

牛膝总皂甙对早孕小白鼠的繁殖毒性

卜书海<sup>a</sup>, 郑雪莉<sup>b</sup>, 张宏利<sup>b</sup>, 杨清娥<sup>b</sup>, 韩崇选<sup>b</sup>

(西北农林科技大学 a. 生命科学学院, b. 林学院, 陕西 杨凌 712100)

**[摘要]** **【目的】**研究牛膝总皂甙(TSA)对早孕小白鼠的繁殖毒性与适口性,为进一步开发利用牛膝植物资源、研制开发新型植物源性灭鼠药品奠定基础。**【方法】**采用 1 000,500 和 250 mg/kg 剂量的 TSA,对早孕期小鼠连续灌胃处理 5 d,然后检查小鼠的妊娠与胚胎发育情况;向饲料中按质量分数 0.5%,1%和 2%添加 TSA,采用饲料混毒法测定 TSA 对小白鼠的适口性。**【结果】**在试验期间,早孕小鼠体增重随 TSA 剂量增加有降低的趋势,甚至出现负增长,但其对试鼠的采食量没有明显影响;TSA 中、高剂量组(500 和 1 000 mg/kg)能够引起小鼠子宫重量降低及肝、肾和脾脏的损伤;随着灌胃剂量的增加,TSA 呈现明显的抗早孕作用,最高剂量组抗小鼠早孕活性最好,雌鼠终止妊娠率和死胎率分别为 91.75% 和 89.39%;适口性试验表明,饵料中 TSA 的质量分数为 1%和 0.5%时,试鼠的摄食系数分别为 0.35 和 0.47。**【结论】**TSA 对试鼠有较好的抗早孕活性及较好的适口性,可作为一种新的植物源鼠类不育剂加以研究利用。

**[关键词]** 牛膝总皂甙(TSA);小鼠;繁殖毒性;抗早孕

**[中图分类号]** S859.82 **[文献标识码]** A **[文章编号]** 1671-9387(2008)10-0034-05

On reproductive toxicity of total saponins of achyranthes(TSA) from  
*Achyranthes bidentata* on early gestationperiod of mice

BU Shu-hai<sup>a</sup>, ZHENG Xue-li<sup>b</sup>, ZHANG Hong-li<sup>b</sup>, YANG Qing-e<sup>b</sup>, HAN Chong-xuan<sup>b</sup>

(a. College of Life Sciences, b. College of Forestry, Northwest A&F University, Yangling, Shaanxi, 712100, China)

**Abstract:** **【Objective】** Total saponins of achyranthes (TSA), isolated from *Achyranthis bidentata* Blume, was investigated for the reproductive toxicity and edibility in the female mice during the early pregnant period. It was based on utilizing further *Achyranthis bidentata* Blume resource, and finding a new Ban-ic sterilant against pest rodents. **【Method】** The female mice were treated by oral gavage with total saponins of achyranthes (250,500 and 1 000 mg/kg) during early gestation period once a day within 5 successive days. Reproductive organ weights, maternal body weights, rate of termination of pregnancy and the number of dead embryos as well as visceral histological damages were evaluated. The clinical signs of TSA toxicity were detected throughout the treatment period in all treated groups. The based diets were supplemented with 0.5%,1% and 2% (*m : m*) TSA respectively. The method of mixing pulverized plants directly into fodder was adopted to determine the edibility. **【Result】** The body weight gains of pregnant mice were gradually decreased with the increasing of the dosages of TSA. Oral administration of TSA (500 and 1 000 mg/kg) also caused a significant decrease in uterine weight compared with that of the control mice ( $P<0.05$ ), and the histological structures were damaged in the kidney, spleen and liver. TSA had significant anti-fertility activity with dose-dependent way. The anti-fertility activity of TSA was the most significant in

