

脱氧鬼臼毒素对粘虫生殖力的影响

王建斌,马志卿,冯俊涛,张 兴

(西北农林科技大学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,陕西 杨凌 712100)

【摘 要】 【目的】探讨脱氧鬼臼毒素对粘虫生殖力的影响。【方法】以小叶碟添加法处理粘虫幼虫,测定脱氧鬼臼毒素对其生长发育的影响。采用混药饲喂法测定脱氧鬼臼毒素对成虫生殖力相关指标的影响。【结果】以 0.1, 0.3 和 0.5 mg/mL 脱氧鬼臼毒素处理的叶碟饲喂粘虫 5 龄幼虫后,其化蛹率、羽化率、单雌产卵量和孵化率均明显下降,且异常蛹率升高;以含 0.3 和 0.5 mg/mL 脱氧鬼臼毒素的药蜜分别或同时饲喂粘虫雌、雄蛾后,均可致产卵前期延长、产卵期和寿命缩短,产卵量、孵化率和幼虫存活率下降;以含 0.3 mg/mL 脱氧鬼臼毒素的药蜜饲喂粘虫雌蛾后,卵巢管长度和卵巢鲜质量分别降低了 27.36%和 41.48%,腹部脂肪含量下降了 10.45%,卵巢内 DNA、RNA 和可溶性蛋白含量分别下降了 18.93%,13.24%和 16.39%。【结论】脱氧鬼臼毒素对粘虫的生殖力具有明显抑制作用。

【关键词】 脱氧鬼臼毒素;粘虫;生殖力;生长发育;卵巢发育

【中图分类号】 Q965.9;S482.3⁺9 【文献标识码】 A 【文章编号】 1671-9387(2009)01-0167-06

Effect of deoxypodophyllotoxin on fecundity
of *Mythimna separata* Walker

WANG Jian-bin, MA Zhi-qing, FENG Jun-tao, ZHANG Xing

(Biorational Pesticide Research and Development Center, Northwest A&F University/ Shaanxi Research Center of
Biopesticide Engineering and Technology, Yangling, Shaanxi 712100, China)

Abstract: 【Objective】 In order to study the effect of deoxypodophyllotoxin on the reproduction of *Mythimna separata* Walker, the development of the larvae and the related fecundity indexes of the adult of *Mythimna separata* W. were assayed. 【Method】 The method of disc leaf was appended to test the effect of deoxypodophyllotoxin on the development of the larvae and the way of feeding by containing deoxypodophyllotoxin of honey to assay the related fecundity indexes of the adult of *Mythimna separata* W. 【Result】 The results showed that the rate of pupation, eclosion and the quantity of oviposition and the rate of egg hatching decreased significantly at the concentration of 0.1, 0.3 and 0.5 mg/mL. At the same time, the rate of the abnormal pupae increased after 5th instar treatment. The period of preoviposition was prolonged and the period of oviposition and life were shortened. Furthermore, the number of oviposition, the rate of hatching and the rate of larvae survival decreased after feeding 0.3 and 0.5 mg/mL deoxypodophyllotoxin to the adult of male and female at the same time or separately. The length of ovary tubes and wet weight of ovaries decreased 27.36% and 41.48%. The content of female fat and DNA and RNA and soluble protein in ovary decreased 10.45%, 18.93%, 13.24% and 16.39% at 0.3 mg/mL respectively. 【Conclusion】 Therefore, the deoxypodophyllotoxin has apparent effect on fecundity of *Mythimna separata* W.

