

# 豆科植物多花木蓝抑菌活性成分研究

苏生<sup>1</sup>, 张莉<sup>1</sup>, 杜文林<sup>2</sup>, 胡华林<sup>3</sup>, 杨华<sup>4</sup>,  
沈玲<sup>5</sup>, 韩永芬<sup>1</sup>, 李奕<sup>3\*</sup>

(1. 贵州省草业研究所, 贵阳 550006; 2. 贵州医科大学药学院, 贵阳 550025; 3. 贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室, 贵阳 550002; 4. 延安大学化学化工学院, 延安 716000; 5. 西安工程大学环境与化学工程学院, 西安 710048)

**摘要** 活性追踪下,采用柱层析分离多花木蓝籽石油醚提取物中的抑菌活性物质。采用生长速率法和牛津杯法,选取稻瘟病菌、辣椒枯萎病菌、油菜菌核病菌、梨黑星病菌为测试真菌,青枯菌、大肠杆菌、金黄葡萄球菌、绿脓杆菌、枯草芽胞杆菌为测试细菌,测试了一级柱层析各流分的抑菌活性,测试结果显示:A-4和A-5流分对所有测试菌均具有一定的抑菌活性,对梨黑星病菌的抑制作用最好,抑制率分别达到77.66%和74.67%;对青枯菌的抑菌圈最大,分别为1.37 cm和1.66 cm。分离出2个活性化合物,经<sup>13</sup>C、<sup>1</sup>H NMR波谱方法鉴定,为Balansenate I、II,为首次从该植物中分离得到。生测结果显示2个化合物具有较低的抑菌活性,其对金黄葡萄球菌活性最好,但最小抑菌浓度(MIC)和最小杀菌(MBC)浓度均只为250 mg/L和500 mg/L。

**关键词** 多花木蓝; 抑菌活性; 活性化合物

**中图分类号:** S482.2 92 **文献标识码:** A **DOI:** 10.3969/j.issn.0529-1542.2017.01.020

## Antimicrobial constituents of *Indigofera amblyantha*

Su Sheng<sup>1</sup>, Zhang Li<sup>1</sup>, Du Wenlin<sup>2</sup>, Hu Hualin<sup>3</sup>, Yang Hua<sup>4</sup>, Shen Ling<sup>5</sup>, Han Yongfen<sup>1</sup>, Li Yan<sup>3</sup>

(1. Guizhou Institute of Prataculture, Guiyang 550006, China; 2. School of Pharmacy of Guizhou Medical University, Guiyang 550025, China; 3. The Key Laboratory of Chemistry for Natural Products of Guizhou Province and Chinese Academy of Sciences, Guiyang 550002, China; 4. School of Chemical & Chemical Engineering, Yan'an University, Yan'an 716000, China; 5. School of Environmental and Chemical Engineering, Xi'an Polytechnic University, Xi'an 710048, China)

**Abstract** Antimicrobial constituents of the seeds of *Indigofera amblyantha* Craib were isolated by using bioactivity-guided fractionation. The antimicrobial activity assays were designed against the fungi *Magnaporthe grisea*, *Fusarium oxysporum*, *Sclerotinia sclerotiorum* and *Venturia pyrina* by using the hyphal growth inhibition method and the bacteria *Ralstonia solanacearum*, *Escherichia coli*, *Staphylococcus aureus*, *Pseudomonas aeruginosa* and *Bacillus subtilis* by using the disc method. The results showed that A-4 and A-5 fractions had higher bioactivity than others. Their inhibition ratios against *V. pyrina* were 77.66% and 74.67%, respectively. The diameters of inhibition zone against *R. solanacearum* were 1.37 cm and 1.66 cm, respectively. Two compounds with antimicrobial activity were isolated and elucidated as Balansenate I and II mainly by <sup>1</sup>H and <sup>13</sup>C NMR spectral data. The results of bioassay showed that the MIC values and the MBC values of the two compounds against *S. aureus* were 250 and 500 mg/L, respectively.