\* [收稿日期] 2007-10-26  
[基金项目] 国家“十一五”科技攻关项目(2005BA529A05);西北农林科技大学青年科研专项(04zm023);林业公益性行业科研专项(200704012)  
[作者简介] 卜书海(1974—),男,黑龙江佳木斯人,讲师,主要从事动物管理研究。  
[通讯作者] 张宏利(1962—),男,陕西临潼人,副研究员,主要从事森林鼠害综合防治研究。E-mail: honglizhang@126.com

the highest dose group (1 000 mg/kg) compared with that of the control group ( $P<0.01$ ). The rate of termination of pregnancy, and the rate of fetal mortality were 91.75% and 89.39% respectively. Meanwhile, intake coefficients to food respectively were 0.35 and 0.47 at 1% and 0.5% degree of TSA. 【Conclusion】 It had significant antifertility activity and good edibility on females. So *Achyranthes bidentata* can be exploited to a new and effective Botanic sterilant against pest rodents.

**Key words:** total saponins of achyranthes(TSA);mouse;reproductive toxicity;anti-fertility

鼠类是农林牧业的天敌,严重影响农林牧业的发展。目前鼠害防治主要采用化学灭鼠剂,但药物成本较高,易污染环境,可造成非靶动物误食致死,且不易从根本上长期控制鼠密度。因此,进行鼠类抗生育药剂的研制成为当务之急<sup>[1]</sup>。鼠类抗生育药剂是一种以降低害鼠出生率目标的药剂,包括避孕剂、杀精子剂、杀卵子剂、杀胎儿剂等。国内外鼠类抗生育剂按成分来源可分为化学不育剂和植物性抗生育剂两类。考虑到化学不育剂在使用过程中还存在不同程度的问题,如药效的持续时间、药物控制的鼠群个体比例、在环境中的残留等,国内目前倾向于对有抗生育作用的中草药及其提取物进行研究和筛选<sup>[2]</sup>,因此植物源抗生育药剂的开发,将一直是鼠类数量控制研究的热点。

牛膝(*Achyranthes bidentata* BL.)为苋科多年生草本植物,其野生种在全国大部分省区均有分布。牛膝成分复杂,含有多糖、皂甙、蜕皮激素类以及甾醇和黄酮等多种化合物。前人研究证明,牛膝中所含皂甙类成分具有子宫平滑肌兴奋作用和抗生育作用<sup>[3-4]</sup>;用其水煎液灌喂小鼠,能够引起小鼠子宫巨噬细胞数量增加和 TNF- $\alpha$  水平提高,具有明显抗受精卵着床的作用<sup>[5]</sup>,这种作用相当于中医理论中的引血下行功效<sup>[6]</sup>。本试验以小白鼠为试验动物,研究牛膝总皂甙(TSA)对早孕小鼠的繁殖毒性,以期为进一步开发利用牛膝植物资源、研制开发新型植物源性灭鼠药品奠定基础。

## 1 材料与方法

### 1.1 材料

1.1.1 试验动物 试验动物为健康、繁殖性能正常、体重 25~30 g 的二级昆明种 ICR 系小鼠。

1.1.2 植物材料 怀牛膝根,购自河南沁阳药材市场。

1.1.3 化学试剂 试验所用乙醇、乙醚、乙酸乙酯和正丁醇等均为分析纯。

### 1.2 TSA 的分离

按照文献<sup>[7]</sup>的方法,取怀牛膝根 5 kg,洗净,60

℃干燥后粉碎,依次用体积分数 95%,70%和 50%的乙醇浸提 3 d,合并滤液并减压浓缩后,蒸馏水溶解,用乙醚、乙酸乙酯和正丁醇依次萃取,正丁醇浸膏用甲醇溶解,滴加乙醚析出沉淀,反复纯化,得 TSA 84.9 g,使用前用 0.9%生理盐水溶解。

### 1.3 早孕小鼠的准备

在超排的当天(0 d),选择阴门微开张、阴道黏膜淡粉红色到粉红色的母鼠,于下午 4:00 腹腔注射孕马血清促性腺激素(PMSG)8 U/只,注射前用生理盐水按照每只小鼠注射 0.5 mL 稀释配制。2 d 后下午 5:00 左右腹腔注射人绒毛膜促性腺激素(hCG)8 U/只,然后将每只母鼠放入单独饲养的公鼠笼中同笼饲养,自然交配;3 d 后清晨开始检查,如有阴道栓形成记为妊娠 1 d(GD 1),将妊娠鼠分笼饲养,进行抗早孕试验。