Key words: deoxypodophyllotoxin; *Mythimna separata* W. ; fecundity; development; overy development

* 【收稿日期】 2008-02-28
 【基金项目】 国家自然科学基金资助项目(30471156)
 【作者简介】 王建斌(1981—),男,山西孟县人,在读硕士,主要从事农药毒理学研究。E-mail:shuishui686@163.com
 【通信作者】 马志卿(1975—),男,新疆奇台人,副教授,博士,主要从事生物源农药与农药毒理学研究。
 E-mail:maer63@sina.com.cn

脱氧鬼臼毒素为木脂素类化合物,主要存在于小檗科多年生草本类群鬼臼亚科八角莲属、桃儿七属、山荷叶属及足叶草属植物中^[1]。西北农林科技大学无公害农药研究服务中心从柏科植物砂地柏(*Sabina vulgaris* Ant.)中分离得到了该化合物,并发现其对菜青虫(*Pieris rapae*)有较强的胃毒和拒食作用,对小菜蛾(*Plutella xylostella*)具有一定的拒食和毒杀活性^[2-3],对粘虫(*Mythimna separata* Walker)的生长发育有显著抑制作用,且对其产卵有一定的影响^[4]。然而,有关该化合物对粘虫生殖系统发育及生殖力的影响尚不清楚。本研究以粘虫为试虫,系统地测定了脱氧鬼臼毒素对试虫生殖力及其卵巢发育相关的生理生化指标的影响,以期为进一步探讨该化合物的杀虫机理提供理论依据。

1 材料与方法

1.1 供试昆虫

供试害虫为粘虫(*Mythimna separata* W.),由西北农林科技大学无公害农药研究服务中心提供,室内($T=(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$, $H=(60\pm 5)\%$, $L:D=12:12$)饲养种群,选取生长发育一致、健康的 5 龄初期幼虫及 1 日龄成虫用于试验。

1.2 主要试剂

脱氧鬼臼毒素,由西北农林科技大学无公害农药研究服务中心从砂地柏中分离获得,并由兰州大学应用有机化学实验室鉴定(纯度 98%)。牛血清白蛋白、考马斯亮蓝 G250 等生化试剂均为 Sigma 公司产品。丙酮、乙醇、甲醇等均为分析纯产品。

1.3 脱氧鬼臼毒素对粘虫生殖力的影响

粘虫幼虫的处理采用小叶碟添加法^[5]。将脱氧鬼臼毒素分别配制成 0.1、0.3 和 0.5 mg/mL 的丙酮溶液,浸渍玉米叶片(1 cm×1 cm)3~5 s,待丙酮挥干后,饲喂 5 龄初幼虫,3 d 后加入新鲜无毒叶片,观察试虫生长发育情况,统计其化蛹率、异常蛹率、羽化率。成虫羽化后收集卵块,室内($T=(25\pm 2)^{\circ}\text{C}$, $H=(60\pm 5)\%$, $L:D=12:12$)培养直至孵化,统计其产卵量及孵化率。每处理重复 3 次,每重复 30 头试虫,对照用丙酮处理。

成虫的处理采用饲喂法。选取 1 日龄成虫若干,雌雄各半,分为 MF(雌、雄同时用药剂处理)、F(仅以药剂处理雌虫)和 M(仅以药剂处理雄虫)3 组,各组试虫分别饲喂含 0.3 和 0.5 mg/mL 脱氧鬼臼毒素体积分数 10%的槐花蜜水,共 6 个处理,每

处理重复 3 次,每重复 10 对试虫。各组均设立相应对照,以体积分数 10%的槐花蜜水饲喂。观察试虫的产卵情况,统计产卵量,计算产卵前期、产卵期和雌虫寿命。收集卵块,室内培养至孵化,统计其孵化率及幼虫存活率。

1.4 脱氧鬼臼毒素对粘虫雌虫卵巢发育的影响

选取 1 日龄雌虫 60 头,分成 2 组,饲以含 0.3 mg/mL 脱氧鬼臼毒素体积分数 10%的槐花蜜水,一组于 5 d 后解剖并测量试虫的卵巢管长度,称卵巢鲜质量;另外一组于 5 d 后取雌蛾的腹部,称其鲜质量,在 70 °C 恒温箱中烘干 24 h 后称其干质量,计算虫体含水量(虫体含水量=腹部干质量/腹部鲜质量×100%),采用索氏法测定腹部脂肪含量^[6]。

