

雷公藤愈伤组织诱导及杀虫活性研究

李 琰^{a,b}, 冯俊涛^a, 王永宏^a, 郭小虎^b, 祁新帅^b, 张 兴^a

(西北农林科技大学 a 无公害农药研究服务中心, 陕西省生物农药工程技术研究中心;

b 生命科学学院, 陕西 杨凌 712100)

【摘要】【目的】建立雷公藤愈伤组织诱导培养体系,为雷公藤通过组织培养生产次生代谢产物奠定基础。**【方法】**以雷公藤枝条扦插苗的根、幼茎、叶为外植体,研究基本培养基、激素、外植体类型对愈伤组织诱导的影响,并检测了不同外植体愈伤组织乙酸乙酯提取物的杀虫活性。**【结果】**MS培养基有利于雷公藤愈伤组织的诱导;雷公藤的根、茎、叶3种外植体均可用来诱导愈伤组织;供试激素中,2,4-D的诱导效果较NAA好,KT的效果优于6-BA,低质量浓度的KT与2,4-D组合能促进愈伤组织的诱导和生长;根、茎、叶3种愈伤组织提取物对粘虫幼虫均有明显的拒食活性,对粘虫幼虫的生长发育有明显的抑制作用,48 h拒食中质量浓度(AFC₅₀)分别为27.8, 53.1和76.1 mg/mL。**【结论】**雷公藤愈伤组织诱导的最佳培养基及激素组合为:MS+1.0 mg/L 2,4-D+0.5~1.0 mg/L KT;根愈伤组织提取物对粘虫幼虫的拒食活性最强。

【关键词】雷公藤;组织培养;愈伤组织诱导;粘虫;拒食活性

【中图分类号】S482.1;Q943.1

【文献标识码】A

【文章编号】1671-9387(2008)05-0103-06

Study on callus induction and insecticidal activities
of *Tripterygium wilfordii* Hook. f.LI Yan^{a,b}, FENG Jun-tao^a, WANG Yong-hong^a, GUO Xiao-hu^b,
QI Xin-shuai^b, ZHANG Xing^a

(a. Research and Development Center of Biorational Pesticide, Shaanxi Research Center of Biopesticide Technology and Engineering;

b. College of Life Science, Northwest A & F University, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】The study established *Tripterygium wilfordii* callus induction training system and laid a foundation for the production of tissue culture secondary metabolites. 【Method】The root, stem and leaves of *T. wilfordii* branch cuttings as explants were used to study the effects of the basic media, hormones, explant type on their calluses induction and the insecticidal activity was detected through different explants callus ethyl acetate extract. 【Result】MS medium was suitable for the callus induction of *T. wilfordii*. The roots, stems and leaves explants of *T. wilfordii* could be used to induce callus. 2,4-D was better than NAA. KT was better than 6-BA. KT of low concentrations and 2,4-D combination could promote callus induction and growth. Antifeedant activity of different callus extracts on *Mythimna separata* larvae was evident. Effect of different callus extracts on the growth and development of *M. separate* larvae was inhibited significantly. 48 h AFC₅₀ were 27.8, 53.1, 76.1 mg/mL. 【Conclusion】MS+1.0 mg/L 2,4-D+0.5~1.0 mg/L KT was best for callus induction of *T. wilfordii*. Root callus extract showed the strongest antifeedant activity on *M. separata* larvae.

【收稿日期】2007-05-31

【基金项目】国家“十五”科技攻关项目(2004BA516A04)

【作者简介】李 琰(1971-),女,河南洛阳人,副教授,在读博士,主要从事植物学及药用植物学研究。E-mail:liyan@nwsuaf.edu.cn

【通讯作者】张 兴(1952-),男,陕西周至人,教授,博士生导师,主要从事农药学研究。

Key words: *Tripterygium wilfordii* Hook. f.; tissue culture; callus induction; *Mythimna separata* Walker; antifeedant activity