### 1.4 TSA 对小白鼠的生殖毒性测定

选取体重 25~30 g、有阴道栓的雌性小白鼠 48 只,随机分为 4 组,I~Ⅲ组分别灌胃 1 000,500 和 250 mg/kg 的 TSA(以生理盐水溶解,按 2.5 mL/(kg·次)灌胃),每日 1 次;Ⅳ组为对照,按 2.5 mL/(kg·次)灌胃生理盐水,于出现阴道栓 6~10 d 的早孕期连续灌胃给药。每 3 d 称体重 1 次,给药期间试验动物正常供给食物和饮水,每天测定其采食量。末次给药 48 h 后处死雌鼠,剖腹检查子宫内胚胎数及其发育状况,记录妊娠鼠数、胎仔数、死胎数;称量肝脏、肾脏、脾脏和卵巢质量,然后按常规方法制片,并用 HE 染色后镜检观察。

### 1.5 TSA 对小白鼠的适口性测定

1.5.1 饵料配制 取 TSA 样品用水溶解,按质量分数 0.5%,1%和 2%加入到小白鼠饲料中,混合均匀,以不加 TSA 样品的饲料为对照(CK),加水压饼,烘箱中烘干后备用。

1.5.2 适口性测定方法 选取体重 27 g 左右、有阴道栓的雌性小白鼠 30 只,随机编号分为 3 个试验组,一笼一鼠,单独饲养。试验开始前先供给 2 d 正常饲料,第 3 天将取食量少于全部试验鼠平均摄食量 1/5 者淘汰后开始试验。试验中每天在每个笼的

对角设置 2 个盛料盒,分别按一定量加入饵料和对照饲料,用自动喂水器充分供水,每 4 h 交换两盒的位置,连续饲喂 4 d,每天称量 1 次饵料和对照饲料的消耗量,并更换新饵。4 d 后改喂正常饲料,观察各供试鼠在取食后的反应。根据试鼠的取食量计算摄食系数,判断 TSA 对小鼠的适口性。

摄食系数=饵料消耗量/对照饲料消耗量。

1.6 数据处理

试验数据采用 Excel 软件进行处理与统计分析。

## 2 结果与分析

### 2.1 小鼠灌服 TSA 后的临床表现

孕鼠灌服 TSA 后,中、高剂量组小鼠大多精神沉郁,伏卧不动,闭眼。给药 20 min 后症状减轻,能够正常活动、饮食;而低剂量组小鼠多数给药后无即刻毒性反应,每日进食、饮水正常,活动自如。由于个体差异,个别小鼠耐受性低,毒性反应表现较强,

如中、低剂量组个别小鼠分别在第 4 和第 5 天精神状态较差,出现会阴部污浊,被毛无光泽、粗乱等现象,但是停药后 1~2 d 就能够恢复正常;其中低剂量组 1 只小鼠在第 6 天死亡,尸检发现其阴道出血,胃壁表面有出血点,子宫如念珠状。

### 2.2 TSA 对早孕雌鼠体重和采食量的影响

由表 1 可知,高剂量 I 组雌鼠体重由妊娠第 6 天的(28.90±2.45)g 下降到第 12 天的(27.18±1.92)g,增重-1.72 g,与其他处理组间差异显著( $P<0.05$ ),与对照组(1.94 g)差异极显著( $P<0.01$ )。中剂量 II 组雌鼠体重从妊娠第 6 天的(27.50±1.27)g 上升到第 12 天的(27.62±2.34)g;低剂量 III 组雌鼠体重从妊娠第 6 天的(27.61±3.28)g 上升到第 12 天的(27.91±2.76)g,二者与对照组差异显著( $P>0.05$ )。表 1 还表明,灌服 TSA 后对早孕小鼠的采食量没有明显影响。I 组小鼠日均采食量最低,为 3.83 g,II 组日采食量最高,为 4.16 g,但各组间差异不显著( $P>0.05$ )。

