

益智不同部位精油化学成分分析及其对白纹伊蚊的毒杀活性

宋兴震^{1,2}, 龙晨艳³, 许又凯^{1*}¹中国科学院西双版纳热带植物园, 西双版纳 666100; ²中国科学院大学, 北京 100049; ³普洱学院, 普洱 665000

摘要:用水蒸气蒸馏法分别提取了益智的根、叶、花及嫩果的植物精油, 采用 GC/MS 分析其化学组成成分, 并通过药液浸养法和跗骨接触法测试了益智不同部位精油对白纹伊蚊的毒杀活性。结果表明: 益智根、叶、花及嫩果精油的化学组成成分具有显著差异; 益智不同部位植物精油均对白纹伊蚊均有毒杀活性, 其中益智根精油杀蚊幼活性最好, LC_{50} 为 40.101 ppm, 益智叶精油杀成虫活性最好, LD_{50} 为 13.04 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。本研究结果探究了益智不同部位植物精油的主要化学成分, 并为益智进一步开发为灭蚊药物提供了理论依据。

关键词:益智; 白纹伊蚊; GC/MS; 植物精油

中图分类号: Q949.96

文献标识码: A

文章编号: 1001-6880(2022) Suppl-0050-06

DOI: 10.16333/j.1001-6880.2022.S.008

The chemical composition analysis of essential oil from different parts of the *Alpinia oxyphylla* and their toxic activity against *Aedes albopictus*

SONG Xing-zhen^{1,2}, LONG Chen-yan³, XU You-kai^{1*}¹Xishuangbanna Tropical Botanical Garden, Chinese Academy of Sciences, Xishuangbanna 666100, China;²University of Chinese Academy of Sciences, Beijing 100049, China; ³Pu'er University, Pu'er 665000, China

Abstract: The essential oil from the roots, leaves, flowers and green fruits of *Alpinia oxyphylla* were extracted by steam distillation and the chemical compositions were analyzed by GC/MS. Four essential oil were tested for the toxic activities against *Aedes albopictus* by using drug solution culture method and tarsal contact method. The results indicated the chemical composition of essential oils from different parts of *A. oxyphylla* were significantly different from each other. And comparing the results of the toxic activity of four essential oils against *Ae. albopictus*, the essential oil from roots showed the highest larvicidal activity with LC_{50} values of 40.101 ppm, and the essential oil from leaves showed the highest adulticidal activity with LD_{50} values of 13.04 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$. The results of this study revealed the chemical compositions of essential oil from different parts of *A. oxyphylla*, and provided the theoretical basis that the essential oil of *A. oxyphylla* have the potential to be developed into a novel insecticide against *Ae. albopictus*.

Key words: *Alpinia oxyphylla*; *Aedes albopictus*; GC/MS; essential oil

白纹伊蚊又称亚洲虎纹, 起源于东南亚热带森林地区, 传播登革热、寨卡、基孔肯雅热等病毒^[1]。随着人类贸易活动及旅游活动的增加, 白纹伊蚊已经传播至全球的热带及亚热带地区^[2-5]。由于白纹伊蚊的卵在冬天具有滞育现象, 它们进而可以在温带地区繁殖发育^[6-8]。据估计, 如果不采取措施, 到2080年, 全球将会有197个国家和地区受白纹伊蚊影响^[2]。20世纪以来, 使用化学杀虫剂极大的遏制

了蚊虫的发展, 但是化学杀虫剂毒性较大, 不易降解及污染环境等缺陷, 国际上对化学杀虫剂的使用越来越谨慎^[9-12]。同时, 长时间大规模的使用单一化学杀虫剂提高了蚊虫的抗药性, 我国已有多地报道白纹伊蚊对菊酯类、有机磷类及有机氯类产生了抗药性^[13-16], 因而迫切需要发展新型环境友好型杀虫剂。

使用植物提取物作为杀虫剂是一种可以弥补合成杀虫剂上述缺点的新方法^[17]。植物精油是植物体内分泌的具有芳香气味次级代谢产物, 帮助植物抵抗病菌和其他害虫, 具有抗虫、抗菌及抗氧化等活性^[18]。鉴于此, 已经有许多研究报道桃金娘科、菊