雷公藤(*Tripterygium wilfordii* Hook. f.)为卫矛科雷公藤属植物,又名黄藤根、菜虫药。我国很早以前就将雷公藤用于医学和防治各种害虫,民间多用于防治蔬菜害虫,故有“菜药”之称。其对多种害虫有效,且作用方式复杂,包括拒食、胃毒、触杀、抑制生长发育和忌避产卵等作用^[1],但对人畜、环境和害虫天敌安全^[2]。传统中医上用于治疗肿胀、水肿、黄白疽、痢疾等,具有明显的抗肿瘤、抗风湿作用^[3]。雷公藤根中的活性成分显著高于其他部位,是主要用药部位^[4],现已从中分离出 70 多种化合物,其中雷公藤生物碱类、雷公藤甲素是主要的杀虫活性成分^[5-6]。雷公藤属多年生木质藤本,生长缓慢,处于野生状态,因用根入药,故大量应用易使资源遭到破坏。因此,日本、加拿大等国从 20 世纪 70 年代开始,对采用植物组织与细胞培养工厂化生产雷公藤内酯醇的方法进行了研究^[7-9],而关于其组织培养物杀虫活性的研究目前尚未见报道。本研究对雷公藤愈伤组织诱导中的基本培养基、外植体和激素组合等进行了筛选,并对愈伤组织提取物进行了杀虫活性试验,以期为通过雷公藤组织培养方式生产生物农药奠定基础。

1 材料与方 法

1.1 材 料

试验用雷公藤植物采自福建省泰宁地区,取其 1 年生枝条扦插于苗床上,待新长出的幼茎高度达 5 cm 时取叶、幼茎,并于 1 个月后取新根作为外植体进行愈伤组织诱导。

粘虫(*Mythimna separata* Walker)由西北农林科技大学无公害农药研究服务中心养虫室提供,试验时挑取生长发育状态一致的健康 3 龄初期幼虫供试。

1.2 雷公藤愈伤组织的诱导与培养

剪取新生叶、幼茎及根迅速带回实验室,用体积分数 1% 洗洁精洗涤并用自来水反复清洗后,流水冲洗 2 h,然后用体积分数 75% 酒精消毒 20 s,无菌水冲洗 3~4 次,1 g/L HgCl₂ 消毒 4 min,无菌水冲洗 4 次,幼叶切成 0.5 cm×0.5 cm 左右小块,幼茎及根切成 0.5 cm 小段用于接种。除不同外植体对愈伤组织的诱导试验中用幼叶、幼茎及根外,其余试验外植体均用幼叶。

1.2.1 不同激素及其组合对愈伤组织诱导的影响

以 MS 为基本培养基,添加不同质量浓度 2,4-D、NAA,并与 6-BA、KT 组合,用于不同激素处理对愈伤组织诱导的影响试验。

1.2.2 不同基本培养基对愈伤组织诱导的影响 分别以 MS、B₅、6,7-V、H、1/2MS(大量元素减半)和 White 为基本培养基,添加 1.0 mg/L 2,4-D 和 0.5 mg/L KT,用于不同基本培养基对愈伤组织诱导的影响试验。

1.2.3 不同外植体对愈伤组织诱导的影响 以 MS 为基本培养基,添加 1.0 mg/L 2,4-D 和 0.5 mg/L KT,用于不同外植体愈伤组织诱导的影响试验。将得到的愈伤组织在相同培养基上 30 d 继代 1 次,将连续继代 5 次以上获得的愈伤组织用于生物活性检测。

以上培养基均加入蔗糖 30 g/L,用琼脂 7 g/L 固化,pH 调至 5.8。每个处理接种 20 瓶,每瓶接种 2~3 个外植体。在温度(25±2)℃、光照 12 h/d、光照强度 1 000~1 500 lx 的培养室培养 30 d 后,调查出愈率。

