之前,给药处理组松材线虫的超氧化物歧化酶(SOD)活力显著高于对照组($P<0.05$),在 12 h 时,对照组松材线虫的 SOD 酶活力相近给药处理组,但是随着中毒时间的延长,给药处理组 SOD 酶活力逐渐被抑制,而对照组 SOD 酶活力有小幅提升,对照组 SOD 酶活力高于给药处理组($P<0.05$),表明 4 种药物均可以抑制

松材线虫的 SOD 的活性。

2.4.4 对松材线虫过氧化氢酶活性的影响 图 2D 显示,在松材线虫暴露前期,给药处理组松材线虫的 CAT 酶活力显著高于对照组($P<0.05$),在 12~24 h 间的某个时间节点,3 组松材线虫的 CAT 活力相近,但是随着中毒时间的延长,给药处理组 CAT 酶活力逐渐被抑制,对照组 CAT 酶活力高于给药处理组($P<0.05$)。

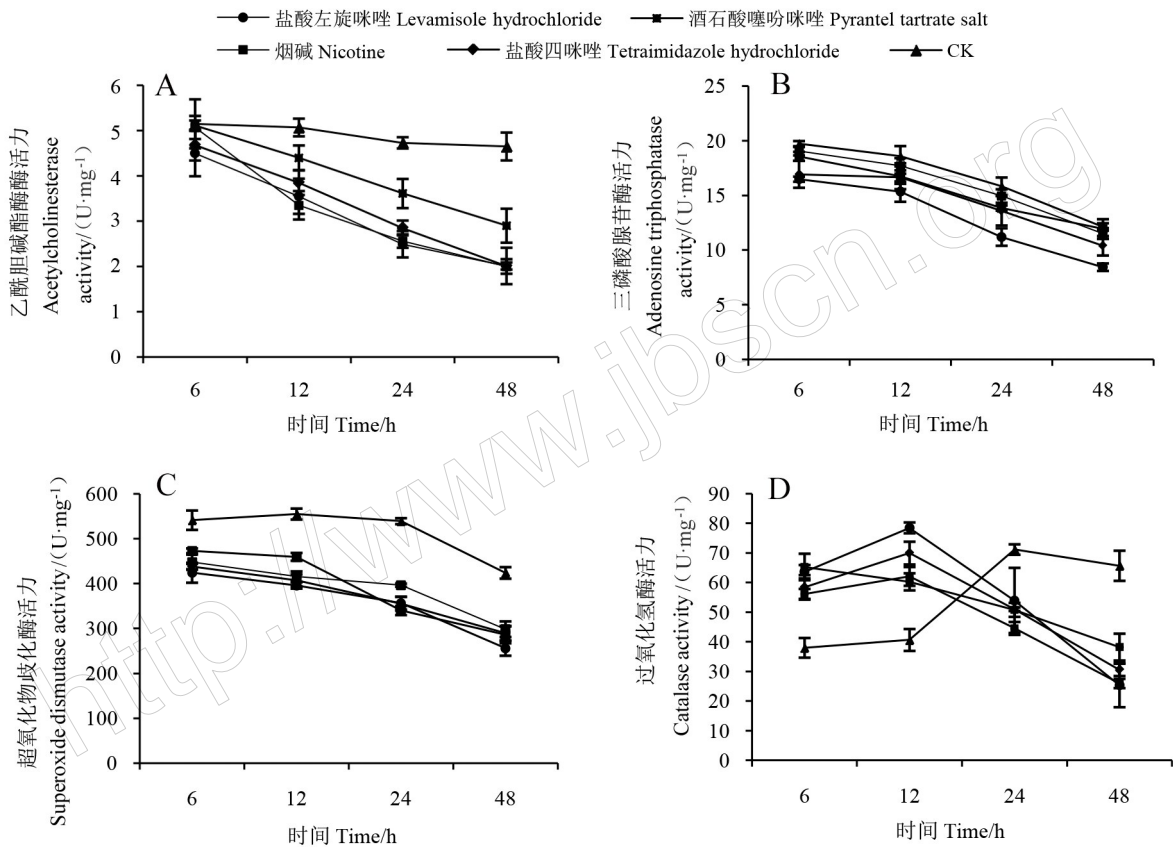


图 2 4 种药物对松材线虫体内乙酰胆碱酯酶(A)、磷酸腺苷酶(B)、超氧化物歧化酶(C)和过氧化氢酶(D)活性的影响

Fig.2 Effect of the four drugs on AChE (A), ATP (B), SOD (C) and CAT (D) activities in *B. xylophilus*