1.5 卵巢内可溶性蛋白和核酸含量的测定

以含 0.3 mg/mL 脱氧鬼臼毒素体积分数 10%的槐花蜜水饲喂 1 日龄粘虫雌虫,6 d 后解剖并测定卵巢内可溶性蛋白和核酸含量。

卵巢蛋白含量的测定方法:在生理盐水中取卵巢组织 100 mg,研磨匀浆,采用考马斯亮蓝 G250 法^[7]测定卵巢蛋白质含量,以牛血清白蛋白为标准蛋白作标准曲线。

核酸的分离参照张韵梅^[8]的方法,测定参照郝蕙玲等^[9]的方法。取粘虫雌虫卵巢组织 100 mg 于预冷的 0.5 mL 蒸馏水中,冰浴匀浆,加 0.5 mL 体积分数 20%三氯醋酸,搅匀后转移至离心管中,于 6 000×g 冷冻离心 10 min。弃上清液,沉淀中再加入体积分数 10%三氯醋酸,搅匀后于 6 000×g 冷冻离心 10 min。弃上清液,沉淀用体积分数 95%乙醇、氯仿-甲醇混合液($V(\text{氯仿}):V(\text{甲醇})=2:1$)及无水乙醇分别处理,以去除脂类杂质。最后向沉淀加入 0.3 mol/L KOH 0.5 mL,置于 37 °C 水浴保温 90 min,加入 6 mol/L HCl 82.5 μL ,冷却后离心收集上清液;再将沉淀悬于 0.42 mL 0.1 mol/L HCl,离心后收集上清液,合并 2 次上清液并以 0.1 mol/L HCl 定容至 1 mL,即得 RNA 分离液,待测。将沉淀悬于 1 mL 体积分数 5%的高氯酸溶液中,置 95 °C 水浴保温 15 min 后离心分离,取上清液用体积分数 5%的高氯酸溶液定容至 1 mL,即得 DNA 分离液,待测。将 RNA 和 DNA 分离液用体积分数 5%的高氯酸溶液稀释后于 260 nm 波长下测 A_{260} 值,计算 RNA 和 DNA 含量:RNA 含量($\mu\text{g/mL}$)= $A_{260}\times\text{稀释倍数}/0.286$;

DNA 含量($\mu\text{g/mL}$)= $A_{260}\times\text{稀释倍数}/0.2$ 。

2 结果与分析

2.1 脱氧鬼臼毒素对粘虫 5 龄幼虫生长发育的影响

由表 1 可知,脱氧鬼臼毒素对粘虫的生长发育具有明显的抑制作用,且随着处理浓度的增大,抑制作用增强。在 0.1,0.3 和 0.5 mg/mL 脱氧鬼臼毒素处理下,试虫的化蛹率分别为 43.33%,25.86%

和 17.75%;异常蛹率增高,分别为 15.45%,23.15%和 47.62%;羽化率下降,分别为 35.56%,22.49%和 13.34%;单雌产卵量明显下降,分别为 190.67,31.33和 9.37;孵化率也依次下降,分别为 54.55%,14.33%和 6.43%,各处理间及处理与对照间均差异显著。

表 1 脱氧鬼臼毒素对粘虫幼虫生长发育的影响(n=3)

Table 1 Effect of deoxypodophyllotoxin on the devenopment of the fifth instar larve of <i>Mythimna separata</i> W(n=3)					
脱氧鬼臼毒素/ (mg·mL ⁻¹) Concentration	化蛹率/% Pupation rate	异常蛹率/% Abnormal pupae rate	羽化率/% Eclosion	产卵量/(粒·头 ⁻¹) Oviposition quantity	孵化率/% Hatching rate
CK	88.89±1.11 a	3.75±0.04 a	83.33±1.92 a	223.33±11.47 a	90.31±0.73 a
0.1	43.33±1.92 b	15.45±0.69 b	35.56±1.11 b	190.67±6.44 b	54.55±1.39 b
0.3	25.86±1.29 c	23.15±0.92 c	22.49±1.26 c	9.37±0.33 d	14.33±0.59 c
0.5	17.75±0.81 d	47.62±2.38 d	13.34±0.25 d	31.33±1.86 c	6.43±0.36 d

注:同列数据后标不同小写字母表示经 Duncan 氏新复极差检验,差异显著(P<0.05)。表 2 同。
Note:Date in a column with the different small letters are significantly different at P0.05 by Duncan's multiple range test. The same is table 2.

