

松材线虫的天然毒素研究进展

丹 阳^{1,2} 黄忠良^{1,2*} 魏孝义¹ 叶万辉¹ 薛璟花² 李 炯²

(1. 中国科学院华南植物园, 广东 广州 510650; 2. 中国科学院华南植物园鼎湖山树木园, 广东 肇庆 526070)

摘要: 概述了松材线虫病的现行防治措施及存在问题, 介绍了植物源和真菌源天然毒素毒杀松材线虫的研究现状及研究中遇到的问题, 指出天然毒素在未来松材线虫病生物防治中的研究方向。

关键词: 生物防治; 天然毒素; 杀线虫剂; 松材线虫; 综述

中图分类号: S432.45

文献标识码: A

文章编号: 1005-3395(2004)04-0381-07

Progress in Study on Natural Toxins against *Bursaphelenchus xylophilus*

DAN Yang^{1,2} HUANG Zhong-liang^{1,2*} WEI Xiao-yi¹

YE Wan-hui¹ XUE Jing-hua² LI Jiong²

(1. South China Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences, Guangzhou 510650, China;

2. Dinghushan Arboretum, South China Botanical Garden, the Chinese Academy of Sciences, Zhaoqing 526070, China)

Abstract: Pine wood nematode (*Bursaphelenchus xylophilus*) is the most serious forest pathogen in East Asia. This paper reviews the measures of the control of this nematode, recent researches on the biocontrol (including nematicidal plants and nematicidal fungi), natural nematicidal toxins and their activity, and describes the relationship between chemical structures and nematicidal activity.

Key words: Biocontrol; Natural toxins; Nematicides; *Bursaphelenchus xylophilus*; Review

松材线虫 (*Bursaphelenchus xylophilus*) 病是松树的一种毁灭性病害。该病蔓延速度快, 流行期长, 防治极为困难, 被国内外列为重要的植物检疫对象。自 1905 年至 1981 年, 除北海道外, 病害几乎席卷全日本, 疫区面积达 65 万 hm^2 , 占松林总面积的 25%。日本的黑松 (*Pinus thunbergii*)、赤松 (*P. densiflora*)、球松 (*P. luchensis*) 所剩无几, 损失极其严重^[1]。1982 年在我国南京发现该病, 现疫区已扩大到江苏、浙江、安徽、广东、山东、湖北、台湾省和香港特别行政区^[2]。至 2000 年底受害面积已超过 60 万 hm^2 , 直接经济损失 1.28 亿元^[3]。目前该病仍呈蔓延趋势。

松材线虫病的防治已成为当前研究的热点和难点。20 世纪 80 年代以来, 有机农药在应用中出现诸多问题, 生物防治因可避免这些负效应而倍受

青睐。目前防治措施除利用天敌外, 还包括天然农药, 特别是苏云金杆菌 (*Bacillus thuringiensis*, 简称 Bt) 农药的应用。本文对天然毒素毒杀松材线虫的研究现状进行概述, 以期对松材线虫病的防治有所帮助。

1 松材线虫防治措施

目前, 控制松材线虫病的措施主要是: 加强植物检疫, 对调运的松木及制品严格检疫, 防止传播; 封锁疫区, 对疫情点周围数百米以内的林区进行严格封锁; 清理疫区, 消灭病原, 发现病株皆伐, 甚至连根刨除。伐后的病株焚烧或使用化学药剂熏蒸处理; 飞机喷洒化学药物, 杀灭可能带有病原的松墨天牛 (*Monochamus alternatus*); 直接施用杀松材线虫

收稿日期: 2003-04-16

接受日期: 2003-07-22

基金项目: 国家自然科学基金重大资助项目(39899370); 中新国际合作资助项目; 中国科学院重大资助项目(KZ951-B1-110)

* 通讯联系人 Corresponding author

的药剂,如呋喃丹、克线磷、涕灭威等杀线剂进行沟施,氧化乐果、果树宝杀虫剂注射防治松材线虫;抗性育种和利用松墨天牛、松材线虫的天敌,例如,利用白僵菌^[4] (*Beauveria bassiana*)、斯氏线虫 (*Steinernema carpocapsae*)、管氏肿腿蜂 (*Scleroderma guani*)、啄木鸟 (*Dendrocopos spp.*) 等猎杀松材线虫;气味引诱剂和饵目捕杀或诱杀天牛成虫以间接控制松材线虫。

