

苍耳叶活性组分对害虫的拒食和忌避作用及其化学成分

周琼^{1,2}, 魏美才², 欧晓明³, 钟义海², 王问学²

(1. 湖南师范大学生命科学学院, 湖南长沙 410081; 2. 中南林业科技大学昆虫系统与进化生物学实验室, 湖南长沙 410004; 3. 湖南化工研究院 国家农药创制工程技术研究中心, 湖南长沙 410007)

摘要: 采用硅胶柱层析法对苍耳(*Xanthium sibiricum* Patrin.) 叶甲醇提取物的乙酸乙酯萃取物的活性成分进行了跟踪分离及生物活性测定。共分离出 8 个活性组分, 其中组分 II 对试虫的生物活性最高。组分 II ($0.01 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$) 对菜青虫(*Pieris rapae* L.) 和小菜蛾(*Plutella xylostella* L.) 的选择性拒食率高达 100.00%; 对桃蚜 [*Myzus persicae* (Sulzer)] 和萝卜蚜 [*Lipaphis erysimi* (Kaltenbach)] 的选择性忌避率分别为 61.11% 和 70.83%; 对小菜蛾的 24 h 选择性产卵忌避率达 71.17%, 并对小菜蛾幼虫的化蛹率和蛹重也有显著影响。经 HPLC 和 LC-MS 分析, 组分 II 的主要化学成分为倍半萜内酯类化合物 4 β ,5 β -环氧苍耳素-1 α ,4 α -内过氧化物, 分子式为 $\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_5$ 。

关键词: 苍耳; 活性组分; 拒食; 忌避; 害虫

中图分类号: S482.3⁺9; TQ451.2 文献标志码: A 文章编号: 1004-0978(2009)01-0074-06

Antifeedant and deterrent effect of active fractions in *Xanthium sibiricum* leaf against insect pests and its chemical component ZHOU Qiong^{1,2}, WEI Mei-cai², OU Xiao-ming³, ZHONG Yi-hai², WANG Wen-xue² (1. College of Life Science, Hu'nan Normal University, Changsha 410081, China; 2. Laboratory of Insect Systematics and Evolutionary Biology, Central South University of Forestry and Technology, Changsha 410004, China; 3. National Engineering and Technology Research Center for Agrochemicals, Hu'nan Research Institute of Chemical Industry, Changsha 410007, China), *J. Plant Resour. & Environ.* 2009, 18(1): 74-79

Abstract: Eight active fractions were separated from the ethyl acetate extracts of *Xanthium sibiricum* Patrin. leaf methanol extracts by silica gel column chromatography, and their effect of antifeedant and deterrent on four insect pests were investigated in laboratory. The results show that among the eight fractions, the biological activity of fraction II is the highest. The selective antifeedant rate of fraction II ($0.01 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$) against *Pieris rapae* L. and *Plutella xylostella* L. is 100.00%, and its selective deterrent rate against *Myzus persicae* (Sulzer) and *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach) is 61.11% and 70.83%, respectively. After treated for 24 h, the selective oviposition deterrent rate of fraction II against *Plutella xylostella* is 71.17%, meanwhile, it has significant effect on pupation rate and pupal weight of *Plutella xylostella* larvae. The identification result of HPLC and LC-MS shows that the main chemical component of fraction II is 4 β ,5 β -epoxyxanthatin-1 α ,4 α -endoperoxide ($\text{C}_{15}\text{H}_{18}\text{O}_5$), which is a sesquiterpene lactones compound.

Key words: *Xanthium sibiricum* Patrin.; active fraction; antifeedant; deterrent; insect pest

昆虫与植物经过长期的协同进化, 植食性昆虫不能在非寄主植物上生存或繁衍, 导致这种现象最重要的影响因素是化学因素, 即植物体内的次生化

合物在抵御植食性昆虫侵害的过程中起重要作用^[1-2]。研究植物的化学防御物质及其作用机理, 在理论上可以为研究植物与昆虫协同进化的化学因

收稿日期: 2008-03-03

基金项目: 国家自然科学基金资助项目(30570226); 湖南省自然科学基金重点项目(06JJ20099); 湖南省教育厅基金项目(05C336)