1.3 雷公藤愈伤组织提取物的生物活性

将连续继代培养 5 代的雷公藤愈伤组织冷冻干燥后按 $m(\text{愈伤组织}):V(\text{乙酸乙酯})=1\text{ g}:8\text{ mL}$ 的比例,在细胞破碎仪上提取 2 次,每次 20 min,过滤后合并滤液,挥干乙酸乙酯,提取物用丙酮稀释成 0.01, 0.02, 0.05, 0.1, 0.2 和 1 g/mL 的溶液,采用叶碟法^[10]测定其拒食活性(以拒食中质量浓度(AFC₅₀)表示)。采用 Visual Basic 6.0 程序求出拒食毒力曲线^[11]。

用 50 mg/mL 雷公藤愈伤组织丙酮溶液处理的玉米叶片,饲喂饥饿 4 h 的 3 龄粘虫,以丙酮处理为对照,连续饲喂 96 h,重复 3 次,每重复 10 头试虫。分别于处理后 24, 48, 72 和 96 h 称幼虫体重,按下式计算相对生长率^[12]:

$$\text{相对生长率}/(\text{mg} \cdot \text{mg}^{-1} \cdot \text{d}^{-1}) = \text{体重增加量}/(\text{平均体重} \times \text{取食时间})。$$

2 结果与分析

2.1 植物生长调节剂对雷公藤愈伤组织诱导的影响

2.1.1 2,4-D 及其与 6-BA 和 KT 配合使用 由表 1 可以看出,不同质量浓度 2,4-D 对雷公藤愈伤组织诱导率的影响差异不大,均在 40% 左右,但愈伤

组织的生长情况有明显差异,1.0~2.0 mg/L 2,4-D 对雷公藤叶片的诱导率较高,且愈伤组织生长较好,富有光泽,质地疏松,继代后生长旺盛;而未添加2,4-D的培养基上没有形成愈伤组织,外植体逐渐变黄、枯死。

进一步以1.0 mg/L 2,4-D与不同质量浓度的细胞分裂素6-BA和KT配合使用诱导愈伤组织时,KT的效果明显优于6-BA,且优于2,4-D单独

使用的效果,尤其是1.0 mg/L 2,4-D+0.5~1.0 mg/L KT的组合,愈伤组织诱导率均在90%以上,出愈时间也较单独使用2,4-D早4~5 d,诱导出的愈伤组织生长迅速,质地疏松,且在相同培养基上继代后恢复生长时间较单独使用2,4-D短。1.0 mg/L 2,4-D与6-BA组合使用时,愈伤组织诱导率较单独使用2,4-D效果略好,但诱导的愈伤组织致密、无光泽,继代后生长迟缓。

表1 不同质量浓度2,4-D对雷公藤愈伤组织诱导和生长的影响

Table 1 Effects of different concentrations of 2,4-D on the induction and growth of *T. wilfordii* Hook. f. callus

激素质量浓度/(mg·L ⁻¹) Hormone concentration			接种外植体数 No. of explant inoculation	诱导愈伤组织数 No. of callus induction	诱导率/% Percentage of callus induction	生长情况 Growth status of the callus
2,4-D	6-BA	KT				
0.0	0.0	0.0	40	0	0.00	—
0.5	0.0	0.0	40	15	37.50	++
1.0	0.0	0.0	38	18	47.37	++++
2.0	0.0	0.0	35	16	45.71	++++
4.0	0.0	0.0	39	16	41.03	+++
1.0	0.5	0.0	39	21	53.85	+++
1.0	1.0	0.0	40	23	57.50	+++
1.0	2.0	0.0	40	21	52.50	++
1.0	0.0	0.5	38	35	92.11	+++++
1.0	0.0	1.0	40	37	92.50	+++++
1.0	0.0	2.0	40	27	67.50	++++

注:—,有抑制作用;+,生长差;++,生长一般;+++ ,生长好;++++,生长较好;+++++,生长最好。下表同。

Note:—, Contained growth; +, Worse growth; ++, Refer generally growth; + + +, Good growth; + + + +, Better growth; + + + + +, The best growth. The same as below.

