

ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

生态学报

Acta Ecologica Sinica



第 32 卷 第 9 期 Vol.32 No.9 **2012**

中国生态学学会
中国科学院生态环境研究中心
科学出版社

主办
出版



中国科学院科学出版基金资助出版

生态学报

(SHENGTAI XUEBAO)

第 32 卷 第 9 期

2012 年 5 月 (半月刊)

目 次

不同土地覆被格局情景下多种生态系统服务的响应与权衡——以雅砻江二滩水利枢纽为例·····	葛 菁, 吴 楠, 高吉喜, 等 (2629)
放牧对小嵩草甸生物量及不同植物类群生长率和补偿效应的影响·····	董全民, 赵新全, 马玉寿, 等 (2640)
象山港日本对虾增殖放流的效果评价·····	姜亚洲, 凌建忠, 林 楠, 等 (2651)
城市景观破碎化格局与城市化及社会经济发展水平的关系——以北京城区为例·····	仇江啸, 王效科, 逯 非, 等 (2659)
江河源区高寒草甸退化序列上“秃斑”连通效应的元胞自动机模拟·····	李学玲, 林慧龙 (2670)
铁西区城市改造过程中建筑景观的演变规律·····	张培峰, 胡远满, 熊在平, 等 (2681)
商洛低山丘陵区农林复合生态系统光能竞争与生产力·····	彭晓邦, 张硕新 (2692)
基于生物量因子的山西省森林生态系统服务功能评估·····	刘 勇, 李晋昌, 杨永刚 (2699)
不同沙源供给条件下柽柳灌丛与沙堆形态的互馈关系——以策勒绿洲沙漠过渡带为例·····	杨 帆, 王雪芹, 杨东亮, 等 (2707)
桂西北喀斯特区原生林与次生林凋落叶降解和养分释放·····	曾昭霞, 王克林, 曾馥平, 等 (2720)
江西九连山亚热带常绿阔叶林优势种空间分布格局·····	范 娟, 赵秀海, 汪金松, 等 (2729)
秦岭山地锐齿栎次生林幼苗更新特征·····	康 冰, 王得祥, 李 刚, 等 (2738)
极端干旱环境下的胡杨木质部水力特征·····	木巴热克·阿尤普, 陈亚宁, 等 (2748)
红池坝草地常见物种叶片性状沿海拔梯度的响应特征·····	宋璐璐, 樊江文, 吴绍洪, 等 (2759)
改变 C 源输入对油松人工林土壤呼吸的影响·····	汪金松, 赵秀海, 张春雨, 等 (2768)
啮齿动物捕食压力下生境类型和覆盖处理对辽东栎种子命运的影响·····	闫兴富, 周立彪, 刘建利 (2778)
上海闵行区园林鸟类群落嵌套结构·····	王本耀, 王小明, 王天厚, 等 (2788)
胜利河连续系统中蜉蝣优势种的生产量动态和营养基础·····	邓 山, 叶才伟, 王利肖, 等 (2796)
虾池清塘排出物沉积厚度对老鼠簕幼苗的影响·····	李 婷, 叶 勇 (2810)
澳大利亚亚热带不同森林土壤微生物群落对碳源的利用·····	鲁顺保, 郭晓敏, 芮亦超, 等 (2819)
镜泊湖岩溶台地不同植被类型土壤微生物群落特征·····	黄元元, 曲来叶, 曲秀春, 等 (2827)
浮床空心菜对氮循环细菌数量与分布和氮素净化效果的影响·····	唐莹莹, 李秀珍, 周元清, 等 (2837)
促分解菌剂对还田玉米秸秆的分解效果及土壤微生物的影响·····	李培培, 张冬冬, 王小娟, 等 (2847)
秸秆还田与全膜双垄集雨沟播耦合对半干旱黄土高原玉米产量和土壤有机碳库的影响·····	吴荣美, 王永鹏, 李凤民, 等 (2855)
赣江流域底泥中有机氯农药残留特征及空间分布·····	刘小真, 赵 慈, 梁 越, 等 (2863)
2009 年徽州稻区白背飞虱种群消长及虫源性质·····	刁永刚, 杨海博, 瞿钰锋, 等 (2872)
木鳖子提取物对朱砂叶螨的触杀活性·····	郭辉力, 师光禄, 贾良曦, 等 (2883)
冬小麦气孔臭氧通量拟合及通量产量关系的比较·····	佟 磊, 冯宗炜, 苏德·毕力格, 等 (2890)
专论与综述	
基于全球净初级生产力的能源足迹计算方法·····	方 恺, 董德明, 林 卓, 等 (2900)
灵长类社会玩耍的行为模式、影响因素及其功能风险·····	王晓卫, 赵海涛, 齐晓光, 等 (2910)
问题讨论	
中国伐木制品碳储量时空差异分析·····	伦 飞, 李文华, 王 震, 等 (2918)
研究简报	
森林自然更新过程中地上氮贮量与生物量异速生长的关系·····	程栋梁, 钟全林, 林茂兹, 等 (2929)
连作对芝麻根际土壤微生物群落的影响·····	华菊玲, 刘光荣, 黄劲松 (2936)
刈割对外来入侵植物黄顶菊的生长、气体交换和荧光的影响·····	王楠楠, 皇甫超河, 陈冬青, 等 (2943)
不同蔬菜种植方式对土壤固碳速率的影响·····	刘 杨, 于东升, 史学正, 等 (2953)
巢湖崩岸湖滨基质-水文-生物一体化修复····· 陈云峰, 张彦辉, 郑西强 (2960)	

期刊基本参数: CN 11-2031/Q * 1981 * m * 16 * 336 * zh * P * ¥ 70.00 * 1510 * 36 * 2012-05



封面图说: 在交配的雨蛙——雨蛙为两栖动物, 世界上种类达 250 种之多, 分布极广。中国的雨蛙仅有 9 种, 除西部一些省份外, 其他各省(区)均有分布。雨蛙体形较小背面皮肤光滑, 往往雄性绿色, 雌性褐色, 其指、趾末端多膨大成吸盘, 便于吸附攀爬。多生活在灌丛、芦苇、高秆作物上, 或塘边、稻田及其附近的杂草上。白天匍匐在叶片上, 黄昏或黎明频繁活动, 捕食能力极强, 主要以昆虫为食。特别是在下雨以后, 常常 1 只雨蛙先叫几声, 然后众蛙齐鸣, 声音响亮, 每年在四、五月份夜间发情交配。

彩图提供: 陈建伟教授 北京林业大学 E-mail: cites.chenjw@163.com

DOI: 10.5846/stxb201103140313

郭辉力, 师光禄, 贾良曦, 王东峰, 王有年. 木鳖子提取物对朱砂叶螨的触杀活性. 生态学报, 2012, 32(9): 2883-2889.