作者简介: 周琼(1965—), 女, 湖南宁乡人, 博士, 教授, 主要从事植物源害虫行为调控剂和化学生态学研究。

素提供依据,在实践上可以用于害虫综合治理,为生物和环境合理农药的研制提供原料和先导化合物。

菊科(Compositae)植物苍耳(*Xanthium sibiricum* Patr.)在中国分布广泛,是重要的中药材^[3-4]和传统的“土农药”^[5]。小菜蛾(*Plutella xylostella* L.)、菜青虫(*Pieris rapae* L.)、萝卜蚜[*Lipaphis erysimi* (Kaltenbach)]和桃蚜[*Myzus persicae* (Sulzer)]是全球范围内重要的蔬菜害虫,前三者食性范围窄,主要以十字花科(Brassicaceae)植物为食^[6-8],桃蚜虽然可以取食40多科的400多种植物^[9],但并不取食苍耳,说明苍耳是上述几种昆虫的非寄主植物,苍耳体内必定存在某些让这些昆虫无法克服的化学因素。近年来,对苍耳化学防御成分的系统研究结果显示,苍耳提取物对小菜蛾等害虫有多种生物活性^[10-13],其主要活性成分存在于叶片和果实的乙酸乙酯提取物中^[14]。为进一步分离苍耳的活性组分,笔者对苍耳甲醇提取物中生物活性较高的乙酸乙酯萃取物进行了硅胶柱层析跟踪分离、活性测试和化学成分分析,旨在为植物与昆虫相互关系的研究、害虫的综合治理以及苍耳的深度开发利用提供依据。

1 材料和方法

1.1 材料

实验用苍耳叶于2006年10月至11月采自湖南省湘潭市郊,自然阴干,50℃烘干,粉碎后过40目筛,备用。寄主小白菜(*Brassica chinensis* L.)播种并栽培在装有营养土的塑料花盆中,置于500 mm × 500 mm × 500 mm的铝合金养虫笼中栽培,整个生长期不施用任何农药,待长出5~6片以上真叶时供试。实验用小菜蛾、菜青虫、萝卜蚜和桃蚜均采自湖南省长沙市未施农药的自种蔬菜地,在室内(25℃)用小白菜进行继代饲养。

1.2 方法

1.2.1 苍耳活性组分的分离提取方法 按照周琼等^[14]的实验方法获得苍耳叶的乙酸乙酯萃取物,采用硅胶柱层析法^[15]进行分离,流动相为石油醚、氯仿、乙酸乙酯、丙酮和甲醇,按一定比例混合,依次对乙酸乙酯萃取物进行洗脱,得到多个流分,经G254硅胶薄层板(青岛海洋化工厂)层析后,合并Rf值相同的流分,共得到8个活性组分,依次编号为I~VIII。将各组分浓缩、称重后用甲醇溶解并定容,分别配制

浓度为0.1 g · mL⁻¹的组分原液,贮于棕色瓶中,置于冰箱中保存备用。

1.2.2 苍耳活性组分的生物测定方法

1.2.2.1 对菜青虫和小菜蛾选择性拒食活性的测定方法 采用周琼等^[14]的方法,取各组分原液用蒸馏水稀释至0.01 g · mL⁻¹作为处理液,设相应浓度的甲醇水溶液为对照,处理和对照叶碟在培养皿中相间排列。4龄菜青虫测试前饥饿3 h,每皿1头置于皿中央,25℃培养,实验过程中及时添加相应处理的叶碟,24 h时测量剩余叶碟的面积。取上述测试中活性较高的组分,采用相同的方法测定小菜蛾4龄幼虫的选择性拒食活性,处理前饥饿2 h,每皿5~6头。各实验均设5次重复。

1.2.2.2 对桃蚜和萝卜蚜选择性忌避作用的测定方法 采用改进的半叶法^[14],处理液浓度为0.01 g · mL⁻¹,设相应浓度的甲醇水溶液为对照,每皿接入蚜虫16~20头,实验设5次重复,于24 h时观察记录叶碟上停留的蚜虫数量。