2.2 脱氧鬼臼毒素对粘虫成虫生殖力的影响

由表 2 可知,在 0.3 和 0.5 mg/mL 脱氧鬼臼毒素处理下,MF、F 和 M 组单雌产卵量依次分别减少为 60.13,124.67,117.13 和 92.67,80.33,98.07;各组的孵化率、初龄幼虫存活率也明显下降;产卵前

期分别延长至 3.37,3.41,3.17 d 和 4.87,3.85,3.63 d;产卵期依次分别缩短为 4.03,4.24,6.11 d 和 3.93,3.89,6.26 d;雌蛾寿命分别减少为 8.67,8.83,9.29 d 和 8.41,8.13,8.98 d。除产卵期 M 组与对照差异不显著外,各处理与对照间均差异显著。

表 2 脱氧鬼臼毒素对粘虫成虫生殖力的影响

Table 2 Effect of deoxypodophyllotoxin on the fecundity of the adult moths							
组别 Group	脱氧鬼臼毒素/ (mg·mL ⁻¹) Concentration	单雌产卵量/ Oviposition quantity	孵化率/% Hatching rate	初龄幼虫 存活率/% Survival rate	产卵前期/d Pre-oviposition period	产卵期/d Spawning period	雌蛾寿命/d Life time
MF	CK	153.67±4.19 a	87.77±1.62 a	64.52±2.54 a	2.73±0.11 a	6.17±0.19 a	10.23±0.17 a
	0.3	60.13±1.68 c	49.91±1.31 b	44.32±1.49 b	3.37±0.24 b	4.03±0.12 b	8.67±0.28 b
	0.5	92.67±2.48 b	30.71±0.93 c	26.71±1.12 c	4.87±0.23 b	3.93±0.15 b	8.41±0.25 b
F	C K	167.21±1.07 a	87.18±0.71 a	66.28±2.47 a	2.73±0.11 a	6.17±0.19 a	10.23±0.17 a
	0.3	124.67±2.11 b	74.49±1.10 b	47.41±1.34 b	3.41±0.29 b	4.24±0.17 b	8.83±0.18 b
	0.5	80.33±1.27 c	51.26±1.13 c	37.25±2.21 c	3.85±0.13 b	3.89±0.22 b	8.13±0.11 c
M	C K	153.93±1.83 a	3.18±0.72 a	65.04±1.95 a	2.73±0.11 a	6.17±0.19 a	10.23±0.17 a
	0.3	117.13±1.21 b	55.07±0.97 b	46.76±1.58 b	3.17±0.15 b	6.11±0.17 a	9.29±0.11 b
	0.5	98.07±2.28 c	31.62±0.88 c	31.21±1.26 c	3.63±0.21 b	6.26±0.13 a	8.98±0.13 b

2.3 脱氧鬼臼毒素对粘虫雌蛾卵巢发育的影响

见表 3。

脱氧鬼臼毒素对粘虫雌蛾卵巢发育的影响结果

表 3 脱氧鬼臼毒素对粘虫雌蛾卵巢发育的影响

Table 3 Effect of deoxypodophyllotoxin on the development of ovary of adult armyworm <i>Mythimna separata</i> W.						
项目 Item	卵巢管长度/mm Length of ovary tube	卵巢鲜质量/mg Wet weight	腹部鲜质量/mg Wet weight	腹部干质量/mg Dry weight	虫体含水量/% Content of water	脂肪含量/% Content of fat
对照 CK	48.79±1.65	53.39±2.39	149.60±9.01	53.53±3.89	35.81±2.50	78.13±1.42
处理 Treatment	35.54±2.18*	31.24±2.07*	111.31±6.93*	37.46±3.53*	34.22±2.66	69.97±4.01*

注:*.表示处理与对照经 t 检验有显著差异(P<0.05)。下表同。
Note:*. means the controls and treatments are significantly different by t-test (P<0.05). The same is below.