3 讨论

盐酸四咪唑、酒石酸噻吩嘧啶、盐酸左旋咪唑是兽医学常用的抗蠕虫药,烟碱是农用杀虫剂的重要成分,可用于寄生虫防治。盐酸左旋咪唑属于去极化神经肌肉阻断药,具有明显的烟碱样作用,即作用于蠕虫或昆虫烟碱受体,产生拟胆碱作用,一般表现症状为肌束颤动、肌力减退、肌痉挛、呼吸肌麻痹等。盐酸左旋咪唑可使肠道蠕虫单个肌细胞去极化,峰电位发放频率增加,导致虫体痉挛性麻痹,Zhang *et al.* (2019)首次提出盐酸左旋咪唑对秀

丽隐杆线虫 *Caenorhabditis elegans* 乙酰胆碱受体耐药突变体起作用。后来证实,盐酸左旋咪唑选择性作用于秀丽隐杆线虫体肌和神经上的烟碱乙酰胆碱受体,导致秀丽隐杆线虫收缩和痉挛性麻痹(Duguet *et al.*, 2016; Turani *et al.*, 2018)。烟碱有很强的内吸活性、胃毒性和触杀毒性,对寄生虫的乙酰胆碱受体有很强的亲和性,与寄生虫的乙酰胆碱受体竞争性结合,使乙酰胆碱不能正常传导、阻断神经、窒息死亡。酒石酸噻吩嘧啶与盐酸四咪唑的相关研究较少,但现有文献表明其有较好的杀寄生虫

效果(吴国涛,2015)。

线虫在受到外源性伤害时,其体内与代谢相关的酶活性会发生改变(韩双双等,2020;侯金丽和冯欣,2014)。AChE是一种参与神经传递的重要蛋白质,是有机磷酸盐和氨基甲酸酯类杀虫剂的重要靶标(Thapa *et al.*,2017)。本研究中给药处理组显著抑制了AChE酶活力,推测给药处理增加突触间隙内乙酰胆碱含量,增强了乙酰胆碱的生理作用。另外,作为胆碱能N受体激动剂致离子通道开放,产生去极化离子流,使神经细胞处于激动状态。4种烟碱受体激动剂不能被乙酰胆碱失活,从而导致突触后受体永久性开放,其持效作用导致线虫神经系统失调,产生痉挛性麻痹,影响线虫细胞功能、新陈代谢和信号转导,最终导致线虫死亡。ATP是一种与物质运送、能量转换以及信息传递相关的蛋白酶,与机体代谢密切相关,也是菊酯类杀虫剂的主要作用靶标之一(刘文斌等,2022)。由于ATP是能量转换的关键酶,推测当ATP酶活力被抑制时,线虫生命活动所需要的能量不能被满足,最终导致线虫死亡。SOD、CAT等抗氧化酶有助于抵消活性氧在细胞和分子水平上引起氧化损伤的毒性。SOD是松材线虫体内的一种富含金属离子的抗氧化酶,当SOD含量充足时,自由基被俘获,细胞处于健康状态,但是当SOD含量缺失或不足时,细胞受自由基侵害,发生变异、衰老或死亡。当松材线虫的SOD活性受到抑制时,将会影响线虫体内清除氧自由基的效率,从而造成线虫体内毒素堆积,使细胞膜产生过氧化,导致线虫细胞正常的生理代谢遭到干扰,最终线虫死亡(Wang *et al.*,2018)。CAT是一种四亚基血红素酶,是松材线虫体内的解毒相关酶。松材线虫体内的过氧化氢对细胞高度有害,其积累将导致DNA、蛋白质和脂质的氧化,从而导致细胞凋亡。CAT通过将过氧化氢分解为水和分子氧来阻止细胞产生活性氧,使细胞免受过氧化氢的伤害(Mahasetg & Kuzminov,2017)。给药处理组线虫前期CAT酶活力明显高于对照组以满足松材线虫中毒后的解毒需求,但是随着中毒时间的延长,给药组CAT酶活力逐渐被抑制,松材线虫在药物的作用下体内的过氧化氢得不到分解,从而在体内积累,产生毒性很大的氢氧自由基,细胞功能受损,最终线虫死亡。