Guo H L, Shi G L, Jia L X, Wang D F, Wang Y N. Evaluation acaricidal activities of *Momordica cochinchinensis* extracts against *Tetranychus cinnabarinus*. Acta Ecologica Sinica, 2012, 32(9): 2883-2889.

木鳖子提取物对朱砂叶螨的触杀活性

郭辉力¹, 师光禄^{1,2}, 贾良曦², 王东峰², 王有年^{1,*}

(1. 农业部都市农业(北方)重点开放实验室, 北京 102206; 2. 北京农学院生物技术学院, 北京 102206)

摘要:测定了木鳖子提取物对朱砂叶螨的触杀活性。用甲醇、氯仿、石油醚 3 种不同极性的溶剂提取, 石油醚提取率最高为 30.79%, 且对朱砂叶螨成螨和卵的触杀活性均高于其他两种溶剂的提取物, 24 h 校正死亡率分别为 77.52% 和 72.04%。用甲醇对石油醚提取物萃取, 发现甲醇萃取物活性明显高于石油醚部分, 对成螨和卵处理 24 h 后的校正死亡率分别为 89.60% 和 74.65%, 产卵抑制率为 62.74%, 驱避率为 58.23%。柱层析对甲醇萃取物进行分离得到 10 种组分, 组分 5 活性最高, 浓度为 2 mg/mL 时, 24 h 校正死亡率为 86.15%。用薄层层析和气相色谱质谱联用仪分别检测组分 5 纯度和主成分, 初步确定活性成分为 α -菠菜甾醇。

关键词:木鳖子; 朱砂叶螨; 生物活性

Evaluation acaricidal activities of *Momordica cochinchinensis* extracts against *Tetranychus cinnabarinus*

GUO Huili¹, SHI Guanglu^{1,2}, JIA Liangxi², WANG Dongfeng², WANG Younian^{1,*}

1 Key Laboratory of Urban Agriculture (North) of Ministry of Agriculture P. R. China, Beijing 102206, China

2 College of Biotechnology, Beijing University of Agriculture, Beijing 102206, China

Abstract: Acaricidal activities of *Momordica cochinchinensis* extracts against *Tetranychus cinnabarinus* were tested in laboratory using slide-dip method. *M. cochinchinensis* was extracted using methanol, chloroform and petroleum ether respectively. Liquid-liquid partition technique was used to separate the chemical compounds. The acaricidal components were separated by column chromatography and thin layer chromatography. Finally, the principal active component was tested by GC-MS. Cultures of *T. cinnabarinus* were maintained in the laboratory for three years without exposure to any acaricide. Compared with methanol and chloroform extracts, petroleum ether extracts of *M. cochinchinensis* showed the highest extraction rate of 30.79%, which is significantly higher than the other solvents extraction rate, and the methanol extraction rate was only 4.58%. The bioassay result showed that the substance extracted using petroleum ether was effective than the others, the corrected mortalities of *T. cinnabarinus* adult mites was 77.52% after 24 h treatment at the concentration of 2 mg/mL. The Duncan's test showed that the contact toxicity of the crude extracts from different solvents was significantly different from each other ($P < 0.05$). Petroleum ether extract of *T. cinnabarinus* was found to have high ovicidal activity to *T. cinnabarinus* and the corrected mortalities of eggs was 72.04%. While very low ovicidal activity was observed with Methanol and chloroform extracts, the corrected mortalities of eggs were 9.85% and 45.56% respectively. The results of liquid-liquid partition showed that acaricidal activity of methanol purification was significantly higher than the

基金项目:国家自然科学基金资助项目(31101509);北京市自然科学基金重点项目(5111001);北京市自然科学基金项目(6092007);北京市教委重点项目(KZ201010020016);北京市教委平台建设项目(PXM2010_014207_098661);北京市教委科技成果转化与产业化(PXM2011_014207_000026);北京市科委科研计划项目(Z111100066111009);北京市自然科学基金资助项目(6122005)

收稿日期:2011-03-14; 修订日期:2011-07-19

* 通讯作者 Corresponding author. E-mail: wyn1951@126.com

part of petroleum ether, the corrected mortalities of adult mites and eggs were 89.60% and 74.65% after 24 h treatment at the concentration of 2 mg/mL, while the part of petroleum ether showed the lower contact toxicity, the corrected mortalities of adult mites and eggs were 70.15% and 25.70%. The oviposition inhibition rate of methanol purification was 62.74% and the repellency rate was 58.23%. Afterwards, the methanol purification of *M. cochinchinensis* was further purified by silica gel column chromatography, and 10 fractions were got. The acaricidal activity of these 10 fractions to *T. cinnabarinus* were determined. Fraction 5, 6, 7 had significantly acaricidal activity. Fraction 5 was found to have the highest acaricidal activity to *T. cinnabarinus*, the corrected mortality of adult mites was 86.15% after 24 h treatment at the concentration of 2 mg/mL. The median lethal dose was 0.9399 mg/mL and 95% confidence limit was 0.5517—1.6012 mg/mL. The purity and principal component of fraction 5 were detected by TLC and GC-MS respectively. One major constituent was identified by comparison of mass spectral of each peak with those of authentic samples in a Mass Spectra library and confirmed by comparison of retention time obtained by GC with those of authentic compounds. The peak which appeared at about 53.52 min was α -spinasterol with matching of 94%. It was found to have high acaricidal activity to *T. cinnabarinus*. At the same time the acaricidal activity of α -spinasterol standard was tested. The corrected mortality of adult mites was 92.37% after 24 h treatment at the concentration of 2 mg/mL. So α -spinasterol may be the main acaricidal component of *M. cochinchinensis* extraction. These data provided useful information for the use of *M. cochinchinensis* as a novel resource of botanical acaricide.

