

苦皮藤素 V 在植物体内穿透与输导的初步研究

刘 伟^{1,2}, 魏少鹏¹, 姬志勤¹, 吴文君¹

(1 西北农林科技大学 农药研究所, 陕西 杨凌 712100; 2 陕西省农药检定所, 陕西 西安 710003)

[摘要] 【目的】了解植物源杀虫活性物质苦皮藤素 V 在植物体内的穿透与输导作用。【方法】以蚕豆苗、小麦苗为供试植物材料, 用苦皮藤素 V 处理植物根系及叶片, 定期取样, 采用高效液相色谱(HPLC)检测植物中的苦皮藤素 V 含量。【结果】苦皮藤素 V 可以穿透蚕豆苗根系进入植物体内, 处理 12 h 后蚕豆苗根系中苦皮藤素 V 含量为 0.20 $\mu\text{g/g}$, 48 h 后达到 1.72 $\mu\text{g/g}$; 苦皮藤素也可以穿透叶片进入植物体内, 处理 12 h 后, 蚕豆上层叶片苦皮藤素含量为 0.34 $\mu\text{g/g}$, 48 h 后达到 0.77 $\mu\text{g/g}$ 。水体中的苦皮藤素 V 可以穿透小麦苗根系进入植物体内, 处理 8 h 后, 植物中苦皮藤素 V 含量为 0.29 $\mu\text{g/g}$, 36 h 后达到 2.94 $\mu\text{g/g}$, 但由于土壤对苦皮藤素 V 的吸附作用, 小麦根系难以吸收到施于土壤的苦皮藤素 V。【结论】苦皮藤素 V 可以穿透植物根系或叶片在植物体内输导。

[关键词] 苦皮藤素 V; 穿透与输导; 高效液相色谱

[中图分类号] S481⁺.2

[文献标识码] A

[文章编号] 1671-9387(2010)05-0101-05

Primary studies on the penetration and translocation of celangulin V in the plants

LIU Wei^{1,2}, WEI Shao-peng¹, JI Zhi-qin¹, WU Wen-jun¹

(1 Institute of Pesticide Science, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi 712100, China;

2 Institute for the Control of Agrochemicals, Xi'an, Shaanxi 710003, China)

Abstract: 【Objective】The objective of this research was to comprehend the penetration and translocation of botanical insecticide celangulin V in the plants. 【Method】The samples of broadbean or wheat seedling that treated by root system or leaf spraying were collected at regular intervals, and the content of celangulin V in samples was analyzed by high performance liquid chromatography. 【Result】The results showed that celangulin V could be penetrated and translocated in the broadbean seedlings from the roots or leaves. The content of celangulin V in the samples was 0.20 $\mu\text{g/g}$ 12 h after treatment, 1.72 $\mu\text{g/g}$ 48 h after treatment by root absorption, and 0.34 $\mu\text{g/g}$ 12 h after treatment, 0.77 $\mu\text{g/g}$ 48 h after treatment by leaf absorption. The results also showed that celangulin V in water could be penetrated and translocated in the wheat seedlings from the roots. The content of celangulin V in the samples was 0.29 $\mu\text{g/g}$ 8 h after treatment, 2.94 $\mu\text{g/g}$ 36 h after treatment. No celangulin V was detected in the wheat seedling which was grown in soil treated with celangulin V. 【Conclusion】Celangulin V could be penetrated and translocated in the plant from roots or leaves.