2.1.2 NAA 及其与6-BA和KT配合使用 由表2可以看出,不同质量浓度NAA对雷公藤愈伤组织的诱导率均较低,且诱导出的愈伤组织呈白色,致密,无光泽,并逐渐变成褐色,与外植体一起枯死,无法用于继代培养。在含2.0 mg/L NAA的培养基中加入0.5和1.0 mg/L的6-BA和KT后,对雷公

藤愈伤组织的诱导率较单独使用NAA高,KT的效果优于6-BA,但加入2.0 mg/L 6-BA或KT后,反而对愈伤组织形成起抑制作用。加入KT后的愈伤组织生长量大于6-BA,形成的愈伤组织质地疏松,适合进一步继代培养。

表2 不同质量浓度NAA对雷公藤愈伤组织诱导和生长的影响

Table 2 Effects of different concentrations of NAA on the induction and growth of *T. wilfordii* Hook. f. callus

激素质量浓度/(mg·L ⁻¹) Hormone concentration			接种外植体数 No. of explant inoculation	诱导愈伤组织数 No. of callu induction	诱导率/% Percentage of callus induction	生长情况 Growth status of the callus
NAA	6-BA	KT				
0.0	0.0	0.0	40	0	0.00	—
0.5	0.0	0.0	39	3	7.69	+
1.0	0.0	0.0	39	12	30.77	++
2.0	0.0	0.0	38	10	36.32	++
4.0	0.0	0.0	37	6	16.22	+
2.0	0.5	0.0	40	15	37.50	++
2.0	1.0	0.0	34	13	38.24	++
2.0	2.0	0.0	36	10	27.78	+
2.0	0.0	0.5	39	17	43.59	+++
2.0	0.0	1.0	40	17	42.50	+++
2.0	0.0	2.0	40	14	35.00	++

2.2 不同培养基对雷公藤愈伤组织诱导的影响

由表3可以看出,不同培养基对雷公藤愈伤组织的诱导作用差异明显,以高盐的MS诱导率最高,其次为高硝酸钾的B₅,诱导出的愈伤组织均生长较

好,呈黄绿色,富有光泽,质地疏松,继代后很快恢复生长且生长较好。中等无机盐的6,7-V、H、1/2MS培养基诱导出的愈伤组织呈白色,致密,无光泽,继代后恢复生长较慢。低盐的White培养基上外植体

始终保持绿色,直至培养 60 d 时也无愈伤组织形成。

表 3 不同培养基对雷公藤愈伤组织诱导和生长的影响

Table 3 Effects of different media on the induction and growth of *T. wilfordii* Hook. f. callus

基本培养基 Basic medium	接种外植体数 No. of explant inoculation	诱导愈伤组织数 No. of callus induction	诱导率/% Percentage of callus induction	生长状况 Growth status of the callus
MS	37	34	91.89	+++++
B5	38	30	78.95	+++++
H	40	11	27.50	++
1/2 MS	39	8	20.51	++
6,7-V	40	22	55.00	+
White	36	0	0.00	-

2.3 不同外植体对雷公藤愈伤组织诱导的影响

由表 4 可见,雷公藤不同外植体愈伤组织的诱导率和出愈时间明显不同。茎(图 1)、叶(图 2)的愈伤组织诱导率均达 90%以上,诱导出的愈伤组织质地疏松,继代后很快恢复生长。而根(图 3)的愈伤组织诱导率不到 50%,但出愈时间较短,第 7 天就

开始出现愈伤组织,而且生长迅速,第 10 天时已覆盖整个外植体,及时继代后愈伤组织生长迅速,如不及时继代,第 15 天愈伤组织就开始褐变。根中未形成愈伤组织的外植体第 10 天已经开始枯死,这主要是直径小于 0.5 mm 的细根,可见根的直径大小对愈伤组织的诱导至关重要。

表 4 不同外植体对雷公藤愈伤组织诱导和生长的影响

Table 4 Effects of different explants on the induction and growth of *T. wilfordii* Hook. f. callus