**Key words** *Indigofera amblyantha*; antimicrobial activity; antimicrobial compound

病虫害鼠害对农业生产造成的经济损失巨大,故农药已经成为农业生产中的重要生产资料,我国则已成为农药生产使用的世界第二大国家。但是,随

着化学合成农药的使用,农药的负面效应越来越严重,如环境污染、对人体健康的影响、“三R”问题等。从植物中提取的具有农用活性的化合物与环境相容

收稿日期: 2016-02-22

修订日期: 2016-03-29

基金项目: 贵州省自然科学基金(黔科合J字[2013]2154号);西安工程大学博士科研启动项目(BS1310)

\* 通信作者 E-mail: liyan1612@163.com

性好、对非靶标生物安全,可用于解决农业生产中出现的病虫害等问题<sup>[1]</sup>,故其研究与开发已经成为研发新农药的热点之一<sup>[2]</sup>。

多花木蓝 *Indigofera amblyantha* Craib 为豆科木蓝属植物,别名野蓝枝、马黄消、野绿豆树(罗田)等,广泛分布于我国南北方各省,生于海拔 1 000 m 以下山坡或灌丛中<sup>[3-4]</sup>,对土壤要求不严,具有较强的抗逆性,且未发现严重的病虫害,是边坡恢复的良好物种。本实验室报道了多花木蓝籽石油醚提取物具有良好的抑菌活性,并对其粗提物的化学成分进行了分析<sup>[5]</sup>,但具体的抑菌活性物质一直未见报道。故本文在此基础上,采用活性追踪法,提取分离了多花木蓝籽中的抑菌活性物质,并鉴定了其化学结构,测试了其抑菌活性,以期开发多花木蓝为植物源抑菌剂奠定理论基础。

## 1 材料与方 法

### 1.1 试验材料

#### 1.1.1 植物样品

多花木蓝于 2013 年 10 月采自贵州省草业研究所独山试验基地,经贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室顾玮副研究员鉴定为本品,阴干备用。

#### 1.1.2 供试菌株

真菌:稻瘟病菌 *Magnaporthe grisea* (Hebert) Barrnov.、辣椒枯萎病菌 *Fusarium oxysporum*、油菜菌核病菌 *Sclerotinia sclerotiorum* (Lib.) de Bary、梨黑星病菌 *Venturia pyrina*,均由贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室提供。

细菌:青枯菌 *Ralstonia solanacearum*、大肠杆菌 *Escherichia coli*、金黄葡萄球菌 *Staphylococcus aureus*、绿脓杆菌 *Pseudomonas aeruginosa*、枯草芽胞杆菌 *Bacillus subtilis*,均由贵州省中国科学院天然产物化学重点实验室提供。

#### 1.1.3 培养基

马铃薯土豆培养基(PDA):20%马铃薯,2%蔗糖,2%琼脂,水 100 mL,pH 6.0。

牛肉膏蛋白胨培养基(BPA):0.5%牛肉膏,1%蛋白胨,0.5%NaCl,水 100 mL,pH 7.0~7.2,2%琼脂。

Mueller-Hinton 肉汤培养基(MHB):牛肉粉 2.0 g,可溶性淀粉 1.5 g,酸水解酪蛋白 17.5 g,pH 7.4±0.2,水 1 000 mL。

## 1.2 仪器与试剂

### 1.2.1 仪器

RE 52-99 型亚荣旋转蒸发仪(上海亚荣生化仪器厂);SW-CJ-2FD 型超净工作台(苏州净化设备有限公司);BIC-250 型人工气候箱(上海博讯实业有限公司);XH-C 涡旋混合器(上海沪西分析仪器厂);FA2204B 万分之一电子天平(上海精密科学仪器有限公司);Agilent-NMR-inova400 超导核磁共振谱仪;HP6890/5975C GC/MS 联用仪(美国安捷伦公司)。