Key words: celangulin V; penetration and translocation; HPLC

研究农药在植物体内的穿透与输导作用对于农药的使用技术具有重要意义。以杀虫剂为例, 如果

* [收稿日期] 2009-11-06

[基金项目] 国家重点基础研究发展规划(“973”计划)项目(2010CB126105)

[作者简介] 刘 伟(1977—), 男, 河南淮滨人, 博士, 主要从事农药质量分析、农药残留检测研究。

E-mail: liuwei87310136@126.com

[通信作者] 吴文君(1945—), 男, 四川洪雅人, 教授, 主要从事农药化学和农药毒理学研究。E-mail: wuwenjun@nwsuaf.edu.cn

药剂可以穿透根系表皮进入植物体内输导,则可考虑将药剂做土壤处理(撒施粒剂或灌根),有利于防治一些刺吸式口器或钻蛀性害虫;如果药剂可以穿透叶片表皮进入植物体内输导,则可增加药剂耐雨水冲刷能力,减少药剂光分解,有利于药效发挥;如果药剂容易进入植物体内并输导,则农产品中的农药残留量相对于非内吸药剂而言可能较高,残留毒性的风险则会加大^[1-4]。

苦皮藤素 V 是杀虫植物苦皮藤(*Celastrus angulatus*)的主要杀虫活性成分之一^[5-7],以其根皮提取物加工的苦皮藤素乳油和微乳剂主要用于叶面喷雾防治十字花科蔬菜上的食叶害虫^[8-11]。但有关苦皮藤素 V 能否穿透叶面或根系表皮进入植物体内输导,以及是否可做土壤施药的研究尚未见报道。为此,本研究以蚕豆苗、小麦苗为供试植物材料,研究了苦皮藤素 V 在蚕豆苗(双子叶植物)和小麦苗(单子叶植物)体内的穿透与输导作用,以期进一步了解苦皮藤素 V 的物质属性,为苦皮藤制剂的田间应用提供参考。

1 材料和方法

1.1 材料

1.1.1 药剂 苦皮藤素 V 原药,纯度 $\geq 98\%$,由西北农林科技大学农药研究所提供。配制成质量浓度为 1 000 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 的微乳剂供试。

1.1.2 试剂 甲醇:分析纯,西安化学试剂厂生产;色谱纯,美国 Tedia 公司产品。乙腈:色谱纯,美国 Tedia 公司产品。固相萃取柱: C_{18} 填料,500 mg/6 mL,美国 Thermo 公司产品。

1.1.3 仪器 高效液相色谱仪:LC-6AD 型,具二极管阵列检测器,日本岛津公司。匀浆机:GF 型,江苏省海门市麒麟医用仪器厂产品。

1.1.4 供试植物 小麦苗:品种为陕优 225,播种于口径 12 cm 的瓦盆,每盆 15~20 株,3 叶期供试。蚕豆苗:品种为青海 3 号,播种于口径 12 cm 的瓦盆,每盆 5 株,3 层叶片时供试。

1.1.5 供试昆虫 东方粘虫(*Mythimna separata*) 3 龄幼虫,由西北农林科技大学农药研究所养虫室提供。

1.2 方法

1.2.1 内吸处理 (1) 对蚕豆苗根系的穿透与输导。用水将苦皮藤素 V 微乳剂稀释 100 倍(质量浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$),分装于 500 mL 广口瓶,每瓶 150 mL。将蚕豆苗连根挖出,用自来水冲净根部泥土后

插入瓶中,每瓶 5 株,共处理 27 瓶。同时设置 6 瓶以自来水代替药液的空白对照。温室中(温度 18~26 $^{\circ}\text{C}$)自然光照培养。分别于处理后 1,2,4,8,12,20,28,36 及 48 h 采样。每时间段采样 3 瓶(即 3 次重复):将瓶口上方植株剪下,称质量后用样品袋密封,-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。

(2) 对蚕豆苗叶片的穿透与输导。将蚕豆苗顶端的第 3 层展开叶片及心叶用小塑料袋套住,暴露第 1 和第 2 层叶片,共套袋 120 株。将苦皮藤素 V 微乳剂用水稀释 5 倍(质量浓度为 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$)后,以手持喷雾器对蚕豆苗喷雾处理。待叶片上喷雾液水分蒸发后小心去掉塑料袋,在温室中(温度 18~26 $^{\circ}\text{C}$)自然光照培养。分别于处理后 12,24 及 48 h 采样:将每株处理蚕豆套袋的第 3 层叶片及心叶剪下。每次采样 40 株,分成 3 份(即 3 个重复),称质量后用样品袋密封,-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。