收稿日期: 2021-09-06 接收日期: 2021-10-12

基金项目: 中国科学院专项中科院合作局一带一路民族药研究与产业合作(Y6ZK131B01)

* 通信作者 E-mail: xyk@xtbg.ac.cn

科、唇形科及姜科等植物精油具有良好的杀蚊幼及成虫活性^[10,11,17]。同时,植物精油提取较为简单,生产成本低廉,在生产推广方面具有得天独厚的优势。

益智(*Alpinia oxyphylla*)是姜科(Zingiberaceae)山姜属(*Alpinia*)植物,其果实益智仁是药食同源常用中药,具有固精缩尿、温脾止泻的功能^[19]。益智全株具有芳香气味,可以提取精油。目前对益智的研究主要集中于果实的药用方面,有关益智叶、花、根及嫩果精油的成分报道较少。本文报道益智根、叶、花及嫩果的精油成分及杀蚊活性,探究益智精油在灭蚊方面的作用,为开发环境友好型益智植物精油灭蚊提供依据。

1 材料与方法

1.1 材料与仪器

1.1.1 供试精油

2021年4月在云南省西双版纳自治州中国科学院西双版纳热带植物园内采集益智材料。采用水蒸气蒸馏提取法提取植物精油,将新鲜的益智根、叶、花、嫩果分别洗净切碎,取1000 g样品分别装在5 L的圆底烧瓶中,加入3 L蒸馏水,蒸馏提取。采用300 °C加热30 min,水汽开始在收集管中凝结后,将温度调整为180 °C,持续蒸馏3 h。蒸馏结束后,将精油用1 mL注射器吸出,用无水硫酸钠除去水分,存放于棕色试剂瓶中,冷藏于4 °C冰箱中备用。

1.1.2 供试蚊虫

白纹伊蚊引自于云南省寄生虫病防治所(云南省疟疾防治研究所),养殖在中国科学院西双版纳热带植物园养虫室,养虫室温度为(26 ± 2) °C,湿度为(60 ± 10)%,光照周期为14 L:10 D。幼虫阶段饲养在搪瓷盆中,喂食猫粮粉末,待幼虫变蛹后,将蛹捞出,置于40 cm × 30 cm × 30 cm的蚊笼中羽化,用10%的葡萄糖溶液喂食成虫。用小白鼠作为雌蚊的吸血来源,雌蚊吸血后,蚊笼中放置湿润的带滤纸纸碗,收集蚊卵。

1.1.3 仪器与试剂

主要仪器:气相色谱仪(Agilent 7890,美国Agilent公司);气相色谱质谱联用仪(Agilent 5975,美国Agilent公司);低温冷却液循环泵(DLSB-5L/25,巩义市予华仪器有限责任公司);电热套(ZNHW型,巩义市予华仪器有限责任公司),圆底烧瓶;蒸馏提取装置;微量进样器等。

主要试剂:正己烷(色谱纯级,欧普森公司);正构烷烃(C8-C40,北京百灵威科技有限公司);毒死

蜱(上海阿拉丁生化科技股份有限公司);氯氰菊酯(上海吉至生化科技有限公司);无水乙醇、丙酮均为分析纯。

1.2 实验方法

1.2.1 精油成分分析

益智的根、叶、花及嫩果精油通过GC-MS仪器分析成分。操作条件为:毛细管柱为HP-5MS(30 m × 250 μm × 0.25 μm)。40 °C恒温保持1 min,然后以3 °C/min加热至150 °C,再以10 °C/min加热到250 °C,在250 °C下保持10 min,总用时为57.67 min。载气为氦气,总流速为3 mL/min。按照1:500(V/V)将精油稀释在正己烷中,进样体积为1 μL。比对NIST 08和NIST 17标准图谱库,得出精油的化学组成成分。