Key Words: *Momordica cochinchinensis*; *Tetranychus cinnabarinus*; acaricidal activity

朱砂叶螨是一种世界范围的农林害虫,我国各地均有发生,以成螨在叶背吸取汁液来危害植物,四季豆、豇豆、瓜类叶片受害后,形成枯黄色细斑,严重时全叶片干枯脱落,缩短结果期,严重影响产量。目前,世界各国对螨的控制多使用有机合成类杀螨剂,由于这些杀螨剂的长期使用,导致螨类产生了不同程度的抗药性^[1]。与此同时,合成类杀螨剂对生态环境的不良影响也引起了人们的普遍关注^[2-3]。因此,低残留、不易产生抗药性的植物源杀螨剂越来越受到人们的重视。

中药木鳖子为葫芦科植物木鳖(*Momordica cochinchinensis*)的干燥成熟种子,始载于宋《开宝本草》,具有散结消肿、攻毒疗疮之功效,可用于治疗疮疡肿毒、乳痈、瘰癧、痔瘻、干癣、秃疮等症^[4]。木鳖子含多量木鳖子皂苷,被水解后生成齐墩果酸和糖。阚连娣等^[5]从木鳖子脂肪油中分离并鉴定了7种化合物,分别为栝楼仁二醇、异栝楼仁二醇、5-脱氢栝楼仁二醇、7-氧代二氢栝楼仁二醇、 β -谷甾醇、豆甾-7-烯-3 β 醇、豆甾-7, 22-二烯-3 β 醇等化合物。木鳖子水煎液对白色念珠菌具有一定的抑制作用,最低抑菌浓度为 2.5 mg/mL,抑菌效价为 50 mg/mL^[6]。大鼠口服或皮下注射木鳖子皂苷,能显著抑制角叉菜胶引起的足踝浮肿^[7]。木鳖子煎剂对嗜热链球菌及人蠕形螨也有一定作用^[8]。关于木鳖子提取物对朱砂叶螨的活性研究少见报道。

测试提取分离过程中不同萃取段或分离段对朱砂叶螨的毒杀活性,每次均选取活性相对较高的部分进行下一步分离工作,逐步追踪杀螨活性成分。

1 材料与方法

1.1 供试材料

木鳖子购于北京市同仁堂大药房。将干燥的木鳖子用高速粉碎机(Pulverizer-6202,北京环亚天元机械技术有限公司)粉碎后过40目筛,放入冰箱(Electrolux BCD-281EA,青岛海尔股份有限公司)中4℃条件下储藏备用。

供试螨为朱砂叶螨成螨。实验室内用豇豆(*Vigna unguiculata*)幼苗饲养3a,多代繁殖,没有接触过任何杀螨剂,可视为敏感品系。饲养条件为温度(25±1)℃,相对湿度(50±10)%,光照18h:6h(L:D)^[9]。取饲养一致、活动力强的成螨供试。

1.2 提取方法

将 150 g 木鳖子的粉碎物平均分成 3 份,分别用 250 mL 甲醇、氯仿、石油醚(分析纯,北京化工厂)3 种不同极性的有机溶剂浸提 3—5 d,过滤,重复 3 次,分别合并浸提液于旋转蒸发仪(Buchi Rotavapor R-220)中减压浓缩,得粗提物浸膏,计算提取率。用电子天平(AC-CU-LAB)准确称取 0.02 g 浸膏,加 0.2 mL 吐温-80 搅拌,待浸膏与吐温-80 完全混合后,用蒸馏水稀释,配成浓度为 2 mg/mL 的药液,进行生物活性测定。

1.3 杀螨活性成分的分离及确定

1.3.1 液-液分配法

根据杀螨活性筛选的初步结果,选择杀螨活性较高的木鳖子石油醚提取物进行进一步分离。将木鳖子的石油醚浸提液装入分液漏斗中,加入等体积的甲醇溶液萃取 3 次,合并萃取液,减压浓缩。

1.3.2 柱层析分离法

选用 200—300 目柱层析硅胶(青岛海洋化工厂)用中压层析(Buchi, C-615)进行柱层析分离。准确称取甲醇萃取物 5.0 g,加一定量的硅胶拌匀作为大柱上样样品,干法装柱。层析硅胶柱用氮气吹实,石油醚润洗,之后依次用纯石油醚、石油醚:乙酸乙酯(40:1,20:1,10:1,5:1,3:1,3:2,1:1)、乙酸乙酯洗脱,控制洗脱流速为 10 mL/min,分布收集,每瓶 50 mL。然后用薄层检测(青岛海洋化工厂),硫酸显色剂显色,根据 R_f 值的大小合并相同组分,依次得到编号 1 至 10 的 10 种组分,均配成 2 mg/mL 的药液,进行杀螨活性测定。

1.4 生物活性测定

1.4.1 成螨触杀作用

参考 FAO 推荐的玻片浸渍法^[10]并稍加改进,将双面胶剪成 3 cm 长贴在载玻片(江苏盐城市恒泰玻璃仪器厂)的一端,用镊子揭去上面的纸片,用零号毛笔(北京京华毛笔厂)挑取大小一致、个体鲜明、行动活泼的雌成螨,将其背部粘在双面胶带上,不可粘住螨足、螨须和口器,保证螨足自由活动,每片粘 30 头左右,粘好的玻片在体视镜(SZM-45B3,浙江舜宇光电有限公司)下检查,剔除死亡和不活泼的个体,记录活螨数,将粘有螨的玻片一端浸于已配好的药液中 5 s 后取出,用吸水纸吸去多余的药液。于饲养环境相同条件下培养,24 h 后检查结果,用毛笔轻触螨体,肢体不动者为死亡。每个处理设 3 个重复,以蒸馏水加 1% 体积的吐温-80 为空白对照^[11]。

1.4.2 杀卵作用

参考 FAO 推荐的叶片残毒法并加以改进,采集新鲜的豇豆叶片,叶柄截去 0.5 cm,并在叶柄上包上湿棉球,叶背朝上放在垫有一层湿棉花的培养皿中,在叶背上划出一个约 3 cm² 的区域,区域周围用湿棉条围住,用零号毛笔往区域内接雌成螨 20 头,置养虫室内任其产卵 24 h,移去雌成螨,检查记录卵粒数后在相同条件下进行培养,当卵龄达到 36—48 h 时进行测定,用微型喷雾器将药液喷于叶片背面,叶片晾干后重新放回培养皿中,每日往培养皿中加水保湿并观察卵孵化情况,待对照组卵全部孵化并发育成若螨(约 5 d)后,处理卵仍没有孵化视为死亡,检查统计各处理的死亡率。每个处理设 3 次重复,以蒸馏水加 1% 体积的吐温-80 为空白对照。