### 1.2.2 试剂

石油醚(60~90℃)、甲醇、氯仿、乙酸乙酯、丙酮、二甲亚砜(DMSO)均为市售分析纯试剂,薄层层析硅胶、柱层析硅胶均为青岛海洋化工厂产品,重蒸水。

## 1.3 试验方法

### 1.3.1 提取分离方法

将多花木蓝籽 1.0 kg 粉碎(过 20 目筛),用 5 000 mL 石油醚超声提取 2 h,过滤,滤渣重复用 5 000 mL 石油醚提取 2 次,合并提取液,回收溶剂后得浸膏 153.0 g。称取 150 g 样品进行一级柱层析,硅胶(100~200 目),柱层析(80 mm×1 200 mm),以石油醚:二氯甲烷(10:0,9:1,8:2,7:3,6:4,5:5,0:10)为流动相梯度洗脱,每 300 mL 收集 1 份,TLC 检测,合并后得到 A-1(1.345 2 g)、A-2(4.365 4 g)、A-3(14.368 4 g)、A-4(5.351 0 g)、A-5(6.315 2 g)、A-6(18.321 0 g)、A-7(33.234 1 g)、A-8(32.651 2 g)、A-9(5.324 6 g)、A-10(3.624 5 g)、A-11(2.369 4 g)、A-12(3.365 4 g)、A-13(1.365 2 g)。活性测试结果显示 A-4 和 A-5 具有抑菌活性,故采用二级柱层析分离 A-4 和 A-5 流分。准确称取 A-4 流分 5.000 0 g,硅胶(200~300 目),柱层析(20 mm×450 mm),以石油醚:乙酸乙酯 10:1 为流动相,每 30 mL 收集 1 份,TLC 检测,得到化合物 1(1.635 2 g)。准确称取 A-5 流分 6.000 g,硅胶(200~300 目),柱层析(20 mm×450 mm),以石油醚:丙酮 10:2 为流动相,每 30 mL 收集 1 份,TLC 检测,得到化合物 2(1.534 6 g)。测试化合物 1 和 2 的抑菌活性。

### 1.3.2 抑菌活性测试方法

抑制真菌活性测试:将一级柱层析各流分样品用一定量的 DMSO 溶解,再以 PDA 灭菌培养基稀释成 2 000 mg/L 的浓度,采用生长速率法测定其活性<sup>[6]</sup>。用十字交叉法测量菌落直径,计算菌丝生长抑制率。

菌落生长直径(mm)=3 次直径平均值 - 菌饼直径(4.0 mm);

菌丝生长抑制率(%)=

$$\frac{(\text{对照菌落生长直径} - \text{处理菌落生长直径})}{\text{对照菌落生长直径}} \times 100.$$

抑制细菌活性测试: 将一级柱层析各流分样品溶解在适量 DMSO 中, 加入少许吐温-80, 加水稀释使 DMSO 含量为 2.5%, 使各流分浓度为 2 000 mg/L, 采用牛津杯法测试各流分抑制细菌活性<sup>[7]</sup>。用十字交叉法测量抑菌圈直径。

采用 96 孔板微量稀释法测试纯品抑制细菌的活性<sup>[8-9]</sup>: 将供试样品以 DMSO 溶解, 再以水稀释至 2 000 mg/L 的质量浓度, MHB 肉汤培养基进行 2 倍稀释, 使得 DMSO 含量为 2.5%, 以无菌水为阴性对照。无菌培养液和 2.5% DMSO 溶液为空白对照。微孔板振荡混合后, 置于 37℃ 培养箱内培养 18 h 后观察结果, 肉汤没有浑浊的孔中的最低药液质量浓

度为样品对供试细菌的最低抑菌质量浓度(MIC), 取没有浑浊的孔中的肉汤, 接种于未加药的培养基平板上, 37℃ 培养 12 h 后取出观察, 没有细菌生长的最低药液质量浓度为样品对供试菌的最低杀菌质量浓度(MBC)。所有活性测定均重复 3 次。

## 2 结果与分析

### 2.1 一级柱层析各流分抑菌活性测试结果

一级柱层析各流分抑制真菌生长活性测试结果显示 A-4、A-5 对测试菌具有一定的抑制作用, 其余流分均没有显示出抑制活性。A-4、A-5 流分对真菌生长的抑制活性结果见表 1。当样品浓度为 2 000 mg/L 时, 2 个样品在 3 d 和 7 d 后的抑菌活性没有明显的区别, 其中对梨黑星病菌的活性最高, 3 d 的抑制率分别为 77.66% 和 75.29%, 7 d 的抑制率分别为 74.67% 和 73.41%, 对其他植物病原菌的活性在不同时间段的活性均相当。