表 1 TSA 对早孕雌鼠体重和日均采食量的影响

| Table 1 Changes of body weight and the average daily feed intake of mice treated with TSA during early gestation period |                                          |                                          |                                           |                                           | g |
|-------------------------------------------------------------------------------------------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|-------------------------------------------|-------------------------------------------|---|
| 组别<br>Group                                                                                                             | 妊娠第 6 天体重<br>Mean body weight<br>on GD 6 | 妊娠第 9 天体重<br>Mean body weight<br>on GD 9 | 妊娠第 12 天体重<br>Mean body Weight<br>on GD12 | 日均采食量<br>The average daily<br>feed intake |   |
| I                                                                                                                       | 28.90±2.45                               | 27.72±3.22                               | 27.18±1.92                                | 3.83±0.11a                                |   |
| II                                                                                                                      | 27.50±1.27                               | 27.61±2.04                               | 27.62±2.34                                | 4.16±0.06 a                               |   |
| III                                                                                                                     | 27.61±3.28                               | 27.87±1.55                               | 27.91±2.76                                | 3.95±0.15 a                               |   |
| CK                                                                                                                      | 27.52±2.81                               | 28.42±2.39                               | 29.46±4.03                                | 4.05±0.11 a                               |   |

注:同列数据后标不同小写字母者表示差异显著( $P>0.05$ )。下表同。

Note: Data with same letters in the same column do not differ significantly at  $P>0.05$ . The same below.

### 2.3 TSA 对早孕雌鼠脏器重和体重的影响

表 2 表明,I 组、II 组早孕雌鼠的“肝重/体重”低于 III 组和对照组,并且与 III 组差异显著( $P<0.05$ );I 组早孕雌鼠的“脾重/体重”显著低于对照组( $P<0.05$ ),II 组、III 组“脾重/体重”与对照组差异不显著;III 组早孕雌鼠的“肾重/体重”最高,II 组最低,但各组间差异不显著( $P>0.05$ )。

表 2 TSA 对早孕雌鼠脏器重与体重之比的影响

Table 2 Ratio of organ weights to body weights of mice treated with TSA %

| 组别<br>Group | 肝重/体重<br>Liver<br>weight/body<br>weight | 肾重/体重<br>Kidney<br>weight/body<br>weight | 脾重/体重<br>Spleen<br>weight/body<br>weight |
|-------------|-----------------------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|
| I           | 5.17±0.49 a                             | 1.30±0.10 a                              | 0.24±0.07 a                              |
| II          | 5.11±2.35 a                             | 1.27±0.57 a                              | 0.34±0.05 ab                             |
| III         | 6.67±1.25 b                             | 1.40±0.63 a                              | 0.40±0.12 b                              |
| CK          | 5.32±0.20 ab                            | 1.36±0.11 a                              | 0.41±0.22 b                              |

由表 3 可以看出,早孕母鼠的“卵巢湿重/体重”及卵巢直径在各组间无统计学差异( $P>0.05$ );I 组小鼠的“子宫湿重/体重”和子宫中段直径与其他各组比较差异极显著( $P<0.01$ ),II 组小鼠的“子宫湿重/体重”与对照组比较亦这差异显著水平( $P<0.05$ )。

给药各组雌鼠用肉眼观察可见,多数流产个体子宫依然膨大,也有少数个体子宫如细线者;而未流产个体子宫呈念珠状。

### 2.4 TSA 对早孕雌鼠妊娠的影响

由表 4 可知,雌鼠终止妊娠率、死胎数、死胎率均随 TSA 剂量的增加而上升,I、II、III 组与对照组比较均极显著上升( $P<0.01$ );胚胎在着床后的发育过程中有不同程度地萎缩退化,这表明 TSA 具有明显的抗早孕作用。