1.4.3 产卵抑制作用

采集新鲜的豇豆叶片,叶柄截去 0.5 cm,并在叶柄上包上湿棉球,叶背朝上放在垫有一层湿棉花的培养皿中,在叶背上划出一个约 3 cm² 的区域,区域周围用湿棉条围住,区域内叶片涂布药液后晾干,用零号毛笔接雌成螨 20 头,于养虫室内培养,统计 24、48、72 h 的产卵量。每个处理设 3 次重复,以蒸馏水加 1% 体积的吐温-80 为空白对照。计算产卵抑制指数和产卵抑制率。

$$\text{产卵抑制指数} = (\text{对照产卵数} - \text{处理产卵数}) / (\text{对照产卵数} + \text{处理产卵数})$$

$$\text{产卵抑制率}(\%) = (\text{对照产卵数} - \text{处理产卵数}) / \text{对照产卵数} \times 100\%$$

1.4.4 驱避活性测定

取新鲜豇豆叶片,叶背朝上放在垫有一层湿棉花的培养皿中,叶片边缘用湿润的细棉条围住,防止害螨逃

逸。用毛笔蘸取 2 mg/mL 的药液,均匀地涂在叶片主脉两侧(包括边缘棉条),晾干后,形成药膜,作好标记。用零号毛笔将 40 头健康雌成螨接到叶片中脉上。每个处理设 3 次重复,以蒸馏水加 1% 体积的吐温-80 为对照。分别于 12、24、48、72 h 观察叶片两侧害螨驻留情况(中脉上不算),记载叶片上螨数,算出驱避率。

驱避率(%) = (对照叶片的螨数 - 处理叶片的螨数) / 对照叶片的螨数 × 100%

1.5 组分 5 纯度初步鉴定

采用二维薄层层析法检测。用内径 0.5 mm 点样毛细管蘸取稀释后组分 5 点于硅胶板(TLC silica gel 60 F₂₅₄)上,展开剂为石油醚:乙酸乙酯(2:1),硫酸显色剂显色后观察点的数量,沿垂直方向重新展开显色观察,显示多个点表明成分复杂,显示一个点表明成分较单一。

1.6 GC-MS 分析条件

色谱柱为 Agilent HP-5(30 m×0.25 mm×0.25 μm)石英毛细管色谱柱,进样口温度 250 °C,进样量 1 μL,载气 N₂,载气流量 1 mL/min,分流比 10:1,柱温 50 °C(5 °C/min)—280 °C(保持 10 min)。离子源 EI 源,离子源温度 230 °C,接口温度 250 °C,质量范围 20—550 amu。

1.7 数据处理

试验结果采用 SPSS11.5 软件进行分析。完成试验数据方差分析和 Duncan's 检验。计算毒力回归方程、致死中浓度和 95% 置信限。用 Abbott 公式计算校正结果^[12]。

2 结果与分析

2.1 木鳖子不同溶剂提取物对朱砂叶螨生物活性的测定

甲醇、氯仿、石油醚 3 种不同溶剂对木鳖子的提取率结果见表 1。从表 1 中可以看出:石油醚提取率最高为 30.78%,氯仿次之,甲醇提取率最低。说明木鳖子中极性较小的物质含量相对较多,而极性较大的物质含量较少。将 3 种提取物配制成质量浓度为 2 mg/mL 的溶液,对朱砂叶螨成螨和卵进行触杀活性测定,对照为 1% 吐温-80 溶液,结果见表 2。3 种溶剂提取物对成螨的触杀作用没有显著差异,但对卵的触杀结果表明石油醚提取物对卵的触杀活性显著($P < 0.05$)高于甲醇和氯仿提取物,其 24 h 后的校正死亡率为 72.04%。

表 1 3 种不同溶剂对木鳖子的提取率

Table 1 The extraction rates of *M. cochinchinensis* with three different solvents

提取溶剂 Extract solvent	甲醇 Methanol	氯仿 Chloroform	石油醚 Petroleum ether
提取率 Extract rate/%	4.58±0.21	22.47±0.08	30.79±0.19

表 2 不同溶剂提取物对朱砂叶螨成螨和卵的触杀活性

Table 2 The contact toxicity against *T. cinnabarinus* with the extracts using three different solvents

提取溶剂 Extract solvent	成螨 Contact toxicity to adult mites		卵 Contact toxicity to eggs	
	死亡率 Mortality/%	校正死亡率 Corrected mortality/%	死亡率 Mortality/%	校正死亡率 Corrected mortality/%
甲醇 Methanol	73.33±3.81a	69.23±4.23a	15.17±1.28c	9.85±1.36c
氯仿 Chloroform	76.99±1.18a	73.45±1.24a	48.77±4.85b	45.56±5.15b
石油醚 Petroleum ether	79.77±3.35a	77.52±3.73a	73.49±2.84a	72.04±3.04a

同一列中相同字母表示差异不显著($P < 0.05$, Duncan's 检验)

2.2 木鳖子萃取物对朱砂叶螨生物活性的测定

为了进一步追踪木鳖子中的活性成分,采用液-液分配法用甲醇溶液对木鳖子石油醚提取物进行萃取,分别测试各萃取部分的生物活性。将两种萃取物配置成质量浓度为 2 mg/mL 的溶液进行活性测定,对照为 1% 吐温-80 溶液。对成螨和卵的触杀活性结果见表 3,甲醇萃取部分对成螨和卵的触杀效果显著高于石油醚部分,对成螨和卵的触杀校正死亡率分别是 89.60% 和 74.65%。而石油醚对成螨的触杀校正死亡率为 70.15%,对卵的触杀校正死亡率更低,仅为 25.70%。说明活性成分主要存在于甲醇部分。

各萃取物对朱砂叶螨的产卵抑制作用结果见表 4,甲醇萃取部分的产卵抑制率显著高于石油醚萃取部

分,即产卵抑制的活性成分存在于甲醇萃取部分中。从 24 h,48 h,72 h 后的测试结果看出,随着时间的推移,各萃取物的抑制效果逐渐增强,说明药物作用结果与时间呈正相关。

表 3 木鳖子萃取物对朱砂叶螨成螨和卵的触杀活性
Table 3 The contact toxicity against *T. cinnabarinus* with the purification of *M. cochinchinensis*