表 1 A-4 和 A-5 流分对真菌生长的抑制活性<sup>1)</sup>

Table 1 Fungistatic activity of A-4 and A-5 fractions of the chromatography

菌种 Fungus	抑制率/(%) (3 d)		抑制率/(%) (7 d)	
	A-4	A-5	A-4	A-5
稻瘟病菌 <i>Magnaporthe grisea</i>	61.24±0.06	65.28±0.06	63.88±0.06	65.29±0.12
辣椒枯萎病菌 <i>Fusarium oxysporum</i> f. sp. <i>vasinfectum</i>	63.61±0.06	63.61±0.12	59.13±0.06	64.52±0.10
油菜菌核病菌 <i>Sclerotinia sclerotiorum</i>	68.19±0.06	66.34±0.15	65.94±0.06	64.00±0.06
梨黑星病菌 <i>Venturia pyrina</i>	77.66±0.15	75.29±0.10	74.67±0.75	73.41±0.17

1) 表中数据为 3 次重复的平均值±标准误。

Data are mean±SE from 3 replications.

一级柱层析各流分抑制细菌活性测试结果与抑制真菌生长活性相似, A-4、A-5 具有一定的抑菌活性, 其余流分均没有显示出抑制活性。A-4、A-5 流分对细菌的抑制活性见表 2。当样品浓度为 2 000 mg/L 时, A-5 流分对青枯菌的抑菌圈直径最大, 为 1.66 cm, A-4 流分对金黄葡萄球菌的抑菌圈直径最小, 为 1.16 cm。

表 2 A-4 和 A-5 流分对细菌的抑制活性<sup>1)</sup>

Table 2 Antibacterial activity of A-4 and A-5 fractions of the chromatography

菌种 Bacterial strain	抑菌圈直径/cm	
	A-4	A-5
青枯菌 <i>Ralstonia solanacearum</i>	1.37±0.15	1.66±0.12
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	1.37±0.06	1.37±0.12
金黄葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	1.16±0.15	1.20±0.17
绿脓杆菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.43±0.15	1.27±0.21
枯草芽胞杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	1.33±0.06	1.47±0.21

1) 表中数据为 3 次重复之平均值±标准误。

Data are mean±SE of 3 replications.

### 2.2 化合物 1 和 2 抑制细菌活性测试结果

化合物 1 和 2 抑制细菌活性测试结果见表 3, 由表可知, 化合物 1 和 2 均具有较弱的抑菌和杀菌活性。2 个化合物对金黄葡萄球菌的活性均最好, MIC 和 MBC 值均为 250 mg/L 和 500 mg/L, 对其他测试菌的 MIC 和 MBC 值均为 500 mg/L 和 1 000 mg/L。

### 2.3 化合物 1 和 2 的结构

化合物 1: 白色粉末。m.p 43℃; 比旋光度 $[\alpha]_D^{20} = -14.2^\circ$  (C=1.24 CHCl<sub>3</sub>)。IR: 1 728 (C=O)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.26 (t, J=8.0, CH<sub>2</sub>(2)); 1.26 (m, CH<sub>2</sub>(3)); 1.23 (m, CH<sub>2</sub>(4)); 1.14 (m, CH<sub>2</sub>(5)); 1.38 (m, CH(6)); 1.61 (t, J=7.2, CH<sub>2</sub>(7)); 1.38 (m, CH(8)); 1.41 (m, CH<sub>2</sub>(9)); 1.06 (m, CH<sub>2</sub>(10)); 1.53 (m, CH(11)); 0.87 (d, J=8.0, CH<sub>3</sub>(12), CH<sub>3</sub>(13)); 0.83 (d, J=6.8, CH<sub>3</sub>(14)); 0.88 (d, J=8.0, CH<sub>3</sub>(15)); 1.66 (s, CH<sub>3</sub>(16)); 4.57 (d, J=7.2,

CH<sub>2</sub>(1'')); 5.32 (ddd, *J* = 0.8, 4.0, 0.8, CH(2'')); 1.99 (br. t, *J* = 8.0, CH(4'')); 1.26 (m, CH<sub>2</sub>(5'-14'')); 0.85 (m, CH<sub>3</sub>(16')). <sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 173.7 (C(1)); 34.3 (C(2)); 24.8 (C(3)); 31.9 (C(4)); 22.6 (C(5)); 32.7 (C(6)); 25.0 (C(7)); 32.7 (C(8)); 37.4 (C(9));