1.2.2 蚊幼毒杀测试

蚊幼毒杀实验采用WHO推荐的药液浸养法^[20]。在烧杯中加入99 mL除氯水,然后再向烧杯中加入25只3~4龄的白纹伊蚊幼虫。4种益智精油分别用1 mL乙醇稀释,然后将精油溶液加入到放有白纹伊蚊幼虫的烧杯中,烧杯中精油的最终浓度为200、150、100、50、25 ppm。空白对照为乙醇,阳性对照药物为毒死蜱(chlorpyrifos)。所有实验均设置4组重复,实验期间内不喂食。实验条件为温度(26 ± 2) °C,湿度为(60 ± 10)%,光照周期为14 L:10 D。24 h后统计实验结果,针拨动幼虫无反应,即为死亡。

1.2.3 触杀活性测试

触杀实验采用跗骨接触法进行成虫生物测定^[21]。首先,用丙酮将精油稀释成一系列不同浓度,定容至1 mL,然后将精油丙酮溶液加入到直径为8 cm的玻璃培养皿中,轻轻摇晃培养皿,使得精油丙酮溶液均匀地分散在培养皿底部,将含有精油丙酮溶液的培养皿放置在通风处30 min,让丙酮挥发干净,最终精油在培养皿中的浓度100、50、25、12.5 μg/cm²。在每个培养皿中加入15只3~10天未吸血的雌性白纹伊蚊成虫,用培养皿盖子盖住培养皿防止蚊子飞出。空白对照为丙酮,阳性对照药物为氯氰菊酯(cypermethrin)。所有实验均设置3组重复。实验条件为温度(26 ± 2) °C,湿度为(60 ± 10)%,光照周期为14 L:10 D。3 h后统计实验结果,蚊子仰卧不动判定为死亡。

1.2.4 数据处理

采用SPSS 22.0软件对实验结果进行处理,用

线性回归模型分析方法计算蚊虫死亡的 LC_{50} 、 LC_{90} 、 LD_{50} 及 LD_{90} 。蚊幼毒杀实验与成蚊触杀活性测试空白对照组均无死亡。

2 结果与分析

2.1 四种精油的化学成分分析

益智根、叶、花及嫩果精油的成分组成见表 1。从表 1 可以看出益智不同部位精油的组成成分有明显差异。益智根精油的主要成分由对伞花烃 (22.36%)、 γ -松油烯 (14.77%) 组成, 益智叶精油的主要成分由桃金娘烯醛 (26.19%)、 γ -萜品醇-7-

醛 (11.28%) 组成, 益智花精油的主要成分由 γ -松油烯 (31.68%)、 α -水芹烯 (11.5%)、 β -罗勒烯 (11.31%) 组成, 益智嫩果精油的主要成分由 β -蒎烯 (30.24%)、对伞花烃 (16.17%)、 γ -松油烯 (11.73%) 组成。另一方面, 益智根及叶精油中分别鉴定出 41 种化学成分, 益智花及嫩果精油中鉴定出的化学成分分别为 31 种和 33 种。造成益智不同部位精油成分不同的原因可能是在益智发育的不同器官, 需要合成不同的化学物质适应生长。

表 1 益智四个部位精油的化学组成

Table 1 Chemical compositions of essential oil from four parts of *A. oxyphylla*.