(3) 对小麦根系的穿透与输导。水体处理:将苦皮藤素微乳剂用水稀释 100 倍(质量浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$),分装于 250 mL 三角瓶,每瓶 100 mL。将小麦苗挖出,用水冲净根部泥土后插入三角瓶,每瓶 40 株左右,共处理 21 瓶。同时设置 3 瓶清水对照。温室中(温度 18~26 $^{\circ}\text{C}$)自然光照培养。分别于处理后 4,8,12,24,36 及 48 h 采样。每次取 3 瓶(即 3 次重复):将瓶中小麦苗根部上方 3 cm 处剪下,称质量后用样品袋密封,-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。

土壤处理:在口径 12 cm 瓦盆中播种小麦,每盆 15~20 株,待生长至 3 叶期供试。将苦皮藤素 V 微乳剂用水稀释至 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$,每盆浇入 50 mL。温室中(温度 18~26 $^{\circ}\text{C}$)自然光照培养。分别于处理后 12,24,48,72 及 96 h 取样,每次取 6 盆(每 2 盆为 1 个重复,共设 3 个重复):将小麦苗从土表上方 2 cm 处剪下,称质量后用样品袋密封,-20 $^{\circ}\text{C}$ 冰箱中保存。

1.2.2 苦皮藤素 V 的分析方法 (1) 提取。将植物样品(10~25 g)剪碎后置于 100 mL 离心管中,加入 5 g NaCl,25 mL 乙腈,用捣碎机捣碎 2 min (6 000 r/min),离心 10 min (3 000 r/min),取上清液备用^[12-13]。

(2) 净化。取 5 mL 上清液浓缩至近干,加入 2 mL 甲醇溶解,加 2 mL 水稀释后过 C_{18} 固相萃取柱,弃去通过液。先以 2 mL 体积分数 50% 甲醇水洗脱,弃去洗脱液,再以 3 mL 体积分数 80% 甲醇水洗脱,收集洗脱液待测。

(3) 检测。色谱条件如下:色谱柱 Hypersil

BDS-C₁₈(4.6 mm×250 mm×5 μm);流动相 V(甲醇):V(水)=78:22;流速 1.0 mL/min;检测波长 230 nm;进样量 20 μL。

1.2.3 杀虫活性的测定 将质量浓度为 10 μg/mL 的苦皮藤素 V 微乳剂稀释后分装于 250 mL 三角瓶,每瓶 100 mL。将 3 叶期小麦苗挖出,用水冲净根部泥土后插入三角瓶,每瓶 40 株左右,每处理 3 瓶。同时放置 3 瓶清水对照。温室中(温度 18~26 ℃)自然光照培养 48 h。在直径 5.5 cm 的培养皿中接入 10 头 3 龄东方粘虫幼虫,放入处理或对照小麦叶片,让其无限取食 24 h 后,检查试虫死亡或击倒数^[14]。对照和处理均重复 6 次。

2 结果与分析

2.1 苦皮藤素 V 分析方法的建立

2.1.1 标准工作曲线^[15] 准确称取一定量的苦皮藤素 V,用甲醇配制成一系列不同质量浓度的标准溶液,按 1.2.2(3)的色谱条件进行检测。结果表明,苦皮藤素 V 标准溶液的质量浓度与峰面积呈良好的线性相关,所得方程为 $Y=45\ 495X+2\ 261.2$, $R^2=0.999\ 4$ (图 1)。