外植体 Explant	接种外植体数 No. of inoculation	出愈时间/d Beginning day of the callus	愈伤组织颜色 Color of the callus	诱导愈伤组织数 No. of callus induction	诱导率/% Percentage of callus induction	生长状况 Growth status of the callus
叶 Leaf	37	15	黄绿色,有光泽 Kelly,glossy	34	91.89	+++++
幼茎 Shoot	39	10	奶油色,有光泽 Creamy,glossy	39	100.00	+++++
根 Root	40	7	灰白色,有光泽 Offwhite,glossy	17	42.50	+++++

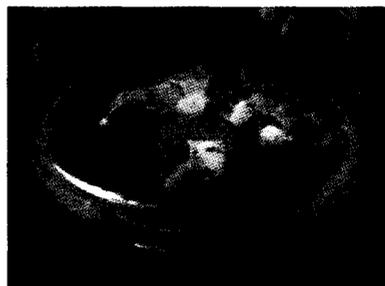
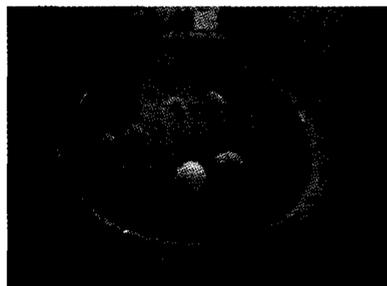


图 1 雷公藤幼茎诱导的愈伤组织

图 2 雷公藤叶诱导的愈伤组织

图 3 雷公藤根诱导的愈伤组织

Fig. 1 Shoot callus of *T. wilfordii* Hood. f.

Fig. 2 Leaf callus of *T. wilfordii* Hood. f.

Fig. 3 Root callus of *T. wilfordii* Hood. f.

2.4 雷公藤不同愈伤组织提取物对粘虫幼虫的拒食活性

由表 5 可知,3 种愈伤组织提取物对 3 龄粘虫都具有明显的拒食活性,其中根愈伤组织提取物对

3 龄粘虫的拒食活性最强,AFC₅₀为 27.8 mg/mL;而叶愈伤组织提取物对 3 龄粘虫的 AFC₅₀为 76.1 mg/mL,仅为根愈伤组织活性的 1/3 左右。

表 5 雷公藤不同愈伤组织提取物对粘虫幼虫的拒食活性(48 h)

Table 5 Antifeedant activity of *T. wilfordii* Hood. f. different callus extracts on *M. separata* larvae treated for 48 h

愈伤组织种类 Test callus	拒食毒力回归方程 LC-P	AFC ₅₀ /(mg · mL ⁻¹)	95%置信限 95% CL	r
根 Root	y=7.42+1.55x	27.8	18~41	0.997 6
幼茎 Shoot	y=6.71+1.32x	53.1	33~77	0.994 1
叶 Leaf	y=6.23+1.13x	76.1	45~129	0.991 4

2.5 雷公藤不同愈伤组织提取物对粘虫生长发育的影响

以 3 种来源的愈伤组织提取物处理的玉米叶片

饲喂 3 龄粘虫后,对其生长均有明显的抑制作用(表 6),各处理组幼虫的体重、体重增加量和相对增长率均明显低于对照。根、幼茎、叶 3 种愈伤组织提取物

处理 48 h 的粘虫体重分别较对照下降 40.42%, 72 h 的粘虫体重增加量、相对生长率分别比对照下降 32.11% 和 24.36%, 其中根愈伤组织提取物处理 48 h 的粘虫体重增加量、相对生长率分别比对照下降 79.55% 和 65.75%。

表 6 雷公藤不同愈伤组织提取物对粘虫幼虫生长的影响

Table 6 Effect of *T. wilfordii* Hood. f. different callus extracts on the growth of *M. separate* larvae