保留时间 Retention time (min)	化学成分 Chemical composition	相对含量 Relative content (%)				保留指数 Retention index	
		根 Root	叶 Leaf	花 Flower	嫩果 Green fruit	RI _{lit}	RI _{cal}
5.45	二丙酮醇 Diacetone alcohol	0.53	0.20	0.15	0.36	839	837
8.03	三环烯 Tricyclene	0.10	-	-	-	921	918
8.28	β -侧柏烯 β -Thujene	0.91	0.10	1.16	0.70	929	924
8.49	α -蒎烯 α -Pinene	5.01	5.35	5.82	7.51	931	929
9.04	莰烯 Camphene	5.00	0.6	0.13	0.15	945	943
10.12	桉烯 Sabinene	0.45	-	0.74	-	968	970
10.19	β -蒎烯 β -Pinene	2.12	5.14	6.93	30.24	974	972
10.95	β -月桂 β -Myrcene	1.15	0.78	1.80	1.24	991	991
11.41	α -水芹烯 α -Phellandrene	5.89	3.27	11.5	2.39	1 005	1 002
11.66	3-蒎 3-Carene	1.62	1.43	1.06	0.71	1 010	1 008
11.97	α -松油烯 α -Terpinene	1.31	0.10	3.22	0.38	1 017	1 014
12.32	对伞花烃 <i>p</i> -Cymene	22.36	6.21	2.58	16.17	1 026	1 022
12.49	<i>D</i> -柠檬烯 <i>D</i> -Limonene	4.26	3.57	2.49	2.02	1 030	1 025
12.57	桉叶油醇 Eucalyptol	3.12	1.84	0.14	0.18	1 032	1 028
13.04	(<i>E</i>)- β -罗勒烯 <i>trans</i> - β -Ocimene	-	-	0.58	-	1 041	1 038
13.49	β -罗勒烯 β -Ocimene	0.06	0.92	11.31	4.54	1 048	1 048
13.90	γ -松油烯 γ -Terpinene	14.77	1.75	31.68	11.73	1 058	1 056
15.22	萜品油烯 Terpinolene	0.21	0.19	0.26	0.18	1 088	1 086
15.85	芳樟醇 Linalool	0.37	2.19	0.42	0.64	1 100	1 100
17.73	樟脑 Camphor	0.06	0.16	-	-	1 143	1 140
17.81	马鞭烯醇 Verbenol	0.19	0.27	-	0.12	1 144	1 142
17.87	莰苣醇 Camphenilanol	0.14	0.33	-	-	1 146	1 144
18.73	冰片 Borneol	1.08	0.33	-	0.09	1 165	1 162
19.10	异松蒎酮 Isopinocamphon	0.40	0.55	-	0.39	1 175	1 170
19.28	4-萜烯醇 Terpinen-4-ol	3.29	0.40	0.77	1.72	1 176	1 174
19.63	α -侧柏醛 α -Thujenal	0.57	0.40	-	0.19	1 182	1 182

续表 1 (Continued Tab. 1)

保留时间 Retention time (min)	化学成分 Chemical composition	相对含量 Relative content (%)				保留指数 Retention index	
		根 Root	叶 Leaf	花 Flower	嫩果 Green fruit	RI _{lit}	RI _{cal}
19.93	α -松油醇 α -Terpineol	0.61	1.60	0.50	1.46	1 189	1 188
20.13	桃金娘烯醛 (-)-Myrtenal	7.26	26.19	1.56	2.38	1 193	1 192
21.29	乙酸小茴香酯 Fenchyl acetate	8.59	-	-	-	1 219	1 218
22.14	4-异丙基苯甲醛 <i>p</i> -Cumic aldehyde	0.98	5.00	0.52	0.45	1 240	1 237
23.14	γ -萜品醇-7-醛 γ -Terpinen-7-al	3.36	11.28	0.28	0.58	1 288	1 259
23.67	<i>L</i> -紫苏醛 <i>L</i> -Perillaldehyde	0.46	2.57	-	0.10	1 272	1 270
24.25	乙酸龙脑酯 Borneyl acetate	0.95	-	-	0.17	1 286	1 284
24.89	反-乙酸松香芹酯 <i>trans</i> -Pinocarvyl acetate	-	0.21	0.19	0.56	1 297	1 298
26.01	乙酸桃金娘烯酯 Myrtenyl acetate	0.23	0.69	3.18	3.87	1 332	1 324
27.04	α -乙酸松油酯 α -Terpinyl acetate	0.33	-	-	-	1 348	1 348
28.06	古巴烯 Copaene	0.28	0.64	0.23	-	1 376	1 372
28.82	β -榄香烯 β -Elemen	-	0.98	0.28	-	1 391	1 390
29.87	石竹烯 Caryophyllene	0.44	3.29	2.32	0.24	1 419	1 414
30.16	乙酸香草酯 Cuminylyl acetate	-	-	-	0.61	1 428	1 422
31.27	蛇麻烯 Humulene	0.14	0.71	2.50	0.89	1 454	1 449
32.59	α -姜黄烯 α -Curcumene	-	0.57	-	-	1 483	1 482
32.97	β -瑟林烯 β -Selinene	-	0.30	-	-	1 492	1 491
33.10	姜烯 Zingiberene	-	0.79	-	-	1 494	1 494
33.62	β -红没药烯 β -Bisabolene	0.06	1.08	-	-	1 504	1 507
33.67	α -法尼烯 α -Farnesene	-	-	2.54	0.07	1 508	1 508
34.20	β -倍半水芹烯 β -Sesquiphellandrene	-	0.41	-	-	1 524	1 522
34.52	γ -红没药烯 γ -Bisabolene	0.05	0.61	0.32	-	1 531	1 530
36.35	氧化石竹烯 Caryophyllene oxide	0.24	0.50	-	-	1 581	1 578
鉴定总含量 Total (%)		98.85	93.50	97.16	93.03		
提取率 Yield of the essential oils (% , w/w)		0.04	0.07	0.10	0.08		