萃取溶剂 Purification solvent	成螨 Contact toxicity to adult mites		卵 Contact toxicity to eggs	
	死亡率 Mortality/%	校正死亡率 Corrected mortality/%	死亡率 Mortality/%	校正死亡率 Corrected mortality/%
甲醇 Methanol	92.03±2.05a	89.60±2.68a	77.35±2.22a	74.65±2.49a
石油醚 Petroleum ether	77.11±4.37b	70.15±5.70b	33.61±5.44b	25.70±6.09b

表 4 木鳖子萃取物对朱砂叶螨产卵的影响
Table 4 Oviposit effect of *T. cinnabarinus* with the purified extracts of *M. cochinchinensis*

溶剂 Solvent	产卵抑制指数 Oviposition inhibition index			产卵抑制率 Oviposition inhibition rate/%		
	24 h	48 h	72 h	24 h	48 h	72 h
甲醇 Methanol	0.3065±0.0711	0.4309±0.0715	0.4579±0.0486	48.67±0.0841a	60.10±0.0681a	62.74±0.0455a
石油醚 Petroleum ether	0.2292±0.0495	0.2700±0.0462	0.3425±0.0160	32.12±0.0667b	41.98±0.0495b	51.01±0.0177b

各萃取物对成螨的驱避活性测试结果表明,甲醇萃取物配制成溶液对成螨作用 12,24,48,72 h 后的驱避率分别为 72.53%,58.23%,55.07% 和 44.26%,石油醚萃取物的驱避率分别为 59.49%,41.43%,39.68% 和 34.92%。从图 1 可以明显看出 12 h 到 24 h 的驱避率下降最明显,说明药物的最佳作用期在处理前一天内。

2.3 木鳖子甲醇萃取物柱层析分离后的活性测定

将甲醇部分的萃取物过中压柱,用石油醚和乙酸乙酯不同配比的溶液洗脱,经薄层检测,显色剂显色,Rf 值相近的组分合并共得 10 种组分。分别测定各组分对朱砂叶螨成螨的触杀活性,结果见表 5。其中组分 5、6、7 的校正死亡率显著高于其余组分,分别为 86.15%、83.27% 和 84.13%。为进一步了解组分 5、6、7 的触杀毒力,设定浓度梯度测定各组分对成螨的毒力回归方程、相关系数、致死中浓度 LC_{50} 和 95% 置信限,结果见表 6。组分 5 的 LC_{50} 最低为 0.9399 mg/mL。

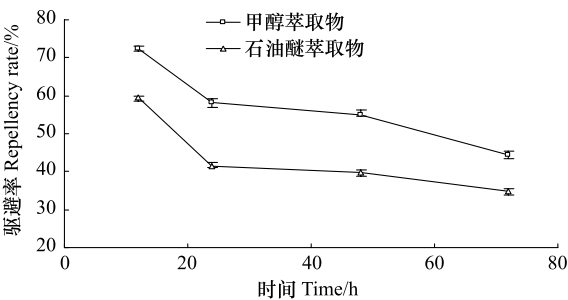


图 1 不同萃取物对朱砂叶螨的驱避活性
Fig. 1 Repellency rate of different partitions against *T. cinnabarinus*

表 5 木鳖子甲醇萃取物柱层析后所得组分对朱砂叶螨成螨的触杀活性
Table 5 The liquid chromatography fractions against *T. cinnabarinus* with the purification of methanol

组分 Fraction	石油醚:乙酸乙酯 Petroleum ether:Ethyl acetate	死亡率 Mortality/%	校正死亡率 Corrected mortality/%
1	40:1	68.22±1.32b	65.87±0.95b
2	40:1	33.80±1.78d	28.90±3.15d
3	40:1	48.29±3.08cd	44.47±0.20cd
4	5:1	47.07±1.43cd	43.14±1.68cd
5	3:1	86.64±0.45a	86.15±2.51a
6	3:1	83.87±0.18a	83.27±1.42a
7	3:2	84.69±1.36a	84.13±0.37a
8	1:1	49.61±2.27c	45.74±2.61c
9	1:1	18.47±0.83e	12.19±1.73e
10	100% 乙酸乙酯	25.89±2.89e	20.18±0.94e

表 6 组分 5、6、7 对朱砂叶螨成螨的触杀毒力

Table 6 Contract toxicities of fraction5,6,7 against <i>T. cinnabarinus</i>				
组分 Fraction	毒力回归方程 Toxicity regression equation	相关系数 Correlation coefficient	LC ₅₀ / (mg/mL)	95% 置信限 95% confidence limit/ (mg/mL)
5	$y=2.1093x+5.0568$	0.9533	0.9399	0.5517—1.6012
6	$y=2.0264x+4.8199$	0.9765	1.2270	0.7831—1.9229
7	$y=1.8493x+4.8794$	0.9208	1.1626	0.7022—1.8427

2.4 组分 5 纯度及主成分测定

二维薄层层析结果显示组分 5 在层析板对角线上只显示一个紫红色点,Rf 值为 0.54,初步确定组分 5 成分较单一。GC-MS 测试总离子流见图 2。保留时间 53.526 min 峰的相对峰面积为 59.34%,其相应质谱通过 NIST 标准质谱图库进行检索,名称为 α-菠菜甾醇 (Chondrillasterol, α-spinasterol),匹配度 94%。其它峰经检测发现并不是木鳖子提取物中的成分。α-菠菜甾醇纯品配成 2 mg/mL 的溶液,经测定该纯品具有较高的杀螨活性,对成螨作用 24 h 后的校正死亡率为 92.37%,故推定 α-菠菜甾醇为主要活性成分。