表 3 TSA 对早孕雌鼠卵巢与子宫的影响

Table 3 Ratio of organ weights to body weights of mice treated with TSA

| 组别<br>Group | (卵巢湿重/体重)/%<br>Ovary weight/body weight | 卵巢直径/mm<br>Diameter of ovary | (子宫湿重/体重)/%<br>Uterus weight/body weight | 子宫中段直径/mm<br>Diameter of uterus |
|-------------|-----------------------------------------|------------------------------|------------------------------------------|---------------------------------|
| I           | 0.10±0.01                               | 3.58±0.31                    | 0.21±0.08 a                              | 1.49±0.30 a                     |
| II          | 0.11±0.05                               | 3.83±0.64                    | 1.13±2.63 b                              | 3.16±1.17 b                     |
| III         | 0.08±0.04                               | 3.49±0.52                    | 1.99±0.17 bc                             | 3.78±0.22 b                     |
| CK          | 0.09±0.28                               | 3.51±0.11                    | 2.27±0.34 c                              | 3.83±0.15 b                     |

表 4 TSA 对早孕雌鼠妊娠的影响( $n=12$ )

Table 4 Effects of TSA on early gestationperiod of mice( $n=12$ )

| 组别<br>Group | 终止妊娠数<br>Termination of pregnancy | 妊娠鼠/只<br>No. of pregnancy | 终止妊娠率/%<br>Termination rate of pregnancy | 活胎数<br>Viable embryos per pregnant mouse | 死胎数<br>Dead embryos Per pregnant mouse | 死胎率/%<br>Embryonic mortality |
|-------------|-----------------------------------|---------------------------|------------------------------------------|------------------------------------------|----------------------------------------|------------------------------|
| I           | 11                                | 1                         | 91.75 a                                  | 1.16±0.83 a                              | 9.83±1.40 a                            | 89.39 a                      |
| II          | 9                                 | 3                         | 75.0 a                                   | 2.25±1.36 a                              | 9.25±1.80 a                            | 80.43 a                      |
| III         | 8                                 | 4                         | 66.7 a                                   | 3.91±1.10 a                              | 8.33±2.70 a                            | 68.02 a                      |
| CK          | 0                                 | 12                        | 0 c                                      | 10.60±1.72 c                             | 0c                                     | 0 c                          |

2.5 灌服 TSA 后小鼠内脏及卵巢的病理变化

对解剖后的试验雌鼠内脏进行镜检观察发现,TSA 对所有处理组小鼠卵巢的作用不明显,母鼠卵巢内可见大量初级卵泡、已排卵卵泡腔,只有个别小鼠卵巢未见次级卵泡,其他正常;TSA 主要引起 I、II 组小鼠肝脏、脾脏、肾脏出现不同程度的损伤,3 个脏器的病理特征与作者报道的牛膝总皂甙处理的未孕雌鼠的表现一致<sup>[8]</sup>。从整体看,中、高剂量的 TSA 灌胃可引起小鼠内脏器官发生病变,而低剂量灌胃对小鼠内脏器官的损伤作用不明显。

2.6 TSA 对小鼠的适口性

一种优良的灭鼠剂,除具有较高的灭鼠效果,无

残留、无二次中毒,对人、畜安全,不污染环境,不易引起抗药性,在自然环境中易于降解等优点外,还必须具有较好的适口性,适口性是衡量害鼠对灭鼠饵料喜食程度的关键指标<sup>[9]</sup>。

从表 5 可以看出,小鼠对含 TSA 饵料的摄食系数为 0.20~0.60。按照评价有选择性适口性的标准,当摄食系数大于 0.3 时,适口性好;小于 0.3 而大于 0.1 时,适口性一般;小于 0.1 时,适口性差<sup>[9]</sup>。据此认为,饲料中加入质量分数 1% 和 0.5% 的 TSA 对试鼠有较好的适口性,其摄食系数分别为 0.35 和 0.47。

表 5 TSA 对雌鼠的适口性测定结果( $n=10$ )

Table 5 Edibility of TSA on female mice ( $n=10$ )

| 牛膝总皂甙含量/%<br>Concen tration | 平均体重/g<br>Weight | 饵料<br>baits | 平均取食量/(g·kg <sup>-1</sup> ·d <sup>-1</sup> )<br>Mean intake amount | 摄食系数<br>Intake coefficient |
|-----------------------------|------------------|-------------|--------------------------------------------------------------------|----------------------------|
| 2                           | 27.71            | 饵料 baits    | 44.75                                                              | 0.25                       |
|                             |                  | CK          | 177.66                                                             |                            |
| 1                           | 27.58            | 饵料 baits    | 52.74                                                              | 0.35                       |
|                             |                  | CK          | 152.59                                                             |                            |
| 0.5                         | 27.61            | 饵料 Baits    | 86.40                                                              | 0.47                       |
|                             |                  | CK          | 184.64                                                             |                            |