1.2.2.3 对小菜蛾的选择性产卵忌避作用的测定方法 采用改进的叶碟法^[14],原液用蒸馏水稀释至0.01 g · mL⁻¹,设相应浓度的甲醇水溶液为对照,接入新近羽化的小菜蛾成虫3~5对,实验设5次重复。分别于处理后24、48和72 h时观察统计每片叶碟的落卵量。

1.2.2.4 对小菜蛾的化蛹率和蛹重影响的实验方法 取小菜蛾4龄幼虫,饥饿2 h后,用经过0.01 g · mL⁻¹处理液处理的小白菜叶饲喂至其化蛹,统计幼虫的化蛹率,称量蛹重。以相应浓度的甲醇水溶液为对照。每皿5~6头幼虫,实验重复5次。

1.2.3 苍耳活性组分II的结构鉴定 经上述实验后,选择生物活性较高的组分II,采用Agilent 1100 Series LC-MS进行成分和结构鉴定。色谱条件为:Zorbax C₁₈色谱柱(4.6 mm × 150 mm, 3.5 μm),柱温35℃;流动相为体积分数60%的甲醇溶液,流速1 mL · min⁻¹;检测波长259 nm;PAD检测器。质谱条件为:离子源APCI;质量扫描范围50~800 amu;Fry-Mentor电压100 eV。

1.3 数据处理

根据文献[14]的方法计算选择性拒食率、选择性忌避率和选择性产卵忌避率,评价苍耳各活性组分对害虫的拒食和忌避活性,并使用SPSS软件进行

数据处理。

2 结果和分析

2.1 苍耳乙酸乙酯萃取物的不同活性组分对害虫的生物活性

2.1.1 对菜青虫和小菜蛾的选择性拒食活性 苍耳叶的乙酸乙酯萃取物经柱层析后,共分离得到8个活性组分,即组分I~VIII,提取率分别为0.95%、3.80%、6.28%、2.70%、1.02%、2.26%、2.26%和1.42%,各组分对菜青虫和小菜蛾的选择性拒食活性见表1。由表1可以看出,8个活性组分对菜青虫均表现出一定的拒食活性,其中,组分II、III、IV和V

对菜青虫的拒食活性最强,选择性拒食率分别高达100.00%、100.00%、99.86%和63.64%;菜青虫对小白菜叶碟的取食面积与对照之间均存在显著差异($P < 0.05$)。

根据上述实验结果,取拒食活性较高的组分II~V处理小白菜叶碟,测定小菜蛾4龄幼虫的拒食活性,结果显示(表1),4个组分均对小菜蛾4龄幼虫有明显的拒食活性,其中,组分II对小菜蛾的拒食活性最强,拒食率达100.00%;其次是组分IV,拒食率达99.15%;组分III和V对小菜蛾也有较高的拒食活性,拒食率均在74.00%以上。各处理组小菜蛾4龄幼虫的取食面积与对照组的取食面积之间差异显著($P < 0.05$)。

表1 苍耳叶不同活性组分对菜青虫和小菜蛾的拒食活性($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

Table 1 Antifeedant activity of different active fractions from *Xanthium sibiricum* Patr. leaf against *Pieris rapae* L. and *Plutella xylostella* L. ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

组号 No. of fraction	菜青虫的拒食活性 Antifeedant activity of <i>Pieris rapae</i>			小菜蛾的拒食活性 Antifeedant activity of <i>Plutella xylostella</i>		
	S_0/mm^2	S/mm^2	AR/%	S_0/mm^2	S/mm^2	AR/%
I	837.00 ± 93.74a	482.40 ± 119.48a	26.90	-	-	-
II	1 527.00 ± 151.78a	0.00 ± 0.00b	100.00	151.50 ± 21.46a	0.00 ± 0.00b	100.00
III	1 187.00 ± 94.84a	0.00 ± 0.00b	100.00	197.56 ± 46.13a	29.17 ± 13.20b	74.27
IV	1 467.20 ± 86.52a	1.00 ± 1.00b	99.86	209.39 ± 53.06a	0.89 ± 0.25b	99.15
V	1 033.20 ± 95.52a	229.60 ± 68.09b	63.64	191.83 ± 33.84a	26.83 ± 26.83b	75.46
VI	949.00 ± 105.14a	459.80 ± 116.38a	34.72	-	-	-
VII	922.60 ± 138.65a	522.80 ± 195.50a	27.66	-	-	-
VIII	586.80 ± 247.21a	352.40 ± 143.56a	24.96	-	-	-