2.1.2 方法的准确度、精密度和灵敏度 在蚕豆植株样品中添加水平为 2.0 和 1.0 mg/kg 时,苦皮藤

素 V 的回收率分别为 90.00%~93.95% 及 76.50%~80.00%,相对标准偏差(RSD, $n=5$)分别为 1.79%和 1.68%;在小麦植株样品中添加水平分别为 2.0,1.0 和 0.5 mg/kg 时,苦皮藤素 V 的回收率分别为 99.00%~101.81%,96.66%~100.40% 和 98.33%~103.20%,相对标准偏差(RSD, $n=5$)分别为 1.07%,1.58%和 1.99%(表 1)。以添加回收中峰面积信噪比 ≥ 3 为检测限,则苦皮藤素 V 的检测限均为 0.10 μg/g。这些结果表明,所建立的 HPLC 方法可以满足蚕豆和小麦植株样品中苦皮藤素 V 含量分析的要求。

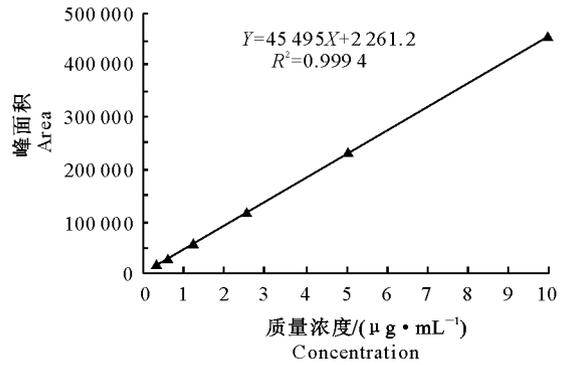


图 1 苦皮藤素 V 的标准工作曲线
Fig. 1 Standard curve of celangulin V

表 1 苦皮藤素 V 在蚕豆、小麦植株样品中的添加回收率

Table 1 Recoveries of celangulin V in broadbean and wheat plant samples

样品 Sample	添加水平/ (mg · kg ⁻¹) Fortification level	回收率/% Recovery					平均值 Average recovery	相对标准 偏差/% RSD
		1	2	3	4	5		
蚕豆植株 Broadbean plant	2.0	90.00	91.32	92.45	93.95	90.24	91.59	1.79
	1.0	79.20	80.00	76.50	78.35	79.00	78.61	1.68
小麦植株 Wheat plant	2.0	101.81	101.40	99.00	100.63	100.85	100.74	1.07
	1.0	96.66	98.21	97.03	100.40	96.95	97.85	1.58
	0.5	103.20	101.33	99.67	102.54	98.33	101.01	1.99

2.2 苦皮藤素 V 在蚕豆苗中的穿透与输导

2.2.1 对蚕豆苗根系的穿透与输导 从表 2 可以看出,10 μg/mL 苦皮藤素 V 微乳剂处理后 1,2,4 和 8 h,蚕豆苗根系中均未检测出苦皮藤素 V。处理

后 12 h,蚕豆苗中苦皮藤素 V 含量为 0.20 μg/g,然后随着处理时间的推移,蚕豆苗中苦皮藤素 V 含量逐渐增高,但处理 36 h 后增幅下降,处理后 48 h 蚕豆苗中苦皮藤素 V 含量为 1.72 μg/g。

表 2 苦皮藤素 V 对蚕豆苗根系的穿透与输导

Table 2 Penetration and translation of celangulin V from the broadbean roots

处理时间/h Time for treatment	1	2	4	8	12	20	28	36	48
苦皮藤素 V 含量/(μg · g ⁻¹) Concentration of celangulin V	ND	ND	ND	ND	0.20	1.10	1.56	1.69	1.72

注:ND 表示未检出。表 4 同。

Note:ND means not detected. The same for table 4.