36.6 (C(10)); 29.1 (C(11)); 19.7 (C(12,13)); 14.1 (C(14)); 22.6 (C(15)); 16.3 (C(16)); 61.1 (C(1'')); 118.2 (C(2'')); 142.4 (C(3'')); 39.8 (C(4'')); 24.4, 29.1, 29.2, 29.3, 29.4, 29.6, 29.6, 37.2, 37.3, 37.4 (C(5'-14'')); 39.4 (C(15'')); 16.3 (C(16'')). EI-MS: 478 (M<sup>+</sup>), 296, 278, 123.

表 3 化合物 1 和 2 对细菌的抑制活性测试结果

Table 3 The antibacterial activity of compound 1 and 2

菌种 Bacterial strain	硫酸庆大霉素 Gentamicin sulphate		化合物 1 Compound 1		化合物 2 Compound 2	
	最小抑菌 浓度/ mg · L <sup>-1</sup> Minimum inhibitory concentration	最小杀菌 浓度/ mg · L <sup>-1</sup> Minimum bactericidal concentration	最小抑菌 浓度/ mg · L <sup>-1</sup> Minimum inhibitory concentration	最小杀菌 浓度/ mg · L <sup>-1</sup> Minimum bactericidal concentration	最小抑菌 浓度/ mg · L <sup>-1</sup> Minimum inhibitory concentration	最小杀菌 浓度/ mg · L <sup>-1</sup> Minimum bactericidal concentration
青枯菌 <i>Ralstonia solanacearum</i>	25	50	500	1 000	500	1 000
大肠杆菌 <i>Escherichia coli</i>	1.56	3.12	500	1 000	500	1 000
金黄葡萄球菌 <i>Staphylococcus aureus</i>	3.12	6.24	250	500	250	500
绿脓杆菌 <i>Pseudomonas aeruginosa</i>	1.56	3.12	500	1 000	500	1 000
枯草芽胞杆菌 <i>Bacillus subtilis</i>	1.56	6.24	500	1 000	500	1 000

化合物 1 结构见图 1, 其波谱数据与文献一致<sup>[10]</sup>, 名称为 6,8,11-三甲基十二酸(2E)-3'-甲基-十六-2-烯酯, 分子式为 C<sub>32</sub>H<sub>62</sub>O<sub>2</sub>, 该化合物首次从多花木蓝中分离得到。

CH<sub>3</sub>(16), CH<sub>3</sub>(17)); 0.85 (d, *J* = 8.0, CH<sub>3</sub>(18)); 0.89 (d, *J* = 6.4, CH<sub>3</sub>(19)); 1.69 (s, CH<sub>3</sub>(20)); 4.59 (d, *J* = 8.0, CH<sub>2</sub>(1'')); 5.32 (ddd, *J* = 0.8, 4.0, 0.8, CH(2'')); 2.00 (t, *J* = 6.8, CH<sub>2</sub>(4'')); 1.25 (m, CH<sub>2</sub>(5'-14'')); 1.14 (m, CH<sub>2</sub>(15'')); 0.86 (t, *J* = 8.0, CH<sub>3</sub>(16'')). <sup>13</sup>C NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 173.9 (C(1)); 34.4 (C(2)); 24.8 (C(3)); 31.9 (C(4)); 22.6, 22.7, 22.8, (C(5-8)); 32.7 (C(9)); 25.0 (C(10)); 32.7 (C(11)); 37.4 (C(12)); 36.5 (C(13)); 29.2 (C(14)); 19.6 (C(15,16)); 14.1 (C(18)); 22.6 (C(19)); 16.2 (C(20)); 61.2 (C(1'')); 118.2 (C(2'')); 142.3 (C(3'')); 39.8 (C(4'')); 24.4, 29.0, 29.2, 29.3, 29.4, 29.5, 29.6, 29.8, 37.1, 37.3 (C(5'-14'')); 39.4 (C(15'')); 16.2 (C(16'')). EI-MS: 534 (M<sup>+</sup>), 296, 278, 123.