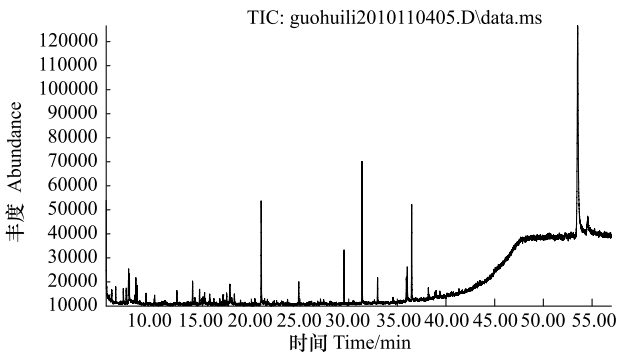


图 2 组分 5 总离子流图
Fig. 2 The ion current graph of fraction 5

3 结论与讨论

木鳖子是一味散血热、除痈毒之要药,目前在多种癌症的治疗方剂中出现,且效果显著。木鳖子的水提物和醇提物对肿瘤细胞的生长有明显的抑制作用,对黑色素瘤细胞 B16 的抑制作用最为明显^[13],但在农业害螨的防治方面鲜见报道。笔者通过溶剂提取、萃取、中压柱层析等方法,逐步分离并跟踪其生物活性,发现木鳖子石油醚提取物经甲醇萃取后,在朱砂叶螨成螨和卵的触杀以及产卵抑制和驱避方面的活性均有显著提高。对成螨和卵处理 24 h 后的校正死亡率分别为 89.60% 和 74.65%,产卵抑制率为 62.74%,驱避率为 58.23%。中压柱层析分离进一步缩小了活性成分的存在范围,根据薄层检测合并相同流分,共得十种组分,其中组分 5 的活性最高,对成螨处理 24h 后的校正死亡率为 86.15%。活性成分干扰螨的正常发育,具体表现为生长发育延缓,抑制产卵,使卵不能正常孵化,从而降低成螨的群体数量。另外药物产生抑制性刺激,影响螨栖息场所的选择,即对其有一定的驱避性。通过对用药后螨体的观察发现,螨先是静止不动,进而兴奋、麻痹,直至死亡,处理后的螨体表面出现皱缩、脱水现象。

据报道木鳖子主要化学成分包括木鳖子酸 (momordic acid)、丝石竹皂甙元 (gypsogenin)、齐墩果酸 (oleanolic acid)、α-桐酸 (α-elaeostearic acid)、气基酸、甾醇、木鳖子皂苷 (momordin) 等。木鳖子水、醇浸液静脉或肌肉注射,动物均于数日内死亡。小鼠静脉注射木鳖子皂苷半数致死量为 32.35 mg/kg、腹腔注射半数致死量为 37.34 mg/kg^[14]。木鳖子水煎剂长期给药可以造成大鼠肝脏、肾脏损伤,血中 ALT 及 BL 含量显著升高,血糖下降^[15]。木鳖子中还有海藻糖、α-菠菜甾醇、木鳖糖蛋白^[16,17]、氨基酸及蛋白质等。本研究发现木鳖子中存在生物活性成分对朱砂叶螨有较高的触杀作用,通过活性跟踪检测,得到组分 5 的杀螨活性最高,经 GC-MS 初步推测组分 5 主要活性成分为 α-菠菜甾醇,这与久保田合彦等^[18]报道 α-菠菜甾醇存在于木鳖子中的结果一致,但该物质的作用方式、生化机理和田间试验等有待进一步研究。

References:

[1] Wang X S, Yu Y, Wang D Z, Liu Q, Yu Z X, Xie J M, Zheng X C, Jin N R. Diagnosis and treatment of common skin diseases in dogs. Progress in Veterinary Medicine, 2001, 22(2): 92-94.
[2] Strong L. Overview: the impact of avermectins on pastureland ecology. Veterinary Parasitology, 1993, 48(1/4): 3-17.

- [3] Halley B A, Jacob T A, Lu A Y H. The environmental impact of the use of ivermectin; environmental effects and fate. *Chemosphere*, 1989, 18(7/8): 1543-1563.
- [4] Chinese Pharmacopoeia Commission. Chinese Pharmacopoeia. Department I. Beijing: Chemical Industry Press, 2005, 44-44.
- [5] Kan L D, Hu Q, Chao Z M, Song X, Cao X L. Chemical constituents of unsaponifiable matter from seed oil of *Momordica cochinchinensis*. *China Journal of Chinese Materia Medica*, 2006, 31(17): 1441-1444.
- [6] Ouyang L M, Huang X M, Wu X W, Zhang B, Liu H S. Experimentd study on TCD antimycotic effect on *Candida albicans*. *Chinese Journal of Information on TCM*, 2000, 7(3): 26-27.
- [7] Yang C L. Poison Materia Medica. Beijing: Traditional Chinese Medicine Press, 1998: 1037-1037.
- [8] Yuan F S, Guo S L, Yu A K, Han Y M, Dai G S, Yu H, Deng S H, Zou L J. Screening test of Chinese medicine in killing *Demodex*. *Journal of Pathogen Biology*, 1993, 6(3): 238-239.
- [9] Hou H, Zhao L L, Shi G L, Li Z H. Studies on the acaricidal activity of the extracts of *Kochia scoparia*. *Plant Protection*, 2004, 30(3): 42-45.
- [10] FAO. Recommended methods for measurement of pest resistance to pesticides. *Plant Production and Protection* 21. Rome: FAO, 1980: 49-54.
- [11] Zhou S Y, Li Q, Yang Q F. Effect of *Paris polyphylla smith*-synergistic substances mixtures on *Panoychus citri* (Mc Gregor). *Journal of Anhui Agricultural Sciences*, 2007, 35(2): 458-459.
- [12] Abbott W S. A method of computing the effectiveness of an insecticide. *Economic Entomology*, 1925, 18: 265-267.
- [13] Zhao L M, Han L N, Shan B E, Pan X M, Liu L H, Li X G. Anti-tumor activity of *Cochinchina momordica* seed extract. *Carcinogenesis, Teratogenesis and Mutagenesis*, 2009, 22(1): 19-23.
- [14] Yu Z M, Wang K L. The Toxicity Analysis and Compatibility of Common Toxic Traditional Chinese Herbs. Beijing: Science and Technology Literature Publishing House, 2005: 202-202.
- [15] Xiang L H, Chen Y P, Zhang Z, Shan Z Y, Yu Z M, Lu A P. Influence of 24 traditional Chinese herbs to viscera index of rat in long term toxicity test. *Chinese Journal of Basic Medicine in Traditional Chinese Medicine*, 2006, 12(1): 35-36.
- [16] Bolognesi A, Barbieri L, Carnicelli D, Abbondanza A, Cenini P, Falasca A I, Dinota A, Stirpe F. Purification and properties of a new ribosome-inactivating protein with RNA *N*-glycosidase activity suitable for immunotoxin preparation from the seeds of *Momordica cochinchinensis*. *Biochimica et Biophysica Acta*, 1989, 93(2/3): 287-292.
- [17] Fiorenzo S, Luigi B, Gianni G. Ribosome inactivating proteins for use in immunotoxins. *Eur, Pat Apple EP*, 1990, 3: 390-390.
- [18] Jiu bao tian he yan, Zuo teng san zhi zi, Cun shang xiao fu. The pharmacological effects of *Momordica cochinchinensis*. *Pharmacy*, 1971, 91(2): 174-174.