注:“RI_{lit}”表示文献中该化合物的保留指数;“RI_{cal}”表示在 HP-5MS 柱子条件下,根据 C8-C40 的保留指数计算出的保留指数。

Note:“RI_{lit}” indicates retention index relative to the literature;“RI_{cal}” indicates retention index based on the calculated RI using a homologous series of n-alkanes C8-C40 in HP-5MS.

2.2 四种精油对蚊幼毒杀结果

益智的根、叶、花及嫩果精油对蚊幼均有毒杀活性(见表 2)。益智根精油具有显著的杀蚊幼活性,其 LC₅₀和 LC₉₀分别是 40.101 ppm 和 65.337 ppm,这可能与益智根精油中含有较多对伞花烃和 γ -松油烯有关,文献报道 γ -松油烯对白纹伊蚊蚊幼的毒杀活性 LC₅₀为 16.25 ppm,对伞花烃对白纹伊蚊蚊幼的毒杀活性 LC₅₀为 32.83 ppm^[22];益智花精油中也含有较多 γ -松油烯,益智花精油对蚊幼毒杀活性的 LC₅₀和 LC₉₀分别是 42.071 ppm 和 68.069 ppm,

跟益智根精油的活性差别不大;其次是益智嫩果精油,蚊幼毒杀活性的 LC₅₀和 LC₉₀分别是 50.778 ppm 和 75.404 ppm。活性最差的是益智叶精油,蚊幼毒杀活性的 LC₅₀和 LC₉₀分别是 74.462 ppm 和 106.749 ppm,可能与它的主要成分毒性较低有关,文献报道桃金娘烯醛对白纹伊蚊幼虫的半数致死量 LC₅₀为 137.86 ppm,活性较低^[22]。阳性对照药物毒死蜱对蚊幼有明显的毒杀效果,其 LC₅₀为 0.003 659 ppm,远高于益智各部位精油的蚊幼毒杀活性,化学合成药物毒性较大。

表2 四种精油对白纹伊蚊蚊幼的 LC₅₀和 LC₉₀ 毒杀结果Table 2 LC₅₀ and LC₉₀ values of four essential oil against larvae of *Ae. albopictus*

实验样品 Sample	LC ₅₀ (ppm, 95% CL)	LC ₉₀ (ppm, 95% CL)	回归方程 Regression equation	χ^2	P
根精油 Essential oil of root	40.101 (37.142 ~ 43.263)	65.337 (58.968 ~ 74.922)	$y = 2.625x - 9.691$	3.998	<0.001
叶精油 Essential oil of leaf	74.462 (69.96 ~ 78.807)	106.749 (99.836 ~ 116.143)	$y = 3.558x - 15.336$	17.865	<0.001
花精油 Essential oil of flower	42.071 (38.14 ~ 45.606)	68.069 (61.819 ~ 77.891)	$y = 2.663x - 9.960$	12.471	<0.001
嫩果精油 Essential oil of green fruit	50.778 (47.537 ~ 53.845)	75.404 (69.862 ~ 83.7)	$y = 3.241x - 12.729$	5.715	<0.001
毒死蜱 Chlorpyrifos	0.003 659 (0.003 37 ~ 0.003 964)	0.006 427 (0.005 804 ~ 0.007 301)	$y = 2.275x + 12.765$	15.076	<0.001

注:LC₅₀表示半数致死浓度,LC₉₀表示90%致死浓度,95% CL表示95%的置信区间。

Note:LC₅₀indicates Lethal concentration of 50%,LC₉₀ indicates Lethal concentration of 90%,95% CL indicates 95% confidence limit.