¹⁾ S_0 : 对照组的取食面积 Feeding area of the control group; S : 处理组的取食面积 Feeding area of the treatment group; AR: 选择性拒食率 Selective antifeedant rate. 同行成对数据后的不同字母表示经 t 检验差异显著 ($P < 0.05$) Different letters after the pair datums in the same row indicate significant difference by t test ($P < 0.05$).

2.1.2 对桃蚜和萝卜蚜的选择性忌避作用 苍耳叶乙酸乙酯萃取物中8个活性组分对桃蚜和萝卜蚜的选择性忌避作用结果见表2。由表2可见,不同组分($0.01 \text{ g} \cdot \text{mL}^{-1}$)对桃蚜和萝卜蚜的选择性忌避活性不同,其中组分II对桃蚜的忌避效果最好,选择性忌避率达到61.11%,桃蚜在处理半叶上的居留数量明显少于对照,且两者间差异显著。

由表2还可以看出,8个活性组分对萝卜蚜的忌避活性大部分高于桃蚜,其中组分I、II、III和IV均对萝卜蚜有明显的选择性忌避作用,以组分II的忌避活性最高,24 h 选择性忌避率达到70.83%。

2.1.3 对小菜蛾的选择性产卵忌避作用 经上述生物活性实验后,取活性较高的组分II、III、IV和V用于小菜蛾选择性产卵忌避作用的测定,结果见表

3。由表3可以看出,在处理24、48和72 h,经组分II、III和IV处理的小白菜叶碟上小菜蛾的累计落卵量均低于对照,其中组分II活性最高。处理后24 h,组分II和III对小菜蛾的选择性产卵忌避率分别为71.17%和60.66%,累计落卵量均与对照差异显著($P < 0.05$)。在处理48和72 h,组分II和IV对小菜蛾的选择性产卵忌避率略高于24 h,其中组分II对小菜蛾的选择性产卵忌避率分别达80.35%和88.13%,略高于24 h的忌避效果,累计落卵量仍显著低于对照组($P < 0.05$);组分IV对小菜蛾的选择性产卵忌避率分别为35.19%和43.14%,但处理组与对照组间差异不显著;其余组分(III、V)在处理48和72 h对小菜蛾的产卵忌避效果均降低或没有忌避作用。

表2 苍耳叶不同活性组分对桃蚜和萝卜蚜的选择性忌避作用($\bar{X} \pm SD$)¹⁾Table 2 Selective deterrent effect of different active fractions from *Xanthium sibiricum* Patr. leaf against *Myzus persicae* (Sulzer) and *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach) ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

组分号 No. of fraction	桃蚜的选择性忌避作用 Selective deterrent effect of <i>Myzus persicae</i>			萝卜蚜的选择性忌避作用 Selective deterrent effect of <i>Lipaphis erysimi</i>		
	N_0	N	DR/%	N_0	N	DR/%
I	3.80 ± 1.43a	4.00 ± 1.00a	-2.56	8.00 ± 1.22a	2.40 ± 1.25b	53.85
II	5.80 ± 0.97a	1.40 ± 0.68b	61.11	8.20 ± 1.66a	1.40 ± 0.68b	70.83
III	6.00 ± 1.18a	4.80 ± 1.39a	11.11	6.40 ± 0.51a	2.60 ± 0.51b	42.22
IV	3.40 ± 0.87b	7.20 ± 0.58a	-35.85	5.60 ± 1.44a	1.40 ± 0.68b	60.00
V	4.80 ± 0.73a	2.80 ± 1.24a	26.32	4.40 ± 1.63a	4.40 ± 1.43a	0.00
VI	5.20 ± 0.86a	4.00 ± 0.84a	13.04	3.40 ± 1.83a	6.80 ± 1.43a	-33.33
VII	3.20 ± 0.58a	4.60 ± 1.03a	-17.95	4.20 ± 0.73a	5.00 ± 1.14a	-8.70
VIII	6.20 ± 1.16a	3.40 ± 0.81a	29.17	3.00 ± 1.14a	5.20 ± 1.39a	-26.83