通过这些措施,虽有效控制了病害的蔓延,减少了经济损失。但是,松材线虫病的防治仍然面临许多困难。首先,缺乏快速、灵敏、准确的检疫技术和合理的采样措施。特别是遇到大量木材、进出口货物包装箱,往往很难分离到病原松材线虫,造成漏检,使病原传入非疫区。其次,防治成本高。据报道^[9],防治费用高于松树自身的经济价值。用飞机喷甲基异柳磷乳剂,每年花费数十万元,比防治马尾松毛虫成本高 100 倍以上;针剂注射每株达 140 元以上,清理病株每公顷的人工费用达 4 500 元以上。浙江舟山市从 1992 年发现病害以来,已投入 2 200 万元用于防治。江苏省每年投入 3 000 万元。日本从 1981 年开始将松材线虫病防治专项经费列入国家预算,每年经费折合人民币 8 亿元左右。再次,广泛使用合成农药带来难以克服的弊病。虽然多数人工药剂具有毒性强、见效快等优点,但不可避免地带来 3 “R” 问题,即残留 (residue)、抗性 (resistance)、再猖獗 (resurgence)^[6]。特别是杀线药剂毒性非常强烈,隐患重重。

另外,抗病育种虽能根本解决问题,但培育周期长难以满足防治的需要。因此天然化合物在害虫的生物防治中显得十分重要。从动物、植物、微生物中寻找具有杀松材线虫的活性物质,将成为发展趋势。现有的生物防治主要针对松墨天牛,对松材线虫仅有零星报道^[7],更未发现有大规模使用杀线生防制剂的典型实例,因此直接对松材线虫开展生防无疑是另一条极具潜力的防治途径。

2 松材线虫的生物防治

松材线虫的生物防治包含天敌 (真菌、细菌、病毒、捕食性线虫、螨类、昆虫、原生动物等)、动植物、微生物源天然农药、抗性转基因植物等。国内外对食线虫真菌的研究最为广泛和深入,对松材线虫的生防研究主要是分离纯化天然毒素及对其杀线活性进行比较,作者仅就此展开综述。

2.1 植物毒素及其杀线活性

松材线虫主要危害松属 (*Pinus*) 植物,因此对松材线虫病的研究集中在松树上^[8]。由于不同树种对松材线虫的抗、感病性不同;同一树种不同龄级的抗感性也不同,这就引起众多学者对松树化学成分与松材线虫病病程关系的研究兴趣。徐福元等^[9]发现马尾松 (*Pinus massoniana*) 树龄及感病性与 β -蒎烯含量呈负相关关系,另外在树脂酸组成中,枞酸型树脂酸含量越高越不利于松材线虫的生存和繁育,但其生物活性尚需进一步探讨。Suga 等^[10]从数种松树的树干和树皮中分离到对松材线虫有活性的物质,如 pinosylvin monomethylether, (-)-nortrachelogenin, methyl ferulate, (+)-pinoselinol, 其中 pinosylvin monomethylether 的活性最强,达 4 mg L^{-1} (LD_{50}),他还比较了 pinosylvin monomethylether 及其 6 个衍生物的杀线活性。这些研究结果为开发内源杀线活性物质提供了依据。

此外,不少学者尝试从药用植物中提取活性物质。目前已知约有 75 科植物含有杀线物质^[11]。其中以印度楝树 (*Azadirachta indica*) 最为典型。该植物的许多器官均含有杀线毒素。万寿菊 (*Tagetes spp.*) 以及许多十字花科植物的分解物都可以控制植物线虫^[11]。Begum 等^[13]从马缨丹 (*Lantana camara*) 中分离出化合物 lantaniside, linaroside 和 camarinic acid, 它们对根结线虫 (*Meloidogyne spp.*) 具有较高的活性。Mcbride 等^[13]从黑麦分解物中发现低分子量有机酸乙酸和蚁酸对根结线虫有活性。表 1 列出部分植物源杀线成分。

赵博光^[14]对苦豆草 (*Sophora alopecuroides*) 中苦豆碱的研究表明,使用含苦豆碱的培养基培养松材线虫 5 d, 苦豆碱的 $\text{LC}_{50}=2.63 \times 10^{-5} \text{ g ml}^{-1}$; 当苦豆碱的浓度为 $1 \times 10^{-4} \text{ g ml}^{-1}$ 和 $2.63 \times 10^{-5} \text{ g ml}^{-1}$ 时, 15 d 后杀线率分别为 99.9% 和 94.3%。该成果在小面积林间防治中取得明显效果,已申请国家专利^[7]。文艳华等^[15]测定了中国湖北、陕西和广东的 10 科 14 种植物提取物对几种植物病原线虫的杀线活性,认为毛茛藤 (*Derris elliptica*) 根对松材线虫有极强活性,粗榧 (*Cephalotaxus sinensis*) 叶、三尖杉 (*C. fortunei*) 茎叶、狼牙刺 (*Sophora viciifolia*) 种子、紫斑牡丹 (*Paeonia suffruticosa*) 茎有强杀线活性,神农香菊 (*Dendranthe maindicum*) 全株有中等杀线活性;而大血藤 (*Sargentodoxus argotaenia*) 茎、巴东木莲 (*Manglietia patungensis*) 叶、土麦冬 (*Liriope spicata*)