本研究采用室内浸渍法测定4种烟碱受体激

动剂对松材线虫的毒杀作用,研究表明,4种化合物对松材线虫具有较强的致死作用,马尾松水培试验结果显示,4种烟碱受体激动剂水溶液对松材线虫引起的松树萎蔫病有一定的防治效果,对松材线虫体内代谢活动相关酶(AchE、SOD、ATP、CAT)活性均有不同程度的抑制作用。对4种烟碱受体激动剂毒杀松材线虫的作用机制有待深入研究明确。

参考文献

- 韩双双,谭周倩,黄晓德,钱骅,陈斌,赵伯涛,陈双林,闫淑珍,2020. 异硫氰酸丙烯酯毒杀松材线虫作用机制初步研究. 农药学报, 22(1): 48-53.
- 黄正杰,崔建云,任发政,赵慧,2013. 大鲵粗提物延缓秀丽线虫衰老的研究. 食品工业, 34(1): 122-125.
- 侯金丽,冯欣,2014. Sr18菌代谢产物对松材线虫蛋白质和酶活力的影响. 湖北农业科学, 53(19): 4604-4606, 4610.
- 李铭,冯伟,李术,2013. 阿维菌素类药物对非靶动物毒理学的研究进展. 东北农业大学学报, 44(12): 126-130.
- 刘文斌,段辛乐,夏晓峰,黄少康,2022. 拟除虫菊酯类杀虫剂对蜜蜂的毒性和影响. 生物安全学报, 31(1): 1-8.
- 谈家金,冯志新,2001. 松材线虫病病理生理学研究进展. 江西科学, 19(1): 27-30.
- 田浩楷,张帅,柳小龙,张志伟,赵莉茜,2017. 扩散型与繁殖型松材线虫数字基因表达谱对比分析. 生物安全学报, 26(2): 111-121.
- 吴国涛,2015. 绵羊胃肠道线虫驱除效果对比试验. 山东畜牧兽医, 36(7): 12-13.
- 吴佳雯,尹艳楠,谈家金,郝德君,2022. 蜡样芽孢杆菌NJSZ-13菌株诱导马尾松抗松材线虫病研究. 南京林业大学学报(自然科学版), 46(4): 53-58.
- 翁群芳,钟国华,胡美英,罗建军,李晓刚,2005. 骆驼蓬提取物对松材线虫的生物活性及生理效应. 中国农业科学, 38(10): 2014-2022.
- 吴映捷,2017. 烟碱的提取工艺优化及其杀虫活性研究. 硕士学位论文. 上海: 上海海洋大学.
- 王玉嫵,石运琳,周新胜,柏桂华,柳俊,1985. 南京地区黑松萎蔫线虫病发病规律的初步观察. 森林病虫害通讯(2): 15-17.
- 叶建仁,2019. 松材线虫病在中国的流行材线虫病四种现状、防治技术与对策分析. 林业科学, 55(9): 1-10.
- 尹晓燕,王羽,牛秋红,2022. 根系土壤假丝酵母菌 *Candida* sp. YIN9 对大丽轮枝菌和全齿复活线虫的抑制作用. 生物安全学报, 31(1): 56-63.

tribution and density of scale insects (Homoptera: Coccoidea) on fruit plants in Turkey in 1976 (Survey of scale insect (Homoptera: Coccoidea) infestations in European orchards. *Acta Phytopathologica*, 14(11): 535–542.