由表 3 可知,用 0.3 mg/mL 脱氧鬼臼毒素处理粘虫成虫,其卵巢管长度和卵巢鲜重分别较对照下降了 27.36%和 41.48%;腹部鲜质量、干质量和腹

部脂肪含量分别较对照下降了 25.57%,30.16%和 10.45%;除含水量与对照差异不显著外,其他指标处理组与对照间均差异显著。

2.4 脱氧鬼臼毒素对粘虫雌蛾核酸和可溶性蛋白含量的影响

溶性蛋白含量均显著低于对照,分别较对照下降了18.93%,13.24%和16.39%。

由表 4 可知,药剂处理雌蛾的 DNA、RNA、可

表 4 脱氧鬼臼毒素对粘虫雌蛾卵巢内核酸和可溶性蛋白含量的影响

Table 4 Effect of deoxypodophyllotoxin on the content of nucleotide and soluble protein in the ovary of *Mythimna separata* W.

项目 Item	核酸/($\mu\text{g} \cdot \text{mL}^{-1}$) Content of nucleotide		卵巢中可溶性蛋白质含量/($\text{mg} \cdot \text{mL}^{-1}$) Content of soluble protein
	DNA	RNA	
对照 CK	4.06±0.25	51.6±0.36	0.92±0.02
处理 Treatment	3.29±0.16*	44.8±0.62*	0.77±0.01*

3 讨论与结论

本研究结果表明,脱氧鬼臼毒素可使粘虫幼虫的化蛹率和羽化率降低、所羽化成虫的产卵量明显减少且卵孵化率降低;可使粘虫成虫的产卵量、卵孵化率、初龄幼虫存活率明显降低,且产卵期缩短,试虫寿命也缩短;可抑制粘虫雌蛾卵巢管的发育,卵巢中核酸和可溶性蛋白含量也明显降低。可见,脱氧鬼臼毒素对粘虫的生殖力具有明显的抑制作用。昆虫的生长、分化、变态与生殖过程均受内分泌系统的调控,其中昆虫保幼激素和蜕皮激素在调控中起着关键作用^[10]。有研究发现,印楝素可扰乱昆虫内分泌活动而影响其生长发育^[11-12],或使雌虫不孕^[13],并可致昆虫脂肪体中 DNA、RNA 和有关蛋白质的浓度均降低^[14]。颜瑞丽等^[15]研究发现,脱氧鬼臼毒素可致使粘虫血淋巴中保幼激素和蜕皮激素滴度发生显著变化。因此作者推测,脱氧鬼臼毒素可能通过影响内分泌系统、扰乱激素平衡,从而干扰试虫的正常生长发育进程,导致粘虫雌蛾卵巢发育受到影响,引起雌蛾产卵量下降;而对核酸、卵巢中可溶性蛋白及脂肪含量的影响,可能影响到性成熟,造成卵的败育。对此尚需进一步深入研究脱氧鬼臼毒素对昆虫激素的影响及其与生殖发育之间的关系,并探讨脱氧鬼臼毒素对粘虫内分泌系统的干扰作用,为进一步揭示该化合物的杀虫机理提供依据。

[参考文献]

[1] 杨显志,邵 华,张玲琪,等. 鬼臼毒素资源研究现状 [J]. 中草药,2001,32(11):1042-1044.
Yang X Z, Shao H, Zhang L Q, et al. Present situation of studies on resources of podophyllotoxin [J]. Chinese Traditional and Herbal Drugs, 2001, 32(11): 1042-1044. (in Chinese)