全株及鹅掌楸 (*Liriodendron chinese*) 叶对松材线虫无活性。巨云为等^[16]认为 100 mg kg⁻¹ 的苦楝 (*Meliatosolen azedarach*) 树皮和果实的酒精提取物对松材线虫有强致死作用。但文献[15]和[16]中均未有指明杀线成分。Kawazu^[17]等测试了 61 种陆生

植物的甲醇提取物,发现菊科和大戟科植物对松材线虫有活性,并分析了杀线成分。Matsuda 等^[18,19]报道了苦参(*Sophora flavescens*)甲醇提取物的杀松材线虫活性,确认其杀线成分为甲基野靛碱,并比较分析了多种生物碱的结构与杀线活性的关系。

表 1 部分植物源杀线毒素
Table 1 Nematicidal toxins from some plants

植物 Species	化合物 Compounds	测试线虫 Nematodes tested	杀线活性 Nematicidal activity	文献 References
马缨丹 <i>Lantana camara</i>	lantanoside linaroside camarinic	南方根结线虫 <i>Meloidogyne incognita</i>	1.0%(LD ₅₀) 1.0%(LD ₈₅) 1.0%(LD ₁₀₀)	[13]
<i>Mucuna aterrima</i>	the ester triacontyl tetracosanate the alcohol 1-triacontanol	<i>Meloidogyne incognita</i>	弱毒性	[20]
<i>Terminalia macroptera</i>	isoterchebulin	秀丽隐杆线虫 <i>Caenorhabditis elegans</i>	中等毒性	[21]
<i>Curcuma comosa</i>	diphenylheptanoid 1 diphenylheptanoid 2 diphenylheptanoid 3 diphenylheptanoid 4 diphenylheptanoid 5	<i>Caenorhabditis elegans</i>	9 μg ml ⁻¹ (EC ₉₅) 9 μg ml ⁻¹ (EC ₉₅) 0.7 μg ml ⁻¹ (EC ₉₅) >100 μg ml ⁻¹ (EC ₉₅) 1 μg ml ⁻¹ (EC ₉₅)	[22]

2.2 真菌毒素及其杀线活性

真菌与线虫互为捕食关系。线虫吞食真菌,而真菌通过营养菌丝形成捕食器官捕食线虫、以内寄生方式消解线虫、或以毒素毒杀线虫,从而获得生存。因此,真菌在线虫生物防治中发挥着不可忽视的作用^[23]。

20 世纪 60 年代 Olthof^[24]提出真菌次生代谢产物毒杀线虫的假说,Kwok 从食线虫菌粗皮侧耳 (*Pleurotus ostreatus*) 中分离纯化出第一个杀线虫毒素反癔烯二酸(trans-2-decenedioic acid),随后陆续发现多种杀线活性物质^[25]。目前,从食线菌中筛选杀线活性物已成为新的研究热点。董锦艳等整理出 1997 年以前发现的 90 余种杀线真菌毒素,分布在担子菌、子囊菌、半知菌^[23,25,26]。测试线虫大部分是腐生线虫(*Caenorhabditis elegans*) 以及产生世界性危害的根结线虫和胞囊线虫(*Heterodera spp.*)。但对于松材线虫有活性的代谢物报道较少^[27]。本文对这些真菌毒素不作重复叙述,仅作补充。

Wagner 等^[28]发现 *Cladobotryum rubrobrunescens* 中的 cladobotrin 对根结线虫 (*Meloidogyne incognita*) 有微弱活性 100 μg ml⁻¹ (LD₅₀),但未用于测试松材线虫。Kawazu 等^[29]从真菌菌株 D1084 中分离到两种杀线成分 depsipeptides,命名为 bursaphelocides A (1)和 B(2),结构如图 1 所示。100 μg 的毒素 A 和 B 对松材线虫有活性。孙建华^[30]对土壤中的 99 株真菌以 PSM (potato-sucrose-malt extract)培养基培养,检

测其培养物对松材线虫生长和繁殖的抑制作用,发现总状共头霉 (*Syncephalastrum racemosum*) 显示极强的抗线虫活性,并初步测定了不同培养条件下培养物的杀线活性。向红琼等^[31]用乙酸乙脂、丙酮乙醇、石油醚等有机溶剂和水从粗皮侧耳麦粒培养物中提取出粗毒素,发现使用乙酸乙脂提取的粗毒素具有一定的广谱性,对松材线虫有较强的毒性,并指出 Kwok 分离出的反癔烯二酸并不能完全代表粗皮侧耳毒素。董锦艳等^[32]对日本亮耳菌(*Lampteromyces japonicus*)野生型菌株、驯化菌株和退化菌株的杀松材线虫活性的稳定性研究认为,退化型菌株的致病效果高于野生型。李国红等^[33]在线虫的生防研究中发现一种新的杀线虫担子菌,属于侧耳属(*Pleurotus sp.*),该菌 12 h 内对松材线虫的致病率达 90%以上,其活性组份存在于发酵液中,不需诱导能稳定生成,水溶性,对热不敏感。除 Kazuyoshi 外,其他学者均未明确毒素名称和结构,但为研究开发杀线生防制剂做了有益探索,特别对侧耳属杀线毒素应深入研究。