2.2.2 对蚕豆苗叶片的穿透与输导 从表 3 可以看出,苦皮藤素 V 可穿透进入蚕豆叶片并传导至上

层叶片。处理后 12 h,蚕豆苗上部叶片中苦皮藤素 V 含量为 0.34 μg/g,24 h 后达到 0.75 μg/g,但 48

h 后苦皮藤素 V 含量没有明显增高。

表 3 苦皮藤素 V 对蚕豆苗叶片的穿透与输导

Table 3 Penetration and translation of celangulin V from the broadbean leaves

处理时间/h Time for treatment	12	24	48
苦皮藤素 V 含量/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$ Concentration of celangulin V	0.34	0.75	0.77

2.3 苦皮藤素 V 在小麦苗中的穿透与输导

2.3.1 水体中苦皮藤素 V 对小麦苗根系的穿透与输导 水体中苦皮藤素 V 对小麦苗根系的穿透与输导结果见表 4。从表 4 可以看出,10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 苦皮

表 4 水体中苦皮藤素 V 对小麦苗根系的穿透与输导

Table 4 Penetration and translation of celangulin V from the wheat roots in water

处理时间/h Time for treatment	4	8	12	24	36	48
苦皮藤素 V 含量/ $(\mu\text{g} \cdot \text{g}^{-1})$ Concentration of celangulin V	ND	0.29	0.64	1.49	2.94	2.72

2.4 苦皮藤素 V 的杀虫活性

杀虫活性测定结果表明,处理组和对照组试虫未见死亡、击倒或其他中毒症状,试虫取食、爬行均正常。

3 讨论

本研究结果表明,无论是双子叶植物蚕豆还是单子叶植物小麦,苦皮藤素 V 均可穿透其根系的保护层,经质外体系途径进入木质部,再借助木质部的蒸腾液流向上输导;苦皮藤素 V 亦可以通过叶片吸收进入植物体内上行输导,但与从根系的穿透吸收相比,从叶片的穿透吸收较困难。尽管本研究中叶片喷施的苦皮藤素 V 质量浓度高达 200 $\mu\text{g}/\text{mL}$,而根系吸收水体中苦皮藤素 V 的质量浓度仅 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$,但叶片吸收 48 h 后上层叶片中苦皮藤素 V 含量为 0.77 $\mu\text{g}/\text{g}$,仅为根系吸收的 44.77%。这一方面是因为叶片和根系组织结构的差异(蚕豆叶片外部有蜡质层,而根外部无蜡质层),另一方面是喷雾苦皮藤素微乳剂稀释液雾滴在叶片上沉积,其中的水分蒸发后滞留在叶片上的是苦皮藤素 V 固态微粒,相对于水体中的苦皮藤素 V 分子而言,不利于其对叶片的穿透。

将在苦皮藤素 V 质量浓度为 10 $\mu\text{g}/\text{mL}$ 水体中处理 48 h 的小麦苗剪下饲喂 3 龄东方粘虫幼虫未表现出内吸杀虫活性。这一方面是由于苦皮藤素 V 在水中的溶解度很低(低于 8 $\mu\text{g}/\text{mL}$),从根系穿透输导至植物体内的量很小,另一方面是苦皮藤素 V 本身对粘虫的毒力较低,试虫摄入苦皮藤素 V 的量难以达到其致死剂量。此外,已有的苦皮藤素 V 淋

藤素 V 微乳剂处理 4 h 后小麦苗中未检出苦皮藤素 V,处理 8 h 后苦皮藤素 V 含量为 0.29 $\mu\text{g}/\text{g}$,然后随着处理时间的延长,小麦苗中苦皮藤素 V 含量逐渐增大,处理 36 h 后达到 2.94 $\mu\text{g}/\text{g}$,而 48 h 后苦皮藤素 V 含量下降至 2.72 $\mu\text{g}/\text{g}$ 。

2.3.2 土壤中苦皮藤素 V 对小麦苗根系的穿透与输导 检测结果表明,苦皮藤素 V 作土壤处理后 12,24,48,72 及 96 h,小麦苗样品中均未检测到苦皮藤素 V。

溶试验结果表明,苦皮藤素 V 在土壤中被强烈吸附,在土层中的移动性较差。基于这些考虑,尽管苦皮藤素 V 可以穿透植物根系进入植物体内输导,但苦皮藤素 V 及其制剂不宜做土壤处理施药,防治叶部危害的刺吸式口器或咀嚼式口器害虫。