[2] 王继栋. 砂地柏杀虫活性物质的分离、含量测定及制剂研究 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 1999.
Wang J D. The isolation, qualitative analysis and formulation studying of insecticidal ingredients from *Sabina Vulgaris* Ant

[D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 1999. (in Chinese)

[3] 高 蓉,田 喧,张 兴. 3 种鬼臼毒类物质杀虫活性测试 [J]. 西北农林科技大学学报:自然科学版,2001,29(1):71-74.
Gao R, Tian X, Zhang X. Study on insecticidal activities of 3 podophyllotoxin analogues [J]. Journal of Northwest A&F University: Nature Science Edition, 2001, 29(1): 71-74. (in Chinese)

[4] 林 璘. 鬼臼毒素和脱氧鬼臼毒素对粘虫生物活性初步研究 [J]. 西北农业学报, 2005, 14(1): 94-97.
Lin J. Bioactivity of podophyllotoxin and deoxypodophyllotoxin against *Mythimna sparata* [J]. Acta Agriculturae Boreali-occidentalis Sinica, 2005, 14(1): 94-97. (in Chinese)

[5] 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 deterrent and antifeedant effect of Meliaceae plant to some pests [J]. Journal of South China Agricultural University, 1983, 4(3): 1-7. (in Chinese)

[6] 陈毓荃. 生物化学实验方法和技术 [M]. 北京: 科学出版社, 2002: 107-109.
Chen Y Q. Biochemistry experimental technique and technology [M]. Beijing: Science Press, 2002: 107-109. (in Chinese)

[7] Bradford M M. A rapid sensitive method for the quantitation of microgram quantities of protein utilizing the principle of protein binding [J]. Anal Biochem, 1976, 72: 248-254.

[8] 张韵梅. 测定昆虫卵巢内接酸、蛋白质等含量的方法研究 [J]. 山东农业大学学报, 1987, 18(1): 49-54.
Zhang Y M. Study on the method of determination of contents of protein and acid in insect ovary [J]. Journal of Shandong Agricultural University, 1987, 18(1): 49-54. (in Chinese)

[9] 郝惠玲,林永丽,孙锦程,等. 昆虫生长调节剂影响德国小蠊发育繁殖的组织病理学变化及生化基础 [J]. 中国媒介生物学及控制, 2003, 14(1): 41-43.
Hao H L, Lin Y L, Song J C, et al. Pathoanatomy and biochemical studies on IGRs in relation to growth and reproduction in *Blattella germanica* [J]. Chinese Journal of Vector Biology and Control, 2003, 14(1): 41-43. (in Chinese)

[10] Feyerisen R. Juvenile hormone resistance: No PASaran [J]. Proc Natl Acad Sci USA, 1998, 95(6): 2725-2726.

[11] Siddiqui B S, Afshan F, Ghiasuddin F S, et al. Two insecticidal tetranortriterpenoids from *Azadirachta indica* [J]. Phyto-

chem,2000,53(3):371-376.

[12] Salehzadeh A, Akhkha A, Cushley W, et al. The antimitotic effect of the neem terpenoid azadirachtin on cultured insect cells [J]. Insect Biochemistry and Molecular Biology, 2003, 33 (7): 681-689.

[13] James F, Schuster P D J. Effects of natural and synthetic insecticides on sweetpotato whitefly *bemisia tabaci* (homoptera: Aleyrodidae) and its hymenopterous parasitoids [J]. Florida Entomo, 1991, 74(1): 60-68.

[14] Murugan K, Jahanmohini P, Babu R. Effect of neem kernel ex-

tract and neem oil on nutritive and reproductive physiology of *Heliothis armigera* [M]//Singhrp, Charims, Rahejaak, et al. Neem and Environment. New Delhi: Oxford & Publishing Co Pvt Ltd, 1996: 321-334.

[15] 颜瑞莉. 脱氧鬼臼毒素对粘虫内分泌系统的影响 [D]. 陕西杨凌: 西北农林科技大学, 2006.