应用细菌防治植物寄生线虫研究在国内外已取得很大进展^[34,35]。细菌较真菌生长快,易培养,已经有许多成功实例。如寄生性细菌 *Pasteuria penetrans* 已被成功地用于防治根结线虫^[35,36]。Bradfish 等^[34]发现苏云金杆菌(*Bacillus thuringiensis*)的杀虫晶体蛋白对某些植物寄生线虫有毒性。黄必旺等^[34]测定了该菌的杀线毒性。Ali 等^[37]发现 *Pseudomonas spp.* 的某些菌株的培养滤液对根结线虫幼虫有致死效应。

Clostridium butyricum 的培养液含有酪酸、蚁酸、乙酸、丙酸脲、脂肪酸,特别是酪酸对线虫有较强的活性^[38-40]。Mishra 等^[41]检测了 800 株放线菌杀线活性,发现约 16 株有活性,如 *Streptomyces* sp. 的 avermectins 产物,表明土壤微生物可以产生高活性的杀线毒素。迄今为止,国内外尚未见到用细菌毒素毒杀松材线虫的报道。

2.3 天然毒素活性测试中存在的问题

一种生物可能产生多种杀线毒素,表现出的毒性往往是各种毒素综合作用的结果,仅研究单一化合物的杀线活性不切合实际。但是,对粗提物笼统研究活性,势必弱化其中发挥主要杀线作用的成分,亦不可取。

毒素活性测试范围需要扩大。由于林间土壤中的线虫种类繁多,在筛选杀线毒素时,除了对靶线虫在不同条件下的毒性反应进行测试,以及使用腐生线虫 *Panagrellus redivivus* 和 *Caenorhabditis elegans* 作为指示线虫外,还应注意对其它有益线虫,特别是捕食性线虫,和小型动物进行活性测试,避免在杀灭松材线虫的同时对有益生物造成严重危害。

在杀线活性的研究中,没有统一的衡量毒性标准。有的使用致死率,有的使用存活率,有的按照 Chandravadana 等^[19]的分级方法。虽然在研究中可按照实际需要采用不同的标准,其本质含义是一致的,但随着研究结果的增多,必须规范标准,以减少障碍,便于相互比较结果。

3 天然毒素结构与杀线活性的研究

天然毒素的化学结构与杀线活性密切相关,探讨其结构与性能的关系,将为开发高效生物农药提供理论基础。越来越多的学者^[42]认识到,研究杀线物

质的结构与该物质生物活性之间的关系不仅具有理论意义,而且对于寻找活性更强的天然化合物,指导合成高活性的新化合物,以及通过对天然化合物进行化学修饰,从而提高其生物活性具有极大的实用意义。目前这些物质在线虫中的作用机理尚未得到深入研究,对于它们分子结构与杀线活性的关系,也只是从分子结构本身寻找对应关系,一旦作用机理被阐明,构效间关系的分析结论将会更具有可靠性和普遍性。

植物中的天然杀线毒素种类很多,但针对松材线虫,主要对苦豆碱 (Aloperine)(3)、脱氢苦豆碱 (Δ^{11} -dehydroaloperine)(4)、鹰爪豆碱 (Sparteine)(5)、槐果碱 (Sophocarpine)(6)、槐胺碱 (Sophoramine)(7)、苦参碱 (Matrine)(8)、甲基野靛碱 (N-Methylcytisine)(9)、臭豆碱 (Anagryne)(10)、野靛碱 (Cytisine)(11)(图 1)、尼古丁和白金雀花碱等生物碱的化学结构与杀线活性进行了研究(表 2)。

Matsuda^[18,19]把杀线成分甲基野靛碱与其它生物碱进行比较,认为甲基野靛碱杀松材线虫活性是臭豆碱的两倍,是野靛碱和尼古丁的一半,因此认为野靛碱型结构碱具有杀线活性。此后,他们又研究了苦参中的主要生物碱苦参碱及其衍生物对松材线虫的活性,结果表明,苦参碱杀线活性很差,而苦参碱的不饱和衍生物槐果碱及槐胺碱有较强杀线活性,因此认为苦参碱型生物碱 δ -内酰胺环的不饱和程度对杀线活性至关重要。此外,他们通过比较野靛碱型结构生物碱与槐胺、槐果碱及白金雀花碱的生物活性后认为, α -吡啶酮环不是杀线虫的必需结构。虽然具杀线活性的野靛碱型结构一般会含有 α -吡啶酮环,但是,该研究发现含 α -吡啶酮环的槐胺碱杀线活性低,而不包含 α -吡啶酮环的白金雀花碱却与甲基野靛碱具有同样强的杀线