¹⁾ N_0 : 对照半叶上的虫数 Insect number on the half-leaf of the control; N : 处理半叶上的虫数 Insect number on the half-leaf of the treatment; DR: 选择性忌避率 Selective deterrent rate. 同行成对数据后的不同字母表示经 t 检验差异显著 ($P < 0.05$) Different letters after the pair datums in the same row indicate significant difference by t test ($P < 0.05$).

表3 苍耳叶不同活性组分对小菜蛾的选择性产卵忌避作用($\bar{X} \pm SD$)¹⁾Table 3 Selective oviposition deterrent effect of different active fractions from *Xanthium sibiricum* Patr. leaf against *Plutella xylostella* L. ($\bar{X} \pm SD$)¹⁾

组分号 No. of fraction	处理时间/h Treatment time	累计落卵数 Accumulative number of egg		选择性产卵忌避率/% Selective oviposition deterrent rate
		对照组 Control group	处理组 Treatment group	
II	24	23.75 ± 5.44a	4.00 ± 2.42b	71.17
	48	78.00 ± 21.80a	8.50 ± 4.21b	80.35
	72	130.75 ± 33.51a	8.25 ± 3.50b	88.13
III	24	12.25 ± 6.25a	3.00 ± 1.22b	60.66
	48	45.50 ± 21.44a	39.25 ± 11.00a	7.37
	72	99.75 ± 36.31a	71.25 ± 11.76a	16.67
IV	24	33.50 ± 14.54a	21.50 ± 7.27a	21.82
	48	97.00 ± 32.05a	46.00 ± 10.49a	35.19
	72	143.50 ± 38.47a	57.00 ± 12.05a	43.14
V	24	5.25 ± 2.06a	5.75 ± 4.13a	-4.55
	48	28.25 ± 7.57a	30.50 ± 9.24a	-3.83
	72	47.00 ± 18.85a	52.50 ± 14.97a	-5.53

¹⁾ 同行成对数据后的不同字母表示经 t 检验差异显著 ($P < 0.05$) Different letters after the pair datums in the same row indicate significant difference by t test ($P < 0.05$).

2.1.4 对小菜蛾幼虫化蛹率和蛹重的影响 用苍耳叶活性组分 II、III、IV 和 V 处理的小白菜叶片饲喂小菜蛾 4 龄幼虫, 其化蛹率和蛹重见表 4。可以看出, 组分 II 对小菜蛾幼虫化蛹的影响最大, 化蛹率仅为对照的 55.56%; 而组分 III、IV 和 V 处理组小菜蛾幼虫的化蛹率依次为对照的 77.78%、88.89% 和 97.53%。组分 II 对小菜蛾蛹重的影响也最大, 组分 II 处理组的小菜蛾平均蛹重仅为对照的 60.74%; 而组分 III、IV 和 V 处理组小菜蛾的平均蛹重分别为对照组的 65.94%、76.14% 和 90.67%, 活性均低于组分 II。

表4 苍耳叶不同活性组分对小菜蛾幼虫化蛹率和蛹重的影响
Table 4 Effect of different active fractions from *Xanthium sibiricum* Patr. leaf on pupation rate and pupal weight of *Plutella xylostella* L. larvae

组分号 No. of fraction	化蛹率/% Pupation rate	蛹重/mg Pupal weight
II	50.00	2.80
III	70.00	3.04
IV	80.00	3.51
V	87.78	4.18
CK	90.00	4.61

2.2 苍耳活性组分 II 的化学成分及结构鉴定结果

采用 HPLC 和 LC-MS 对苍耳乙酸乙酯萃取物

中活性最高的组分Ⅱ进行分离和成分分析,发现该组分以保留时间为9.095 min的化合物为主,通过归一化法计算得出其含量约占组分Ⅱ的95%。根据该化合物的质荷比和相对丰度,并与苍耳属植物已知化合物的质谱数据进行比对^[16],确定该活性成分为4 β ,5 β -环氧苍耳素-1 α ,4 α -内过氧化物(4 β ,5 β -epoxyxanthatin-1 α ,4 α -endoperoxide),是一种倍半萜内酯类化合物,分子式为C₁₅H₁₈O₅。