处理后时间/h Time after treatment	供试愈伤组织 Test callus	幼虫体重/mg Larval weight	体重增加量/mg Weight gain	相对生长率/(mg·mg ⁻¹ ·d ⁻¹) Relative growth rate
0	CK	5.21±0.01 a		
	根 Root	5.21±0.02 a		
	茎 Shoot	5.23±0.02 a		
	叶 Leaf	5.22±0.02 a		
24	CK	7.19±0.21 a	1.98±0.207 a	0.273±0.031 a
	根 Root	5.34±0.13 c	0.13±0.135 c	0.024±0.025 c
	茎 Shoot	6.36±0.14 b	1.15±0.137 b	0.181±0.022 b
	叶 Leaf	6.92±0.26 a	1.71±0.259 a	0.247±0.038 ab
48	CK	10.59±0.16 a	5.38±0.165 a	0.254±0.008 a
	根 Root	6.31±0.12 d	1.10±0.115 d	0.087±0.009 d
	茎 Shoot	7.19±0.17 c	1.98±0.171 c	0.138±0.012 c
	叶 Leaf	8.01±0.21 b	2.80±0.211 b	0.175±0.013 b
72	CK	13.65±0.28 a	8.44±0.282 a	0.206±0.007 a
	根 Root	7.02±0.23 d	1.81±0.226 d	0.086±0.011 c
	茎 Shoot	9.28±0.18 c	4.07±0.175 c	0.146±0.006 b
	叶 Leaf	10.27±0.17 b	5.06±0.166 b	0.164±0.005 b
96	CK	16.62±0.55 a	11.41±0.552 a	0.172±0.008 a
	根 Root	8.29±0.18 d	3.08±0.182 d	0.093±0.005 c
	茎 Shoot	11.00±0.35 c	5.79±0.347 c	0.132±0.008 b
	叶 Leaf	12.50±0.12 b	7.29±0.121 b	0.146±0.002 b

注:在相同处理时间内的同列数据后标不同字母者,表示经 Duncan 氏新复极差测验在 $P_{0.05}$ 水平上差异显著。

Note: Data in a column and the same treatment time followed by different letters show significant difference at $P_{0.05}$ by duncan's multiple range test.

3 讨 论

在愈伤组织诱导中,加入适当质量浓度植物生长调节剂是必需的。一般来说,高生长素和低细胞分裂素有利于愈伤组织的诱导及生长^[13]。但不同植物所需的生长素和细胞分裂素的种类之间存在较大差别。本试验中单独使用生长素时,2,4-D 的效果明显优于 NAA,加入适当质量浓度的细胞分裂素后愈伤组织的诱导率和生长情况均较单独使用生长素要好,并且 KT 的效果明显优于 6-BA。在杜仲愈伤组织诱导中发现,KT 对愈伤组织形成有明显的抑制作用^[14-15],可见不同植物愈伤组织形成所需激素的种类不同,这可能与外植体自身的内源激素有关。

雷公藤作为一种重要的植物源农药,人们已对其进行了广泛的研究和应用。其活性成分主要存在于根部,特别是在根皮中含量最高,而叶片、茎等其他器官中含量较低^[4,16-17]。本研究以根、茎、叶为外植体诱导愈伤组织,不同来源愈伤组织的杀虫活性表现为根愈伤组织>茎愈伤组织>叶愈伤组织,即根愈伤组织提取物活性最高。说明植物愈伤组织中次生代谢产物含量与外植体来源有明显的相关

性^[18-19]。所以,在以次生代谢产物为目的的愈伤组织培养中,要特别注意外植体的类型选择。

本研究中,不同愈伤组织提取物对 3 龄粘虫的拒食活性和生长抑制作用均较明显,但触杀活性并不明显,这与徐红星等^[20]报道的雷公藤根皮粉提取物对小菜蛾的生物活性,以及罗都强等^[5]报道的雷公藤总生物碱对菜青虫有较好的拒食活性而无触杀作用的研究结果相一致。3 种愈伤组织提取物中,二萜内酯和总生物碱的定性鉴定结果均为较强的阳性反应,并经高效液相色谱检测,3 种愈伤组织中均含有比根皮粉含量高的二萜内酯(另文发表),但触杀活性并不明显,这与罗都强等^[6]报道的二萜内酯类有较好的触杀和拒食活性相矛盾,这也许是因为含量较低所致,还有待于将愈伤组织中二萜内酯分离纯化后作进一步研究。