表 2 几种生物碱的结构类型、所含官能团对及杀线活性

Table 2 Structural type, Functional group pair type and nematocidal activity of alkaloids

生物碱 Alkaloids	结构类型 Types	官能团对 Functional group pairs	双键数 No. of double bounds	杀线活性 Nematocidal activity $\log(1/ID_{50})$
苦豆碱 Aloperine (3)	苦豆碱型 Aloperine	B3C	1	—*
野靛碱 Cytisine (11)	野靛碱型 Cytisine	C3C	2	8.23*
鹰爪豆碱 Sparteine (5)	鹰爪豆碱型 Sparteine	C3E	0	7.96*
甲基野靛碱 N-Methylcytisine (9)	野靛碱型 Cytisine	C3E	2	7.91*
槐果碱 Sophocarpine (6)	苦参碱型 Matrine	C3E	1	7.78*
臭豆碱 Anagryne (10)	臭豆碱型 Anagryne	C3E	2	7.54*
槐胺碱 Sophoramine (7)	苦参碱型 Matrine	C3E	2	6.68*
苦参碱 Matrine (8)	苦参碱型 Matrine	C3E	0	6.39*
				6.28**

* 和 ** 分别为 Matsuda 等和赵博光测定 Measured by Matsuda K et al.^[18,19] and Zhao B G^[44], respectively.