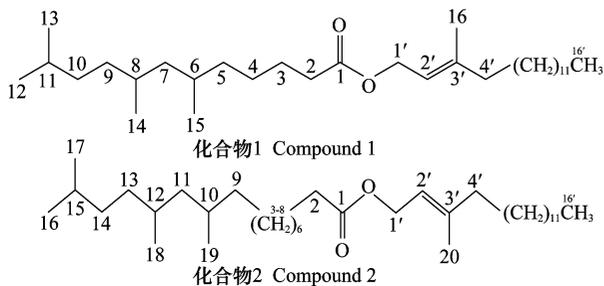


图 1 化合物 1 和 2 的化学结构图

Fig. 1 Structures of compounds 1 and 2

化合物 2: 白色粉末。m. p 62°C; 比旋光度 $[\alpha]_D^{20} = -16.6^\circ$  (C=1.24 CHCl<sub>3</sub>)。IR: 1 738(C=O)。<sup>1</sup>H NMR (400 MHz, CDCl<sub>3</sub>): δ 2.29 (t, *J* = 6.8, CH<sub>2</sub>(2)); 1.26 (m, CH<sub>2</sub>(3)); 1.21 (m, CH<sub>2</sub>(4)); 1.04 (m, CH<sub>2</sub>(5-9)); 1.38(m, CH(10)); 1.61 (t, *J* = 8.0, CH<sub>2</sub>(11)); 1.38(m, CH(12)); 1.42 (m, CH<sub>2</sub>(13)); 1.06 (m, CH<sub>2</sub>(14)); 1.53 (m, CH(15)); 0.86 (d, *J* = 6.8,

化合物 2 结构见图 1, 其波谱数据与文献一致<sup>[10]</sup>, 名称为 17,18,19-三甲基十六酸(2E)-3'-甲基-十六-2-烯酯, 分子式为 C<sub>36</sub>H<sub>70</sub>O<sub>2</sub>, 该化合物首次从多花木蓝中分离得到。

### 3 讨论

多花木蓝籽石油醚提取物浓度为 4 000 mg/L 时,其对多种植物病原真菌表现出较好的抑菌活性,抑制率均可达到 70% 以上<sup>[5]</sup>。一级柱层析后,当 A-4、A-5 流分浓度为 2 000 mg/L 时,除梨黑星病菌外,对其他测试菌的抑制率均低于 70%。一级柱层析后,活性化合物集中于 A-4 和 A-5 流分,然而其活性并未有显著的提高。另外,2 个酯类的活性化合物的 MIC 和 MBC 值也主要集中在 500 mg/L 和 1 000 mg/L,其抑菌活性较弱。推测可能多花木蓝籽石油醚提取物中存在一些具有增效作用的化合物,随着分离程度的提高,增效物质的含量降低,故其抑菌活性也降低,但是其具体的原因还有待进一步验证。

本试验前期曾报道了豆科植物多花木蓝籽石油醚提取物具有一定的抑菌活性<sup>[5]</sup>,在此基础上,本实验室在活性追踪下分离出 2 个酯类活性化合物,它们的化学结构较简单,但其表现出的抑菌活性较弱,故改造其化学结构,以期提高抑菌活性,是本课题组下一步将要研究的内容。