【参考文献】

- [1] Swinge, Hallel H T, Siegler E H, et al. Chinese insecticidal plant *Tripterygium wilfordii* introduced into the United State [J]. Science, 1941, 93(2403): 60.
- [2] 周琳, 马志卿, 冯俊涛, 等. 雷公藤生物碱制品对小菜蛾和菜青虫的控制效果[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2006, 34(12): 169-173.
Zhou L, Ma Z Q, Feng J T, et al. Control efficacy of alkaloid

- products from *Tripterygium wilfordii* Hook against *Plutella xylostella*(L.) and pieris rape [J]. Jour of Northwest Sci-Tech Univ of Agri and For; Nat Sci Ed, 2006, 34(12): 169-173. (in Chinese)
- [3] 夏 焱,段宏泉,张铁军,等. 雷公藤属药用植物的研究进展[J]. 中草药, 2005, 36(7): 1093-1096.
Xia Y, Duan H Q, Zhang T J, et al. Advances in studies on medicinal plants of *Tripterygium* Hook. f. [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2005, 36(7): 1093-1096. (in Chinese)
- [4] 陈同素. 国产杀虫药剂雷公藤调查报告[J]. 中华农学会报, 1933, 125: 79-82.
Chen T S. Domestic insecticide *Tripterygium wilfordii* investigation report [J]. Agricultural Association of China Reported, 1933, 125: 79-82. (in Chinese)
- [5] 罗都强,冯俊涛,胡 瓚,等. 雷公藤总生物碱分离及杀虫活性研究[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2001, 29(2): 61-64.
Luo D Q, Feng J T, Hu Z, et al. Isolation and bioactivities of the alkaloids from *Tripterygium wilfordii* against *Pieris rapae* L. [J]. Jour of Northwest Sci-Tech Univ of Agri and For; Nat Sci Ed, 2001, 29(2): 61-64. (in Chinese)
- [6] 罗都强,秦建春,张 兴. 雷公藤甲素对粘虫中肠消化酶及其组织结构的影响[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2001, 29(6): 57-60.
Luo D Q, Qin J C, Zhang X. Effects of triptolide on the midgut tissue and the digestive enzyme activities of *Mythimna separata* (Walker) larvae [J]. Jour of Northwest Sci-Tech Univ of Agri and For; Nat Sci Ed, 2001, 29(6): 57-60. (in Chinese)
- [7] Kutney J P, Hewitt G M, Lee G, et al. Studies with tissue cultures of the Chinese herbal plant, *Tripterygium wilfordii* isolation of metabolites of interest in rheumatoid arthritis, immunosuppression, and male contraceptive activity [J]. Can J Chem, 1992, 70: 1455-1480.
- [8] Kutney J P, Hewitt G M, Kurihara T, et al. Cytotoxic diterpenes triptolide, triptidiolide and cytotoxic triterpenes from tissue culture of *Tripterygium wilfordii* [J]. Can J Chem, 1981, 59(17): 2677-2683.
- [9] Nakano K, Yoshida C, Furukawa W, et al. Terpenoids in transformed root culture of *Tripterygium wilfordii* [J]. Phytochemistry, 1998, 49(6): 1821-1824.
- [10] 张 兴,赵善欢. 楝科植物对几种害虫的拒食和忌避作用[J]. 华南农学院学报, 1983, 4(3): 1-7.
Zhang X, Zhao S H. The antifeeding and repellent effects of Meliaceae plants to some insect pests [J]. Journal of South China Agricultural College, 1983, 4(3): 1-7. (in Chinese)
- [11] 冯 岗,李广泽,冯俊涛,等. Visual Basic 6. 0 在农药毒力测定数据处理中的应用[J]. 西北农业学报, 2005, 14(2): 115-117.