[参考文献]

- [1] 赵善欢. 植物化学保护 [M]. 3 版. 北京:中国农业出版社,2000:168-170.
Zhao S H. Plant chemical protection [M]. 3rd ed. Beijing:China Agriculture Press,2000:168-170. (in Chinese)
- [2] 吴文君. 植物化学保护实验技术导论 [M]. 西安:陕西科学技术出版社,1988:89-91.
Wu W J. Research method for plant chemical protection [M]. Xi'an:Shaanxi Science Technology Press,1988:89-91. (in Chinese)
- [3] 刘步林. 农药剂型加工技术 [M]. 2 版. 北京:化学工业出版社,2001:409.
Liu B L. Techniques of pesticides formulation [M]. 2nd ed. Beijing:Chemical Industry Press,2001:409. (in Chinese)
- [4] 张龙翔. 生化实验方法和技术 [M]. 2 版. 北京:高等教育出版社,1997:461-465.
Zhang L X. Biochemical experimental methods and techniques [M]. 2nd ed. Beijing:High Education Press,1997:461-465. (in Chinese)
- [5] 吴文君,李绍白,朱靖博,等. 新化合物苦皮藤素 V 的分离与结构鉴定简报 [J]. 西北农业大学学报,1994,22(4):116-117.
Wu W J, Li S B, Zhu J B, et al. New sesquiterpenoid celangulin V: isolation and determination [J]. Acta Univ Agric Boreali-Occidentail, 1994, 22(4): 116-117. (in Chinese)
- [6] 吴文君. 从天然产物到新农创制——原理·方法 [M]. 北京:化学工业出版社,2006:242-291.
Wu W J. From natural products to the development of new pes-

- ticides-principles & methods [M]. Beijing: Chemical Industry Press, 2006: 242-291. (in Chinese)
- [7] 吴文君, 刘惠霞, 胡兆农, 等. 从天然产物到新农药创制——杀虫植物苦皮藤研究进展 [J]. 昆虫知识, 2008, 45(6): 845-851. Wu W J, Liu H X, Hu Z N, et al. Advances in research of insecticidal plant *Celastrus angulatus* [J]. Chinese Bulletin of Entomology, 2008, 45(6): 845-851. (in Chinese)
- [8] 祁志军, 胡兆农, 时春喜, 等. 0.2% 苦皮藤素乳油对非靶标生物的影响 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2004, 32(3): 73-76. Qi Z J, Hu Z N, Shi C X, et al. Effects of 0.2% celangulins EC on non-target organisms in environment [J]. Northwest Sci-tech Univ Agric Forest: Nat Sci Ed, 2004, 32(3): 73-76. (in Chinese)
- [9] 秦宝福, 吴文君, 祁志军, 等. 苦皮藤素微粉剂对绿豆象种群的控制作用 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2004, 32(增刊): 57-59. Qin B F, Wu W J, Qi Z J, et al. Controlling of celangulin flo dust to *Callosobruchus chinensis* L. [J]. Northwest Sci-tech Univ Agric Forest: Nat Sci Ed, 2004, 32(Suppl): 57-59. (in Chinese)
- [10] 秦宝福, 吴文君, 姬志勤, 等. 苦皮藤素微粉剂对玉米中玉米象种群的控制 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2003, 31(增刊): 35-37. Qin B F, Wu W J, Ji Z Q, et al. The controlling of *Sitophilus zeamais motschulsky* of corn with celangulin micro granule [J]. Northwest Sci-tech Univ Agric Forest: Nat Sci Ed, 2003, 31(Suppl): 35-37. (in Chinese)
- [11] 祁志军, 姬志勤, 秦宝福, 等. 0.2% 苦皮藤素乳油在土壤中的吸附与降解 [J]. 西北农林科技大学学报: 自然科学版, 2004, 32(2): 31-34. Qi Z J, Ji Z Q, Qin B F, et al. Absorption and degradation of 0.2% celangulin EC in soil [J]. Northwest Sci-tech Univ Agric Forest: Nat Sci Ed, 2004, 32(2): 31-34. (in Chinese)
- [12] 刘 伟, 于福利, 雷 琪. 苹果和土壤中溴菌腈残留分析方法 [J]. 农药, 2008, 47(1): 46-47. Liu W, Yu F L, Lei Q. Analytical methods for bromothalonil residues in apple and soil [J]. Agrochemicals, 2008, 47(1): 46-47. (in Chinese)
- [13] 刘 伟, 姬志勤, 李智文, 等. 克菌丹在苹果园土壤中的代谢研究 [J]. 西北农业学报, 2006, 15(1): 85-87. Liu W, Ji Z Q, Li Z W, et al. Study on the metabolization of captan in soil [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2006, 15(1): 85-87. (in Chinese)
- [14] Tu Y Q, Wu D G, Zhou J, et al. Bioactive sesquiterpene polyol esters from *Euonymus bungeanus* [J]. J Nat Prod, 1990, 53(3): 603-608.
- [15] 刘 伟, 姬志勤, 魏少鹏, 等. 苦皮藤素在水体中的稳定性及水解产物结构研究 [J]. 农药学报, 2009, 11(3): 335-340. Liu W, Ji Z Q, Wei S P, et al. Studies on the stability of celangulins in water and the structures of the hydrolysates [J]. Chinese Journal of Pesticide Science, 2009, 11(3): 335-340. (in Chinese)