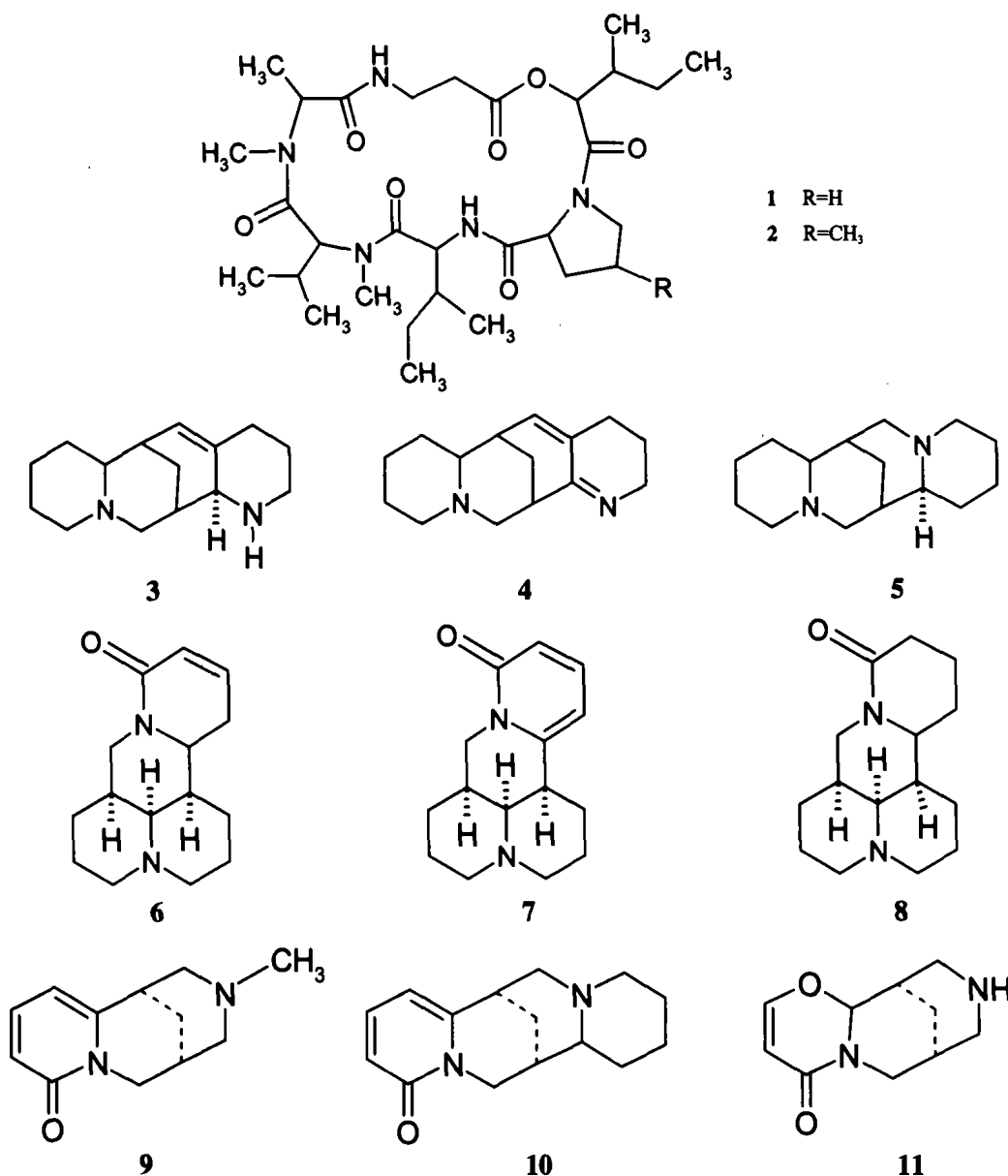


图 1 杀松材线虫毒素的化学结构
Fig. 1 Structures of toxins against pine wood nematode

活性。

上述生物碱中以苦豆碱杀线活性最强(表 2)。赵博光^[44]提出了双稠哌啶类生物碱对松材线虫的杀线活性强弱主要受分子结构中官能团对(Functional group pair, FGP)的类型及其中的官能团的类型控制假说,认为双稠哌啶类生物碱对松材线虫的杀线活性主要取决于分子结构中的官能团对类型;不同类型的官能团对的活性是由其中两个 FG 活性之和所决定;生物碱的立体构性、双键的位置、数目等均会影响生物碱的杀线活性。根据这一假说,推测具 B3C 官能团对的其它生物碱,特别是具 B3B 官能团对的生物碱可能具有更强的杀线活性。

李小平等^[42]在比较苦豆碱和脱氢苦豆碱的杀线

活性时发现含仲胺型氮原子的苦豆碱比含叔胺型氮原子的脱氢苦豆碱活性强,即 B3C 型的活性大于脱氢苦豆碱所属的 C3C 型,从而证实了赵博光的假说。

此外, Takayuki 等^[10]提出,赤松素单甲醚的反式二苯乙烯环和羟基以及阿魏酸甲酯的甲酯基是松树内源毒素具备杀松材线虫活性的必要结构。

目前发现的杀线毒素结构主要是醌类化合物(苯醌类、蒽醌类、cochlioquinone)、生物碱类化合物(吲哚酮类、喹啉类、吩噻嗪类、gliotoxin)、萜类化合物(薄荷醇型单萜化合物、倍半萜型化合物、二倍半萜化合物)、大环内脂类化合物、肽类化合物、顶环氧菌素类化合物、吡喃类化合物(异香豆素类化合物、

菌根素类化合物以及部分吡喃类化合物)、呋喃类化合物、脂肪酸类化合物、萜类化合物等^[45]。目前天然毒素结构与杀线活性的报道不多^[46],尤其是对杀松材线虫活性的研究报道很少。但是已知的杀线毒素普遍存在广谱性,为从中筛选对松材线虫产毒的真菌及分离纯化其活性物提供了资料。

4 结语

综上所述,几十年来的研究,特别是对农林业危害重大的寄生性植物线虫天然毒物的筛选,为线虫生物防治研究提供了基础资料。但是对于天然毒素成份鉴定、毒素结构与杀线活性的关系、毒素对线虫的致毒机理、各毒素之间的相互作用、它们对有益生物的可能影响、食线虫真菌遗传背景与分泌毒素的关系以及未来线虫可能产生的抗毒机制都不甚清楚,有待深入研究。随着分离技术和现代生物学技术的发展和完善,将会发现许多新的杀线毒素并进行系统研究。

开展多样化的生防研究十分必要。目前国内外尚未有利用松材线虫的天敌进行大面积控制的成功例子。真菌对线虫的作用方式多种多样,仅食线菌物的取食机制就有捕食菌物、内寄生菌物、卵寄生菌物、机会菌物和产毒菌物^[33]之分,对线虫数量均能发挥不同程度的调控作用。目前世界上已报道的食线虫真菌有 200 多种,而我国报道仅有约 100 种,这一宝贵资源亟待开发。筛选杀线细菌,从中分离纯化杀松材线虫毒素也将成为今后的研究热点。多样化的生物防治,有利于因地制宜地选择防治方法,有利于维持生态平衡。