Feng G, Li G Z, Feng J T, et al. Application of Visual Basic 6. 0 in calculating of toxicity assay [J]. Date Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sicaica, 2005, 14(2): 115-117. (in Chinese)
- [12] 陈志辉. 昆虫营养指标的定量测量与计算[J]. 昆虫知识, 1987, 24(5): 299-301.
- Chen Z H. Quantitative measurement and calculation of nutrient index in insects [J]. Entomological Knowledge, 1987, 24(5): 299-301. (in Chinese)
- [13] 李代丽,康向阳. 植物愈伤组织培养中内外源激素效应的研究现状与展望[J]. 生物技术通讯, 2007, 18(3): 546-548.
Li D L, Kang X Y. The status and prospect of exogenous hormone and endogenous hormone impact in plant callus tissue culture [J]. Letters in Biotechnology, 2007, 18(3): 546-548. (in Chinese)
- [14] 李 琰,张朝红,崔宏安. 激素对杜仲幼茎愈伤组织诱导及生长的影响[J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2004, 32(1): 57-60.
Li Y, Zhang Z H, Cui H A. Effect of phytohormones on shoot callus induction and growth of *Eucommia ulmoides* Oliv. [J]. Jour of Northwest Sci-Tech Univ of Agri and For; Nat Sci Ed, 2004, 32(1): 57-60. (in Chinese)
- [15] 唐建军,陈 欣,志水胜好. 培养条件对杜仲愈伤组织形成及次生代谢过程的影响[J]. 浙江大学学报: 工学版, 2002, 35(2): 193-198.
Tang J J, Chen X, Katuyoshishimizu. The influences of culture conditions on the callus induction, tissue culture and regulation of secondary metabolism of *Eucommia ulmoides* Oliv. [J]. Journal of Zhejiang University: Engineering Science, 2002, 35(2): 193-198. (in Chinese)
- [16] 杨春欣,周庭川. 雷公藤内酸醇不同季节的含量变化[J]. 中国医院药学杂志, 2001, 21(1): 25-26.
Yang C X, Zhou T C. The content variation of triptolide in *Tripterygium wilfordii* in the different seasons [J]. Chinese Journal of Hospital Pharmacy, 2001, 21(1): 25-26. (in Chinese)
- [17] 戴克敏,王 艳. 不同地区药用部位雷公藤和昆明山海棠的总生物碱含量测定[J]. 中成药, 1994, 16(11): 41-42.
Dai K M, Wang Y. Determination of total alkaloids in different areas and different application parts of *Tripterygium wilfordii* and *T. hypoglauca* [J]. Chinese Traditional Patent Medicine, 1994, 16(11): 41-42. (in Chinese)
- [18] 李 琰,董娟娥,姜在民,等. 杜仲愈伤组织中次生代谢产物积累动态研究[J]. 西北植物学报, 2004, 24(11): 2033-2037.
Li Y, Dong J E, Jiang Z M, et al. Study on dynamic accumulation of secondary metabolites in callus of *Eucommia ulmoides* [J]. Acta Botanica Boreali-occidentalia Sinica, 2004, 24(11): 2033-2037. (in Chinese)
- [19] Knobloch K H. Medium and light-induced formation of serpentine and anthocyanins cell suspension culture of *Catharanthus* [J]. Phytochen, 1982, 21(3): 591-594.
- [20] 徐红星,俞晓平,陈建明,等. 雷公藤提取物对小菜蛾的生物活性[J]. 浙江农业学报, 2003, 15(2): 83-86.
Xu H X, Yu X P, Chen J M, et al. Effect of the crude extract from *Tripterygium wilfordii* on bioactivities of diamond back moth, *Plutella xylostella* L. [J]. Acta Agriculturae Zhejiangensis, 2003, 15(2): 83-86. (in Chinese)