参考文献:

- [1] 王祥生, 于燕, 王德昭, 刘全, 余梓祥, 谢建蒙, 郑先春, 金娜仁. 犬常见皮肤病诊断及防治研究. *动物医学进展*, 2001, 22(2): 92-94.
- [4] 国家药典委员会. 中华人民共和国药典 (I 部). 北京: 化学工业出版社, 2005: 44-44.
- [5] 阚连娣, 胡全, 巢志茂, 宋萧, 曹学丽. 木鳖子脂肪油不皂化物质的化学成分研究. *中国中药杂志*, 2006, 31(17): 1441-1444.
- [6] 欧阳录明, 黄晓敏, 吴兴无, 张波, 刘汉胜. 中草药体外抗白色念珠菌的实验研究. *中国中医药信息杂志*, 2000, 7(3): 26-27.
- [7] 杨仓良. 毒药本草. 北京: 中国中医药出版社, 1998: 1037-1037.
- [8] 袁方曙, 郭淑玲, 于安珂, 韩玉敏, 戴高升, 禹卉, 邓树海, 邹立家. 杀人体蠕形螨中药筛选试验研究. *中国病原生物学杂志*, 1993, 6(3): 238-239.
- [9] 侯挥, 赵莉茜, 师光禄, 李照会. 地肤提取物杀螨活性的研究. *植物保护*, 2004, 30(3): 42-45.
- [11] 周顺玉, 李庆, 杨群芳. 七叶一枝花与增效剂复配对柑桔全爪螨的毒杀作用. *安徽农业科学*, 2007, 35(2): 458-459.
- [13] 赵连梅, 韩丽娜, 单保恩, 潘晓明, 刘丽华, 李晓光. 木鳖子提取物体外抗肿瘤活性的初步研究. *癌变·畸变·突变*, 2009, 22(1): 19-23.
- [14] 于智敏, 王克林. 常用有毒中药的毒性分析与配伍宜忌. 北京: 科学技术文献出版社, 2005: 202-202.
- [15] 向丽华, 陈燕萍, 张智, 闪增郁, 于智敏, 吕爱平. 24 味有毒中药长期毒性实验对大鼠脏器指数的影响. *中国中医基础医学杂志*, 2006, 12(1): 35-36.
- [18] 久保田合彦, 佐藤三知子, 村上孝夫. 木鳖子的药理作用. *药学杂志 (日)*, 1971, 91(2): 174-174.

ACTA ECOLOGICA SINICA Vol. 32, No. 9 May, 2012 (Semimonthly)

CONTENTS

Responses and weigh of multi-ecosystem services and its economic value under different land cover scenarios: a case study from Ertan water control pivot in Yalong River	GE Jing, WU Nan, GAO Jixi, et al (2629)
Influence of grazing on biomass, growth ratio and compensatory effect of different plant groups in <i>Kobresia parva</i> meadow	DONG Quanmin, ZHAO Xinquan, MA Yushou, et al (2640)
Stocking effectiveness of hatchery-released kuruma prawn <i>Penaeus japonicus</i> in the Xiangshan Bay, China	JIANG Yazhou, LING Jianzhong, LIN Nan, et al (2651)
The spatial pattern of landscape fragmentation and its relations with urbanization and socio-economic developments: a case study of Beijing	QIU Jiangxiao, WANG Xiaoke, LU Fei, et al (2659)
Cellular automata simulation of barren patch connectivity effect in degradation sequence on alpine meadow in the source region of the Yangtze and Yellow rivers, Qinghai-Tibetan Plateau, China	LI Xueling, LIN Huilong (2670)
Evolution law of architectural landscape during the urban renewal process in Tiexi District	ZHANG Peifeng, HU Yuanman, XIONG Zaiping, et al (2681)
Competition for light and crop productivity in an agro-forestry system in the Hilly Region, Shangluo, China	PENG Xiaobang, ZHANG Shuoxin (2692)
Evaluation of forest ecosystem services based on biomass in Shanxi Province	LIU Yong, LI Jinchang, YANG Yonggang (2699)
Research on the morphological interactions between <i>Tamarix ramosissima</i> thickets and Nebkhas under different sand supply conditions; a case study in Cele oasis-desert ecotone	YANG Fan, WANG Xueqin, YANG Dongliang, et al (2707)
Litter decomposition and nutrient release in typical secondary and primary forests in karst region, Northwest of Guangxi	ZENG Zhaoxia, WANG Kelin, ZENG Fuping, et al (2720)
Spatial patterns of dominant species in a subtropical evergreen broad-leaved forest in Jiulian Mountain Jiangxi Province, China	FAN Juan, ZHAO Xiuhai, WANG Jinsong, et al (2729)
Characteristics of seedlings regeneration in <i>Quercus aliena</i> var. <i>acuteserrata</i> secondary forests in Qinling Mountains	KANG Bing, WANG Dexiang, LI Gang, et al (2738)
Xylem hydraulic traits of <i>Populus euphratica</i> Oliv. in extremely drought environment	AYOUPU Mubareke, CHEN Yaning, HAO Xingming, et al (2748)
Response characteristics of leaf traits of common species along an altitudinal gradient in Hongchiba Grassland, Chongqing	SONG Lulu, FAN Jiangwen, WU Shaohong, et al (2759)
Changes of carbon input influence soil respiration in a <i>Pinus tabulaeformis</i> plantation	WANG Jinsong, ZHAO Xiuhai, ZHANG Chunyu, et al (2768)
Effects of different habitats and coverage treatments on the fates of <i>Quercus wutaishanica</i> seeds under the predation pressure of rodents	YAN Xingfu, ZHOU Libiao, LIU Jianli (2778)
Nested analysis of urban woodlot bird communities in Minhang District of Shanghai	WANG Benyao, WANG Xiaoming, WANG Tianhou, et al (2788)
Production dynamics and trophic basis of three dominant mayflies in the continuum of Shenglihe Stream in the Bahe River Basin	DENG Shan, YE Caiwei, WANG Lixiao, et al (2796)
Effects of sedimentation thickness of shrimp pond cleaning discharges on <i>Acanthus ilicifolius</i> seedlings	LI Ting, YE Yong (2810)
Utilization of carbon sources by the soil microbial communities of different forest types in subtropical Australia	LU Shunbao, GUO Xiaomin, RUI Yichao, et al (2819)
Soil microbial community characteristics under different vegetation types at the Holocene-basalt Platform, Jingpo Lake area, Northeast China	HUANG Yuanyuan, QU Laiye, QU Xiuchun, et al (2827)
Effect of <i>Ipomoea aquatica</i> Floating-bed on the quantity and distribution of nitrogen cycling bacteria and nitrogen removal	TANG Yingying, LI Xiuzhen, ZHOU Yuanqing, et al (2837)
Effects of microbial inoculants on soil microbial diversity and degrading process of corn straw returned to field	LI Peipei, ZHANG Dongdong, WANG Xiaojuan, et al (2847)