3 讨 论

苍耳属植物约有25种,广泛分布于世界各地,中国有4种及2变种^[17]。倍半萜内酯类化合物是菊科植物的特征成分,在苍耳属(*Xanthium* L.)植物中的含量较丰富^[18-26],该类化合物具有抗肿瘤^[27]和细胞毒性^[28-29]、抑制微生物生长(抗菌)^[30]、防治血吸虫病和皮肤致敏^[31]等作用。其中,苍耳素(xanthatin)是苍耳所含的倍半萜内酯类化合物中活性研究较多的化合物之一,具有细胞毒性、驱避贝类和抑制昆虫生长发育等作用^[19,22,32]。

苍耳叶乙酸乙酯萃取物活性组分Ⅱ的主要成分4 β ,5 β -环氧苍耳素-1 α ,4 α -内过氧化物是一种倍半萜内酯类化合物,最初是从欧洲苍耳(*X. strumarium* L.)中分离得到的^[16],迄今为止,仅有1篇有关其分离和结构鉴定的报道^[16]。本研究结果显示,在苍耳叶甲醇提取物乙酸乙酯萃取物的分离组分中,以该化合物为主要成分的组分Ⅱ对试虫的几种生物活性均高于其他组分,包括强烈的拒食、忌避(产卵忌避)和抑制蛹发育的作用。如:对菜青虫和小菜蛾的24 h选择性拒食率达100.00%;对小菜蛾的选择性产卵忌避率达71.17%;饲喂小菜蛾4龄幼虫,其化蛹率仅为对照的55.56%,蛹重仅为对照的60.74%。实验结果说明,4 β ,5 β -环氧苍耳素-1 α ,4 α -内过氧化物对植食性昆虫有明显的抑制作用,是苍耳体内重要的化学防御物质之一。

作者前期的研究^[14]结果表明,苍耳甲醇提取物经乙酸乙酯萃取后,剩余的甲醇萃取物在部分测试实验中也表现出较高的生物活性,而本研究中的其他活性组分也显示出一定的生物活性,说明苍耳体内可能还存在其他的活性化合物。有关这些化合物的种类和含量在苍耳不同生长发育期的时空变化规律,以及如何抵御植食性昆虫取食从而保证苍耳的

正常生长发育的作用机理,尚有待进一步的深入研究。

参考文献:

- [1] 钦俊德,王琛柱. 论昆虫与植物的相互作用和进化的关系[J]. 昆虫学报, 2001, 44(3): 360-365.
- [2] 康乐. 植物对昆虫的化学防御[J]. 植物学通报, 1995, 12(4): 22-27.
- [3] The State Pharmacopoeia Commission. Pharmacopoeia of the People's Republic of China (Vol. I) [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2000: 91.
- [4] 侯海宫, 吕益涛, 苏耀海, 等. 苍耳本草考证和药用文献考实[J]. 中草药, 2002, 33(12): 1128-1130.
- [5] 中国土农药编辑委员会. 中国土农药志[M]. 北京: 科学出版社, 1959: 165.
- [6] Talekar N S, Shelton A M. Biology, ecology and management of the diamondback moth[J]. Annual Review of Entomology, 1993, 38: 275-301.
- [7] Agrawal A A, Kurashige N S. A role for isothiocyanates in plant resistance against the specialist herbivore *Pieris rapae*[J]. Journal of Chemical Ecology, 2003, 29: 1403-1415.
- [8] Blande J D, Pickett J A, Poppy G M. Attack rate and success of the parasitoid *Diaeretiella rapae* on specialist and generalist feeding aphids[J]. Journal of Chemical Ecology, 2004, 30: 1781-1795.
- [9] Vargas R R, Troncoso A J, Tapia D H, et al. Behavioural differences during host selection between alate virginoparae of generalist and tobacco-specialist *Myzus persicae*[J]. Entomologia Experimentalis et Applicata, 2005, 116(1): 43-53.
- [10] Zhou Q, Liang G W, Zeng L, et al. The control efficiency of the plants alcohol extracts on the laboratory populations of *Myzus persicae* (Sulzer) and *Lipaphis erysimi* (Kaltenbach) [J]. Agricultural Sciences in China, 2002, 1(11): 1199-1203.
- [11] 周琼, 梁广文, 曾玲. 几种植物提取物和药剂对桃蚜和萝卜蚜生长发育的影响[J]. 中国蔬菜, 2005(2): 15-17.
- [12] 周琼, 刘炳荣, 舒迎花, 等. 苍耳等药用植物提取物对小菜蛾的拒食作用和产卵忌避效果[J]. 中国蔬菜, 2006(2): 17-20.
- [13] 李美, 高兴祥, 高宗军, 等. 苍耳等48种植物提取物的杀虫活性[J]. 植物资源与环境学报, 2008, 17(1): 33-37.
- [14] 周琼, 魏美才, 刘炳荣, 等. 苍耳不同分离物对害虫的拒食和忌避活性[J]. 植物保护, 2007, 33(6): 81-85.
- [15] 孔垂华, 徐效华. 有机物的分离和结构鉴定[M]. 北京: 化学工业出版社, 2003: 94-102.
- [16] Mahmoud A A. Xanthanolides and xanthane epoxide derivatives from *Xanthium strumarium*[J]. Planta Medica, 1998, 64(8): 724-727.
- [17] 吕益涛, 侯海宫, 苏耀海, 等. 苍耳属植物的鉴别研究[J]. 中国中药杂志, 2001, 26(1): 17-20.
- [18] McMillan C, Chavez P I, Mabry T J. Sesquiterpene lactones of *Xanthium strumarium* in a texas population and in experimental

- hybrids [J]. *Biochemical Systematics and Ecology*, 1975, 3 (3): 137-141.
- [19] Roussakis C H, Chinou I, Vayas C, et al. Cytotoxic activity of xanthatin and the crude extracts of *Xanthium strumarium* [J]. *Planta Medica*, 1994, 60: 473-474.
- [20] Bohlmann F, Singh P, Joshi K C, et al. Xanthanolides from *Xanthium indicum* [J]. *Phytochemistry*, 1982, 21(6): 1441-1443.
- [21] Omar A A, Elrashidy E M, Ghazy N A, et al. Xanthanolides from *Xanthium spinosum* [J]. *Phytochemistry*, 1984, 23(4): 915-916.
- [22] Harada A, Sakata K, Ina H. Isolation and identification of xanthatin as an anti-attaching repellent against *Blue mussel* [J]. *Agricultural and Biological Chemistry*, 1985, 49(6): 1887-1888.
- [23] Ahmed A A, Jakupovic J, Bohlmann F, et al. Sesquiterpene lactones from *Xanthium pungens* [J]. *Phytochemistry*, 1990, 29(7): 2211-2215.
- [24] Abdei-Mogib M, Dawidar A M, Metwauy M A, et al. Xanthanolides from *Xanthium spinosum* [J]. *Phytochemistry*, 1991, 30(10): 3461-3462.
- [25] Cumanda J, Marinoni G, de Bernardi M. New sesquiterpenes from *Xanthium catharticum* [J]. *Journal of Natural Products*, 1991, 54(2): 460-465.
- [26] Saxena V K, Mondal S K. A xanthanolide from *Xanthium strumarium* [J]. *Phytochemistry*, 1994, 35(4): 1081-1082.
- [27] Kupchan S M, Eakin M A, Thomas A M. Tumor inhibitors. 69. structure-cytotoxicity relationships among the sesquiterpene lactones [J]. *Journal of Medicinal Chemistry*, 1971, 14(12): 1147-1152.
- [28] Woerdenbag H J, Merfort I, Paßreiter C M, et al. Cytotoxicity of flavonoids and sesquiterpene lactones from *Arnica* species against the GLC₄ and the COLO 320 cell lines [J]. *Planta Medica*, 1994, 60(5): 434-437.
- [29] Gören N, Woerdenbag H J, Bozok-Johansson C. Cytotoxic and antibacterial activities of sesquiterpene lactones isolated from *Tanacetum praeteritum* subsp. *praeteritum* [J]. *Planta Medica*, 1996, 62(5): 419-422.
- [30] Lavault M, Landreau A, Larcher G, et al. Antileishmanial and antifungal activities of xanthanolides isolated from *Xanthium macrocarpum* [J]. *Fitoterapia*, 2005, 76: 363-366.
- [31] Rodriguez E, Towers G H N, Mitchell J C. Biological activities of sesquiterpene lactones [J]. *Phytochemistry*, 1976, 15: 1573-1580.
- [32] Kawazu K, Nakajima S, Ariwa M. Xanthumin and 8-epi-xanthatin as insect development inhibitors from *Xanthium canadense* Mill. [J]. *Cell Molecular Life Science*, 1979, 35(10): 1294-1295.