参考文献

- [1] Zhu K G (朱克恭). Studies on pine disease caused by *Bursaphelenchus xylophilus*: a review [J]. World For Res (世界林业研究), 1995, 3:28-32. (in Chinese)
- [2] Britton K O, Sun J H. Unwelcome guests: exotic forest pest [J]. Acta Entom Sin (昆虫学报), 2002, 45(1):121-130.
- [3] Zhang Z Y (张治宇), Zhang K Y (张克云), Lin M S (林茂松), et al. Pathogenicity of *Bursaphelenchus xylophilus* isolates to *Pinus thunbergii* and *P. massoniana* and incubation of the nematode [J]. J Shenyang Agri Univ (沈阳农业大学学报), 2001, 32(3): 239. (in Chinese)
- [4] Song S Y (宋双玉). Literature analysis of research progress on *Bursaphelenchus xylophilus* [J]. Chin For Pest Disease (森林病虫害通讯), 1997, 3:33-37. (in Chinese)
- [5] Wang M X (王明旭), Chen L C (陈良昌), Ouyang X H (欧阳叙回), et al. Investigation of the pine wilt disease [J]. Hunan For Sci Techn (湖南林业科技), 1999, 7:16. (in Chinese)
- [6] Liu G Q (刘国强), Gao J M (高锦明), Wu W J (吴文君). Recent advances in natural insecticidal constituents from plant origin [J]. Acta Bot Boreal-Occident Sin (西北植物学报), 2002, 22(3):703-713. (in Chinese)
- [7] Zhao B G (赵博光), Wu R Q (吴如其), Li X P (李小平). Field tests of controlling the pine wilt disease with the alkaloid aloperine [J]. Sci Sil Sin (林业科学), 1998, 34(6):113-117. (in Chinese)
- [8] Zhao Z D (赵振东), Xu F Y (徐福元). Recent progress of research on relations between pine chemistry and pine wilt disease caused by PWN [J]. Chem Indu For Prod (林产化学与工业), 1998, 18(2): 83-88. (in Chinese)
- [9] Xu F Y (徐福元), Xi K (席克), Xu G (徐刚), et al. Study on the resistances of various year classes of *Pinus massoniana* to pine wood nematode (PWN), *Bursaphelenchus xylophilus* [J]. J Nanjing For Univ (南京林业大学学报), 1994, 18(3):36-42. (in Chinese)
- [10] Suga T, Ohta S, Munesada K, et al. Endogenous pine wood nematocidal substances in pines, *Pinus massoniana*, *P. strobus* and *P. palustris* [J]. Phytochemistry, 1993, 33(6):1395-1401.
- [11] Akhtar M, Malik A. Roles of organic soil amendments and soil organisms in the biological control of plant-parasitic nematodes: a review [J]. Biol Techn, 2000, 74:35-47.
- [12] McBride R G, Mikkelsen R L, Barker K R. The role of low molecular weight organic acids from decomposing rye in inhibiting root-knot nematode populations in soil [J]. Appl Soil Ecol, 2000, 15:243-251.
- [13] Begum S, Wahab A, Siddiqui B S, et al. Nematicidal constituents of the aerial parts of *Lantana camara* [J]. J Natl Prod, 2000, 63: 765-767.
- [14] Zhao B G (赵博光). Nematicidal activity of aloperine against pine wood nematodes [J]. Sci Sil Sin (林业科学), 1996, 32(3):243-247. (in Chinese)
- [15] Wen Y H (文艳华), Feng Z X (冯志新), Xu H H (徐汉虹), et al. Screening for nematicidal activity of some Chinese plant extracts against plant parasitic nematodes, *Bursaphelenchus xylophilus*, *Meloidogyne arenaria* and *Hirschmanniella oryzae* [J]. J Huazhong Agri Univ (华中农业大学学报), 2001, 20(3):235-238. (in Chinese)
- [16] Jun Y W (巨云为), Bi Q S (毕庆泗), Zhao B G (赵博光). Nematicidal activity of *Melilotos senften* *azedarach* extracts against pine wood nematodes [J]. For Sci Techn Deve (林业科技开发), 2002, 16(5):26-27. (in Chinese)
- [17] Kawazu K, Nishii Y, Ishii K. A convenient screening method for nematicidal activity [J]. Agri Biol Chem, 1980, 44(3):631-635.
- [18] Matsuda K, Kimura M, Komai K, et al. Nematicidal activities of (-)-N-methylcytisine and (-)-anagrine from *Sophora flavescens* against pine wood nematodes [J]. Agri Biol Chem, 1989, 53(8): 2287-2288.
- [19] Matsuda K, Yamada K, Kimura M, et al. Nematicidal activity of matrine and its derivatives against pine wood nematodes [J]. J Agri