KOZÁR F, OSTAFICHUK V G, 1987. New and little known scale-insects species from Moldavia (USSR) (Homoptera: Coccoidea). *Folia Entomologica Hungarica*, 48: 91–95.

KOZÁR F, ÖRDÖGH G, KOSZTARAB M P, 1977. New records to the Hungarian scale insect fauna (Homoptera: Coccoidea). *Folia Entomologica Hungarica*, 30: 69–75.

KOZÁR F, DROZDJÁK J, 1993. Data to the scale fauna (Homoptera: Coccoidea) of the Bükk National Park. *Folia Entomologica Hungarica*, 18: 105–113.

KOZÁR F, PALOUKIS S S, PAPADOPOULOS N, 1991. New scale insects (Homoptera: Coccoidea) in the Greek entomofauna. *Entomologia Hellenica*, 9: 63–68.

PELLIZZARI G, PORCELLI F, SELJAK G, 2011. Some additions to the scale insect fauna (Hemiptera: Coccoidea) of crete with a check list of the species known from the island. *Journal of Entomological and Acarological Research*, 43(3): 291–300.

PHILLIPS S J, ANDERSON R P, SCHAPIRE R E, 2006. Maximum entropy modeling of species geographic distributions. *Ecological Modelling*, 190: 231–259.

SALEH A T, BASHEER A M, AIROUZ H A, 2019. First report of the coccid *Microterys hortulanus* (Hymenoptera: Encyrtidae) in Syria. *Arab Journal of Plant Protection*, 37(3): 286–291.

ÜLGENTÜRK S, CANAKCIOGLU H, 2004. Scale insect pests on ornamental plants in urban habitats in Turkey. *Journal of Pest Science*, 77(2): 79–84.

(责任编辑:郭莹)

(上接第 53 页)

赵捷, 韩骁, 石娟, 2017. 低温条件下松材线虫在中国的风险分布区预测. *生物安全学报*, 26(3): 191–198.

BETANCOURT A, LYONS E T, HOROHOV D W, 2015. Characterisation of the inflammatory cytokine response to antihelminthic treatment in ponies. *Equine Veterinary Journal*, 47(2): 240–244.

DUGUET T B, CHARVET C L, FORRESTER S G, WEVER C M, DENT J A, NEVEU C, BEECH R N, 2016. Recent duplication and functional divergence in parasitic nematode levamisole-sensitive acetylcholine receptors. *PLoS Neglected Tropical Diseases*, 10(7): e0004826.

MAHASETH T, KUZMINOV A, 2017. Potentiation of hydrogen peroxide toxicity: from catalase inhibition to stable DNA-iron complexes. *Mutation Research-Reviews in Mutation Research*, 773: 274–281.

THAPA S, LÜ M, XU H, 2017. Acetylcholinesterase: a primary target for drugs and insecticides. *Mini-Reviews in Medicinal Chemistry*, 17: 1665–1676.

TURANI O, HERNANDO G, CORRADI J, BOUZAT C, 2018.

Activation of caenorhabditis elegans levamisole-sensitive and mammalian nicotinic receptors by the antiparasitic buphenium. *Molecular Pharmacology*, 94(5): 1270–1279.

VILELA V L R, FEITOSA T F, BRAGA F R, VIEIRA V D, LUCENA S C, ARAUJO J V, 2018. Control of sheep gastrointestinal nematodes using the combination of duddingtonia flagrans and levamisole hydrochloride 5. *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria*, 27(1): 27–32.

WANG Y, BRRANICKY R, NOË A, HEKIMI S, 2018. Superoxide dismutases: dual roles in controlling ROS damage and regulating ROS signaling. *Journal of Cell Biology*, 217(6): 1915–1928.

ZHANG P S, WAN Y M, ZHANG C, ZHAO R, SHA J, LI Y, LI T, REN B Z, 2019. Solubility and mixing thermodynamic properties of levamisole hydrochloride in twelve pure solvents at various temperatures. *The Journal of Chemical Thermodynamics*, 139(2): 105882.

(责任编辑:郭莹)