(上接第60页 Continued from page 60)

- [9] Bell R L, Scorza R, Srinivasan C, et al. Transformation of 'Beurre Bosc' pear with the *rolC* gene [J]. *Journal of the American Society Horticultural Science*, 1999, 124(6): 570-574.
- [10] Lebedev V G, Dolgov S V. The effect of selective agents and a plant intron on transformation efficiency and expression of heterologous genes in pear *Pyrus communis* L. [J]. *Russian Journal of Genetics*, 2000, 36(6): 650-655.
- [11] 赵瑞华, 刘庆忠, 孙清荣, 等. 抗生素对梨离体叶片不定芽再生的影响 [J]. *山东农业大学学报: 自然科学版*, 2004, 35(2): 304-306.
- [12] 刘淑芳, 汤浩茹, 王梅, 等. 几种抗生素对梨叶片愈伤组织和不定梢诱导的影响 [J]. *果树学报*, 2005, 22(5): 454-457.
- [13] 刘淑芳, 汤浩茹, 贺永明. 抗生素对'考密斯'梨叶片不定梢诱导的影响 [J]. *北方园艺*, 2007(5): 32-34.
- [14] 周莉莉, 蔡斌华, 乔玉山, 等. 不同处理对丰水梨离体叶片不定芽再生的影响 [J]. *南京农业大学学报*, 2007, 30(2): 34-38.
- [15] Holford P, Newbury H J. The effects of antibiotics and their breakdown products on the *in vitro* growth of *Antirrhinum majus* [J]. *Plant Cell Reports*, 1992, 11: 93-96.
- [16] Patton D A, Meinke D W. High-frequency plant regeneration from cultured cotyledons of *Arabidopsis thaliana* [J]. *Plant Cell Reports*, 1988, 7: 233-237.
- [17] Tsang E W T, David H, David A, et al. Toxicity of antibiotics on zygotic embryos of white spruce (*Picea glauca*) cultured *in vitro* [J]. *Plant Cell Reports*, 1989, 8: 214-216.
- [18] Predieri S, Malavasi F F F, Passey A J, et al. Regeneration from *in vitro* leaves of 'Conference' and other pear cultivars (*Pyrus communis* L.) [J]. *The Journal of Horticultural Science and Biotechnology*, 1989, 64(5): 553-559.
- [19] Frederiksen C G. Transformation of pea and potato to obtain and analyse plants transgenic for the *rolB* gene from *Agrobacterium rhizogenes* [D]. Aarhus: Aarhus University, 1994.
- [20] Simmonds J A, Grainger J L. The toxicity of antibiotics to protoplast cultures of *Triticum aestivum* L. [J]. *Plant Science*, 1993, 89(2): 209-214.
- [21] Okkels F T, Pedersen M G. The toxicity to plant tissue and to *Agrobacterium tumefaciens* of some antibiotics [J]. *Acta Horticulturae*, 1988, 225: 199-208.
- [22] Yepes L M, Aldwinckle H S. Micropropagation of thirteen *Malus* cultivars and rootstocks, and effect of antibiotics on proliferation [J]. *Plant Growth Regulation*, 1994, 15(1): 55-67.