(上接第 100 页)

- [8] 王春蕾, 丛 斌, 王洪平. 金纹细蛾幼虫龄期的鉴别 [J]. 沈阳农业大学学报, 2007, 38(3): 404-406. Wang C L, Cong B, Wang H P. Identification on larval instars of the Asiatic Apple Leaf-miner, *Lithocolletis ringoniella* Mats. [J]. Journal of Shenyang Agricultural University, 2007, 38(3): 404-406. (in Chinese)
- [9] 孙瑞红, 窦立志, 张玉涛. 苹果金纹细蛾发生及防治研究进展 [J]. 北方果树, 2001(1): 1-3. Sun R H, Dou L Z, Zhang Y T. Research progress on occurrence and control of the Asiatic Apple Leaf-miner, *Lithocolletis ringoniella* Mats. in apple orchard [J]. North Fruits, 2001(1): 1-3. (in Chinese)
- [10] Arthur A P, Wylie H G. Effect of host size on sex ratio, development time and size of *Pimpla turionellae* (L.) (Hymenoptera: Ichneumonidae) [J]. Entomophaga, 1959, 4: 297-301.
- [11] Kish Y. Differences in the sex ratio of pine bark weevil parasite, *Dolichomitus* sp. (Hymenoptera: Ichneumonidae), emerging from different host species [J]. Applied Entomology and Zoology, 1970, 5: 126-132.
- [12] 乔晓亮, 花 蕾, 王 珂, 等. 金纹细蛾发生与气象因子的关系初探 [J]. 干旱地区农业研究, 2005, 23(4): 208-211. Qiao X L, Hua L, Wang K, et al. Preliminary studies on the relationship between the occurrence of Asiatic apple leaf-miner and meteorological factors [J]. Agricultural Research in the Arid Areas, 2005, 23(4): 208-211. (in Chinese)
- [13] 刘玉玉, 赵微微, 马 丽, 等. 苹果园金纹细蛾寄生蜂种类及空间分布调查 [J]. 西北农业学报, 2009, 18(5): 93-97. Liu Y Y, Zhao W W, Ma L, et al. Preliminary study on species and spatial distribution of parasitic wasps of *Lithocolletis ringoniellain* in apple orchard [J]. Acta Agricultural Boreali-occidentails Sinica, 2009, 18(5): 93-97. (in Chinese)