### 参考文献

- [1] 徐苏酪. 天然产物源农药和农药先导物[J]. 农药译丛, 1994 (2): 18 - 24.
- [2] 单承莺, 马世宏, 张卫明. 我国植物源农药研究进展[J]. 中国野生植物资源, 2011, 30(6): 14 - 23.
- [3] 中国科学院西北植物研究所编著. 秦岭植物志[M]. 北京: 科学出版社, 1981: 34 - 35.
- [4] 傅书遐. 湖北植物志[M]. 武汉: 湖北科学技术出版社, 2002: 276 - 280.
- [5] 毛心莹, 苏生, 曹红旗, 等. 多花木蓝抑菌活性及其化学成分研究[J]. 广东农业科学, 2015(15): 48 - 52.
- [6] Li Yan, Shen Binbin, Li Jun, et al. Antimicrobial potential and chemical constituent of *Mikania micrantha* H. B. K. [J]. African Journal of Microbiology Research, 2013, 7(20): 2409 - 2415.
- [7] 刘冬梅, 李理, 杨晓泉, 等. 用牛津杯测定益生菌的抑菌活力[J]. 食品研究与开发杂志, 2006(3): 110 - 111.
- [8] Jorgensen J H. *In vitro* activity of daptomycin against vancomycin-resistant enterococci of various van types and comparison of susceptibility testing methods [J]. Antimicrobial Agents and Chemotherapy, 2003, 47(12): 3760 - 3763.
- [9] 李健强, 李六金. 兽医微生物实验实习指导[M]. 西安: 陕西科学技术出版社, 1999: 29 - 30.
- [10] Yeh-Hsin Tsai, Ih-Sheng Chen, Ian-Lih Tsai. New long-chain esters and adenine analogs from the leaves of formosan *Bridelia balsanae* [J]. Helvetica Chimica Acta, 2003, 86: 2452 - 2457.
- [11] 田 喆 (责任编辑)
- [6] Harverty M I, Page M, Nelson L J, et al. Cuticular hydrocarbons of dampwood termites, *Zootermopsis*; intra- and intercolony variation and potential as taxonomic characters [J]. Journal of Chemical Ecology, 1988, 14(3): 1035 - 1058.
- [7] Golebiowski M, Paszkiewicz M, Grubba A, et al. Cuticular and internal *n*-alkane composition of *Lucilia sericata* larvae, pupae, male and female imagines: application of HPLC-LLSD and GC/MS-SIM [J]. Bulletin of Entomological Research, 2012, 102(4): 453 - 460.
- [8] 崔可伦, 王志光, 李明馨, 等. 应用气相色谱法鉴别海南省大劣按蚊[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1992, 10(4): 283 - 285.
- [9] 崔可伦, 王木森, 洗伟立, 等. 应用气相色谱法鉴别淡色库蚊与致倦库蚊[J]. 动物分类学报, 1991, 16(4): 497 - 499.
- [10] 赵成银, 何余容, 钟锋, 等. 西花蓟马表皮碳氢化合物成份分析[J]. 应用昆虫学报, 2011, 48(3): 536 - 541.
- [11] Moore B P. Biochemical studies in termites [M]//Krischna K, Weesnereds F M. Biology of termites. New York: Academic Press, 1969: 407 - 432.
- [12] Golden K, Meinke L J, Stanley-Samuelson D W. Cuticular hydrocarbon discrimination of *Diabrotica* (Coleoptera: Chrysomelidae) sibling species [J]. Annals of the Entomological Society of America, 1992, 85(5): 561 - 570.
- [13] Anyanwu G I, Davies D H, Molyneux D H, et al. Cuticular-hydrocarbon discrimination between *Anopheles gambiae* s. s. and *An. arabiensis* larval karyotypes [J]. Annals of Tropic Medicine and Parasitology, 2001, 95(8): 843 - 852.
- [14] Carlson D A, Service M W. Identification of mosquitoes *Anopheles gambiae* species complex A and B by analysis of cuticular hydrocarbons [J]. Science, 1980, 207(4435): 1089 - 1901.
- [15] Takematsu Y, Yamaoka R. Taxonomy of *Glyptotermes* (Isoptera, Kalotermitidae) in Japan with reference to cuticular hydrocarbon analysis as chemotaxonomic characters [J]. Esakia, 1997, 37: 1 - 14.
- [16] Carlson D A, Walsh J F. Identification of two west African black flies (Diptera: Simuliidae) of the *Simulium damnosum* species complex by analysis of cuticular paraffins [J]. Acta Tropica, 1981, 38(3): 235 - 239.
- [17] 赵彤言, 陆宝麟. 中国尖音库蚊复合组 (*Culex pipiens* complex) 生物分类学的研究——幼虫形态特征的数值分析[J]. 寄生虫与医学昆虫学报, 1995, 2(3): 153 - 160.
- [18] 高明媛, 王心丽, 李重九. 表皮碳氢化合物分析用于棉铃虫与烟青虫幼虫分类鉴别[J]. 昆虫知识, 1999, 36(5): 266 - 269.
- [19] 梁小松, 徐刘平, 李浩, 等. 固相微萃取技术在白蚁表皮碳氢化合物分析中的应用[J]. 昆虫知识, 2009, 46(4): 632 - 636.
- [20] 杨明丽 (责任编辑)

(上接 120 页)