Yan R L. Effect of Deoxypodophyllotoxin toxin on endocrine systems in *Mythimna separate* [D]. Yangling, Shaanxi: Northwest A&F University, 2006. (in Chinese)

(上接第 166 页)

[11] 张治科, 杨彩霞, 高立原. 5 种杀虫剂对甘草萤叶甲成虫的敏感性测定 [J]. 植物保护, 2004, 30(5): 78-79.

Zhang Z K, Yang C X, Gao L Y. Determination of sensitivity of five kinds of insecticides on the adult of *Diorhbda tarsalis* weise [J]. Plant Protection, 2004, 30(5): 78-79. (in Chinese)

[12] 张治科, 杨彩霞, 高立原. 甘草萤叶甲空间分布型的初步研究 [J]. 西北农业学报, 2005, 14(2): 74-77.

Zhang Z K, Yang C X, Gao L Y. Preliminary study on spatial distribution pattern of *Diorhbda tarsalis* Weise [J]. Acta Agriculturae Boreali-Occidentalis Sinica, 2005, 14(2): 74-77. (in Chinese)

[13] 张治科, 杨彩霞, 高立原, 等. 不同温度下甘草萤叶甲实验种群生命表 [J]. 植物保护学报, 2007, 34(1): 5-9.

Zhang Z K, Yang C X, Gao L Y, et al. Life table of the laboratory population of *Diorhbda tarsalis* Weise at different temperatures [J]. Acta Phytophylacica Sinica, 2007, 34(1): 5-9. (in Chinese)

[14] 杨彩霞, 高立原, 张治科. 甘草胭脂蚧空间分布型的初步研究 [C]//乔格侠, 陈洪俊, 肖晖. 昆虫学研究进展. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2005: 136-139.

Yang C X, Gao L Y, Zhang Z K. Preliminary study on spatial distribution of *Porphyrophora ningxia* [C]//Qiao G X, Chen H J, Xiao H. Study advance of Insect. Beijing: Publishing House of China Agricultural Sciences Technology, 2005: 136-139. (in Chinese)

[15] 杨彩霞, 高立原, 张治科. 宁夏甘草胭脂蚧发生和成灾机理的研究 [C]//李典谟, 伍一军, 武春生, 等. 当代昆虫学研究. 北京: 中国农业科学技术出版社, 2004: 624-627.

Yang C X, Gao L Y, Zhang Z K. Studies on occur and disaster of *Porphyrophora ningxia* [C]//Li D M, Wu Y J, Wu C S, et al. Present insect sstudy. Beijing: Publishing House of China Agricultural Sciences Technology, 2004: 624-627. (in Chinese)

[16] 杨彩霞, 高立原, 张治科. 宁夏甘草胭脂蚧发生规律及综合防治技术的研究 [J]. 世界科学技术-中医药现代化, 2006, 8(1): 128-135.

Yang C X, Gao L Y, Zhang Z K. Study on the occurrence rules and the technology of integrated control of *Porphyrophora Ningxiana* [J]. World Science Technology- Modernization of Traditional Chinese Medicines, 2006, 8(1): 128-135. (in Chinese)

[17] 周先叶, 王伯荪, 李鸣光, 等. 广东黑石顶自然保护区森林次生演替过程中的群落动态 [J]. 植物学报, 1999, 41(8): 877-886.

Zhou X Y, Wang B S, Li M G, et al. The community dynalncs of the forest secondary succession in Heishiding natural reserve of Guangdong province [J]. Acta Botanica Sinica, 1999, 41(8): 877-886. (in Chinese)

[18] 汪诗平, 李永宏, 王艳芬, 等. 不同放牧率对内蒙古冷蒿草原植物多样性的影响 [J]. 植物学报, 2001, 43(1): 89-96.

Wang S P, Li Y H, Wang Y F, et al. Influence of diferent stoddng rates on plant diversity of *Artemisia frigida* community in Inner Mongolia Steppe [J]. Acta Botanica Sinica, 2001, 43(1): 89-96. (in Chinese)