3 讨 论

20 世纪 80 年代中后期以来,国内外科学家对抗生育灭鼠剂的研究表现出极大兴趣,国外已有两种不育剂(EPiblocR 和 GlyzonhroR)实现商品化,并在美国、加拿大、印度等国家广泛用于野鼠的控制<sup>[10]</sup>。目前,我国林业生产中使用的抗生育灭鼠剂多数是生物制剂,药剂主剂来源于植物及其提取物。20 世纪 90 年代初,张春美等<sup>[11]</sup>筛选出了以棉酚、天花粉为主剂的第一代植物性不育剂;90 年代后期,

张春美等<sup>[12]</sup>对第 1 代抗生育药剂进行了改进,在原主剂中加入了莪术粉,增强了雌性不育的力度;同一时期,杨春文等<sup>[13]</sup>利用人工合成类激素与棉酚混合,制成第 2 代抗生育剂。目前,人们还在不断地寻找安全、有效的植物源抗生育剂,如雷公藤多甙、天花粉蛋白、紫堇醇灵碱、原鸦片碱、信子素、牛膝皂甙等<sup>[2]</sup>,希望在鼠害综合治理中发挥最大作用,有效降低鼠类的生育率,控制其种群数量和密度。

自古以来,各医家都把牛膝作为一味引胎下行药<sup>[6]</sup>。研究表明,皂苷类是牛膝发挥“堕胎”作用

的主要成分,TSA 对小鼠早期妊娠有致流产和致死胎的作用,且致死胎主要表现为胚胎的坏死吸收。TSA 具有较强的抗早孕作用,低剂量(250 mg/kg)就可使孕鼠终止妊娠率超过 66%,未流产母鼠死胎率增高,每窝活胎数仅为 3.91 只。

在本试验中,500 和 1 000 mg/kg TSA 剂量组小鼠均出现不适症状。最高剂量组出现 1 只小鼠阴道出血,并且死亡。通过镜检,上述两个剂量组小鼠肝、肾、脾均有明显损伤,表明 TSA 对早孕小鼠内脏器官和组织产生了系统毒性。

在动物早孕期,孕体(胎儿大小和体重)和母体自身影响母体体重的增加,任何外源的孕体和母体生长抑制剂都将改变母体体重的增加<sup>[14]</sup>。本研究结果显示,与对照组小鼠比较,尽管各试验组小鼠日摄食量相对比较稳定,但早孕小鼠体增重随 TSA 剂量的增加而明显降低。显然,小鼠子宫和子宫内容物的重量下降导致了早孕小鼠体增重明显下降。

本研究适口性试验表明,TSA 质量分数为 1%和 0.5%的饵料对试鼠有较好的适口性,雌鼠不拒食,雌鼠每日摄入的 TSA 约为 374~527 mg/kg,能够达到要求摄入的剂量。研究表明,TSA 作用效果呈现明显的剂量依赖性,对早孕小鼠具有短期的繁殖毒性。牛膝野生种在我国的分布量很大,是一种值得开发利用的控鼠植物。

[参考文献]

[1] 张知彬. 鼠类不育控制的生态学基础 [J]. 兽类学报,1995,15(3):229-234.  
Zhang Z B. The ecological fundamentals of rodent control by contraception [J]. Acta Theriologica Sinica,1995,15(3):229-234. (in Chinese)

[2] 张春美,陈 荣,周维民. 我国鼠类抗生育药剂的研究进展 [J]. 中国森林病虫,2001,20(1):34-35.  
Zhang C M,Chen R,Zhou W M. Advance in the study of sterilants against rodents in China [J]. Forest Pest and Disease,2001,20(1):34-35. (in Chinese).