Effects of coupling film-mulched furrow-ridge cropping with maize straw soil-incorporation on maize yields and soil organic carbon pool at a semiarid loess site of China	WU Rongmei, WANG Yongpeng, LI Fengmin, et al (2855)
Residues and spatial distribution of OCPs in the sediments of Gan River Basin ...	LIU Xiaozhen, ZHAO Ci, LIANG Yu, et al (2863)
Analysis on population fluctuation and properties of the white-backed planthopper in Huizhou in 2009	 DIAO Yonggang, YANG Haibo, QU Yufeng, et al (2872)
Evaluation acaricidal activities of <i>Momordica cochinchinensis</i> extracts against <i>Tetranychus cinnabarinus</i>	 GUO Huili, SHI Guanglu, JIA Liangxi, et al (2883)
Stomatal ozone uptake modeling and comparative analysis of flux-response relationships of winter wheat	 TONG Lei, FENG Zongwei, Sudebilige, et al (2890)

Review and Monograph

Calculation method of energy ecological footprint based on global net primary productivity	 FANG Kai, DONG Deming, LIN Zhuo, et al (2900)
Behavioral patterns, influencing factors, functions and risks of social play in primates	 WANG Xiaowei, ZHAO Haitao, QI Xiaoguang, et al (2910)

Discussion

Spatio-Temporal changing analysis on carbon storage of harvested wood products in China	 LUN Fei, LI Wenhua, WANG Zhen, et al (2918)
---	---

Scientific Note

Variations in allometrical relationship between stand nitrogen storage and biomass as stand development	 CHENG Dongliang, ZHONG Quanlin, LIN Maozi, et al (2929)
Effect of continuous cropping of sesame on rhizospheric microbial communities	 HUA Juling, LIU Guangrong, HUANG Jinsong (2936)
Effects of clipping on the growth, gas exchange and chlorophyll fluorescence of invasive plant, <i>Flaveria bidentis</i>	 WANG Nannan, HUANGFU Chaohe, CHEN Dongqing, et al (2943)
Influence of vegetable cultivation methods on soil organic carbon sequestration rate	 LIU Yang, YU Dongsheng, SHI Xuezheng, et al (2953)
Integrated matrix-hydrology-biological remediation technology for bank collapse lakeside zone of Chaohu Lake	 CHEN Yunfeng, ZHANG Yanhui, ZHENG Xiqiang (2960)

《生态学报》2012 年征订启事

《生态学报》是中国生态学学会主办的自然科学高级学术期刊,创刊于 1981 年。主要报道生态学研究原始创新性科研成果,特别欢迎能反映现代生态学发展方向的优秀综述性文章;研究简报;生态学新理论、新方法、新技术介绍;新书评介和学术、科研动态及开放实验室介绍等。

《生态学报》为半月刊,大 16 开本,280 页,国内定价 70 元/册,全年定价 1680 元。

国内邮发代号:82-7 国外邮发代号:M670 标准刊号:ISSN 1000-0933 CN 11-2031/Q

全国各地邮局均可订阅,也可直接与编辑部联系购买。欢迎广大科技工作者、科研单位、高等院校、图书馆等订阅。

通讯地址:100085 北京海淀区双清路 18 号 电 话:(010)62941099; 62843362

E-mail: shengtaixuebao@rcees.ac.cn 网 址: www.ecologica.cn

编辑部主任 孔红梅 执行编辑 刘天星 段 靖

生 态 学 报

(SHENGTAI XUEBAO)

(半月刊 1981 年 3 月创刊)

第 32 卷 第 9 期 (2012 年 5 月)

ACTA ECOLOGICA SINICA

(Semimonthly, Started in 1981)

Vol. 32 No. 9 (May, 2012)

编 辑	《生态学报》编辑部 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085 电话:(010)62941099 www.ecologica.cn shengtaixuebao@rcees.ac.cn	Edited by	Editorial board of ACTA ECOLOGICA SINICA Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China Tel:(010)62941099 www.ecologica.cn Shengtaixuebao@rcees.ac.cn
主 编	冯宗炜	Editor-in-chief	FENG Zong-Wei
主 管	中国科学技术协会	Supervised by	China Association for Science and Technology
主 办	中国生态学学会 中国科学院生态环境研究中心 地址:北京海淀区双清路 18 号 邮政编码:100085	Sponsored by	Ecological Society of China Research Center for Eco-environmental Sciences, CAS Add:18, Shuangqing Street, Haidian, Beijing 100085, China
出 版	科 学 出 版 社 地址:北京东黄城根北街 16 号 邮政编码:1000717	Published by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China
印 刷	北京北林印刷厂	Printed by	Beijing Bei Lin Printing House, Beijing 100083, China
发 行	科 学 出 版 社 地址:东黄城根北街 16 号 邮政编码:100717 电话:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net	Distributed by	Science Press Add:16 Donghuangchenggen North Street, Beijing 100717, China Tel:(010)64034563 E-mail:journal@cspg.net
订 购	全国各地邮局	Domestic	All Local Post Offices in China
国外发行	中国国际图书贸易总公司 地址:北京 399 信箱 邮政编码:100044	Foreign	China International Book Trading Corporation Add:P. O. Box 399 Beijing 100044, China
广告经营 许 可 证	京海工商广字第 8013 号		



ISSN 1000-0933
CN 11-2031/Q

国内外公开发行

国内邮发代号 82-7

国外发行代号 M670

定价 70.00 元