- Food Chem, 1991, 39:181-191.
- [20] Nogueira M A, Oliveira J S D, Ferraz S. Nematicidal hydrocarbons from *Mucuna atterima* [J]. Phytochemistry, 1996, 42(4):997-998.
- [21] Conrad J, Vogler B, Reeb S, et al. Isoterchebulin and 4,6-O-isoterchebuloyl-d-glucose, novel hydrolyzable tannins from *Terminalia macroptera* [J]. J Natl Prod, 2001, 64:294-299.
- [22] Jurgens T M, Frazier E G, Schaeffer J M, et al. Novel nematocidal agents from *Curcuma comosa* [J]. J Natl Prod, 1994, 57(2):230-235.
- [23] Dong J Y (董锦艳), Zhang K Q (张克勤), Zhao Z X (赵智娴), et al. Current advances in nematocidal toxins from higher fungi (I) [J]. Chin J Biol Contr (中国生物防治), 2001, 17(2):92-95. (in Chinese)
- [24] Olthof T H A, Estey R H. A nematotoxin produced by the nematophagous fungus *Arthrobotrys oligospora fresenius* [J]. Nature, 1963, 197:514-515.
- [25] Dong J Y (董锦艳), Li G H (李国红), Zhang K Q (张克勤). Current advances in studies of nematocidal metabolites from fungi [J]. Mycosystema (菌物系统), 2001, 20(2):286-296. (in Chinese)
- [26] Dong J Y (董锦艳), Zhang K Q (张克勤), Zhao Z X (赵智娴), et al. Current advances in nematocidal toxins from higher fungi (II) [J]. Chin J Biol Contr (中国生物防治), 2001, 17(3):138-141.
- [27] Anke H, Sterner O. Nematicidal metabolites from higher fungi [J]. Curr Org Chem, 1997, 1:361-347.
- [28] Wagner C, Anke H, Sterner O. Rubrobramide, a cytotoxic and phytotoxic metabolite from *Cladobotryum rubrobrunescens* [J]. J Natl Prod, 1998, 61:501-502.
- [29] Kawazu K, Murakami T, Ono Y, et al. Isolation and characterization of two novel nematocidal depsipeptides from an imperfect fungus, Strain D1084 [J]. Biosci Biotechn Biochem, 1993, 57(1): 98-101.
- [30] Sun J H (孙建华). Studies on inhibitory effect of soil isolated fungi cultures on the growth and propagation of pine wood nematode [J]. Acta Sci Natl Univ Nankai (南开大学学报自然科学版), 1997, 30(3):82-87. (in Chinese)
- [31] Xiang H Q (向红琼), Feng Z X (冯志新). Nematicidal activity and elementary characteristics of the crude from *Pleurotus ostreatus* [J]. J Yunnan Agri Univ (云南农业大学学报), 1999, 14(Suppl.): 82-87. (in Chinese)
- [32] Dong J Y (董锦艳), Mo M H (莫明和), Chen J H (陈江虹), et al. The morbidity stability of different *Lampteromyces japonicus* strains [J]. J Yunnan Univ (云南大学学报), 2000, 22(5):365-368. (in Chinese)
- [33] Li G H (李国红), Zhang K Q (张克勤). A new nematocidal basidiomycetes [J]. J Yunnan Univ (云南大学学报), 2001, 23(2): 149-152. (in Chinese)
- [34] Hong B W (黄必旺), Yu Z N (喻子牛), Hong Z P (黄志鹏). Biocontrol of plant-parasitic nematodes by bacteria [J]. J Fujian Agri Univ (福建农业大学学报), 1998, 27(3):257-260. (in Chinese)
- [35] Mankau R. Biological control of *Meloidogyne* populations by *Bacillus penentrans* in West Africa [J]. J Nema, 1980, 12:230.
- [36] Stirling G R. Biological control of *Meloidogyne javanica* with *Bacillus penentrans* [J]. Phytopathology, 1984, 74(1):55-60.
- [37] Ali N I, Siddiqui I A, Shaukat S S, et al. Nematicidal activity of some strains of *Pseudomonas* spp. [J]. Soil Biol Biochem, 2002, 34:1051-1058.
- [38] Jonson T M. Effect of fatty acid mixtures on the rice stylet nematode *Tylenchorhynchus martini* Fielding [J]. Nature, 1959, 183:1392.
- [39] Hollis J P, Rodriguez-Kabana R. Rapid kill of nematodes in flooded soil [J]. Phytopathology, 1966, 56:1015-1019.
- [40] Hollis J P, Rodriguez-Kabana R. Fatty acids on Louisiana rice fields [J]. Phytopathology, 1967, 57:841-847.
- [41] Mishra S K, Keller J E, Miller J R, et al. Insecticidal and nematocidal properties of microbial metabolites [J]. J Ind Micro, 1987, 2: 267-276.
- [42] Li X P (李小平), Wu R Q (吴如其), Xia M Z (夏民洲), et al. Relationship between molecular structure and nematocidal activity of two alkaloids, aloperine and Δ^{11} -dehydroaloperine [J]. J Nanjing For Univ (南京林业大学学报), 2000, 24(4):78-81. (in Chinese)
- [43] Zheng Y Q (郑永权), Yao J R (姚建仁), Shao X D (邵向东). Research progress of the chemical compounds of *Sophora flavescens* and its application in agriculture [J]. Pest Sci Manag (农药科学与管理), 2000, 21(1):24-30. (in Chinese)
- [44] Zhao B G (赵博光). Relationship between molecular structure and nematocidal activity of quinolizidine alkaloids [J]. Sci Sil Sin (林业科学), 1998, 34(5):61-68. (in Chinese)
- [45] Dong J Y (董锦艳), Zhang K Q (张克勤), Zhao Z X (赵智娴), et al. Nematicidal activity of perylenequinones photosensitive compounds [J]. Mycosystema (菌物系统), 2001, 20(4):515-519. (in Chinese)
- [46] Gonzalez J A, Estevez-Braun A. Phytonematicidal activity of aromatic compounds related to shikimate pathway [J]. Pest Biochem Physic, 1997, 58:193-197.