[3] 郭胜民,车锡平,范晓雯. 怀牛膝皂甙 A 对动物子宫平滑肌的作用 [J]. 西安医科大学学报,1997,18(2):216-218.  
Guo S M,Che X P,Fan X W. Mechanism of excitant effect of *Achyranthes bidentata* saponion A on isolated rat uteri [J]. Journal of Xi'an Medical University,1997,18(2):216-218. (in Chinese)

[4] 朱 和,车锡平. 怀牛膝总皂甙 (ABS) 对大小白鼠抗生育作用的研究 [J]. 西安医科大学学报,1987,8(3):246-248.  
Zhu H,Che X P. Study on antifertility of *Achyranthes bidentata* saponion on rat and mouse [J]. Journal of Xi'an Medical University,1987,8(3):246-248. (in Chinese)

[5] 张文学,杨林松,裴云飞. 牛膝水煎液的抗着床作用及其对子宫肥大细胞的影响 [J]. 河南师范大学学报:自然版,2003,31

(4):4-6.  
Zhang W X,Yang L S,Pei Y F. Study on anti-implantation of *Achyranthes bidentata* boiled water and influence on Mast cell in the uterus [J]. Journal of Henan Normal University:Natural Science,2003,31(4):4-6. (in Chinese)

[6] 江苏新医学院. 中药大辞典[M]. 上海:上海科学技术出版社,1996:417-512.  
Jiangsu New Medical College. Encyclopedia of chinese herbs [M]. Shanghai:Shanghai Sci-tech House,1996: 417-512. (in Chinese)

[7] 中国药典委员会. 中药药典 (Vol. 1) [M]. 北京:中国化学出版社,2000:249.  
Chinese Pharmacopoeia Commission. Chinese pharmacopoeia (Vol. 1) [M]. Beijing:Chemical Industry Press,2000:249. (in Chinese)

[8] 卜书海,李青旺,郑雪莉,等. 牛膝正丁醇萃取物对小鼠繁殖性能的影响 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2006,34(6):31-33.  
Bu S H,Li Q W,Zheng X L,et al. Effects of n-Butanol extract from *Achyranthes bidentata* on reproductive performance of mice [J]. J Northwest Sci-Tech Univ of Agri For: Nat Sci Ed,2006,34(6):31-33. (in Chinese)

[9] 韩崇选. 中国农林啮齿动物与科学管理 [M]. 陕西杨凌:西北农林科技大学出版社,2005.  
Han C X. Chinese glires in agriculture & forestry and science management [M]. Yangling, Shaanxi: Northwest Sci-Tech Univ of Agri & For Press,2005. (in Chinese)

[10] 朱 靖,张知彬. 农牧业鼠害综合治理的研究现状及对策 [J]. 农牧情报研究,1988(7):1-10.  
Zhu J,Zhang Z B. Present situation and countermeasure for comprehensive administration about mouse damage in agriculture and husbandry [J]. Research on information of agriculture and husbandry,1988(7):1-10. (in Chinese)

[11] 张春美,吴克有,陈荣海,等. 复合不育剂对森林害鼠生殖阻断的研究 [J]. 辽宁林业科技,1994(3/4):65-66.  
Zhang C M,Wu K Y,Chen R H, et al. Composite of sterile block of forest rodents reproductive research [J]. Journal of Liaoning Forestry Science & Technology,1994(3/4):65-66. (in Chinese)

[12] 张春美,吴东海,赵日良,等. 新型植物性不育剂与化学灭鼠剂杀鼠效果对比试验 [J]. 辽宁林业科技,1999(1):35-38.  
Zhang C M,Wu D H,Zhao R L,et al. Study on rat-killing effect of a new plant sterile drug [J]. Journal of Liaoning Forestry Science & Technology,1999(1):35-38. (in Chinese)

[13] 杨春文,张广臣,金建丽,等. MG 复合不育剂防治棕背鼠平的研究 [J]. 中国森林病虫,2002,21(5):8-10.  
Yang C W,Zang G C,Jin J L,et al. Using a sterilant of MG compound against *Clethrionomys rufocanus* [J]. Forest Pest and Disease,2002,21(5):8-10. (in Chinese)

[14] Hafez E S E. Reproduction in farm animals [M]. Philadelphia, Lea & Febiger,1980:92.