2.3 四种精油触杀活性结果

通过跗骨接触法测定益智精油对白纹伊蚊成虫的触杀活性发现,益智根、叶、花及嫩果精油对白纹伊蚊成虫均具有毒性(表3)。结果与蚊幼毒杀结果相反,其中益智叶精油展现了最好的触杀活性,其LD₅₀和LD₉₀分别是13.04 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 和19.56 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。其他部位精油也展现了一定的触杀活性,益智根、

花、嫩果精油的LD₅₀分别是54.04、64.86、79.66 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。这一结果可能与精油的主要成分不同导致的,然而并没有相关文献报道各化合物单体的触杀活性,需要进一步实验去探究发挥主要触杀活性的化合物。阳性对照药物除氯菊酯的触杀活性远高于益智各部位精油的活性,其LD₅₀和LD₉₀分别是0.001 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 和0.003 9 $\mu\text{g}/\text{cm}^2$ 。

表3 四种精油对白纹伊蚊成虫的 LD₅₀和 LD₉₀ 毒杀结果Table 3 LD₅₀ and LD₉₀ values of four essential oil against adult of *Ae. albopictus*

实验样品 Sample	LD ₅₀ ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$, 95% CL)	LD ₉₀ ($\mu\text{g}/\text{cm}^2$, 95% CL)	回归方程 Regression equation	χ^2	P
根精油 Essential oil of root	54.04 (50.34 ~ 57.66)	74.44 (68.76 ~ 83.3)	$y = 4.003x - 3.979$	5.875	<0.001
叶精油 Essential oil of leaf	13.04 (11.70 ~ 14.52)	19.56 (17.18 ~ 24.04)	$y = 3.167x + 1.352$	1.397	<0.001
花精油 Essential oil of flower	64.86 (60.5 ~ 69.28)	93.38 (85.52 ~ 106.1)	$y = 3.515x - 4.135$	8.727	<0.001
嫩果精油 Essential oil of green fruit	79.66 (76.00 ~ 83.58)	99.02 (92.98 ~ 109.1)	$y = 5.889x - 8.138$	16.761	<0.001
氯氰菊酯 Cypermethrin	0.001 (0.000 8 ~ 0.001 2)	0.003 9 (0.003 ~ 0.005 5)	$y = 0.979x + 2.893$	6.017	<0.001

注:LD₅₀表示半数致死剂量;LD₉₀表示90%致死剂量;95% CL表示95%置信区间。

Note:LD₅₀indicates lethal dose of 50%;LD₉₀indicates lethal dose of 90%,95% CL indicates 95% confidence limit.

3 讨论与结论

据文献报道,植物精油在毒杀蚊幼活性达到LC₅₀ < 50 ppm时,即可认为该植物精油具有很好的毒杀活性^[23]。在本研究中,益智根、花精油对蚊幼的毒杀活性均低于50 ppm,虽然与阳性对照药物毒死蜱相比,存在较大差距;在触杀活性中,益智叶精油具有较好的毒杀活性,不及阳性对照药物氯氰菊酯,但作为环境友好型植物精油灭蚊剂均具有很好的应用前景。

植物精油作为化学合成杀虫剂的替代品,尽管毒杀活性不如化学合成杀虫剂,但仍然有许多优势。首先植物精油来自天然植物,毒性较低,使用过程中对人畜低毒安全;其次植物精油是一种混合物,其药效机理较为复杂,蚊虫较难产生抗药性^[12,24];同时,植物精油生产过程绿色环保,不对环境造成污染,使用过程中,植物精油易挥发降解,不会在环境中积累对环境造成污染,是一种环境友好型产品。

益智作为四大南药之一,其果实益智仁在中国

有着非常悠久的历史。在本研究中,首次报道了益智根、叶、花及嫩果精油的化学成分和灭蚊活性,发现益智各部位精油均对白纹伊蚊有一定的毒杀效果,其中益智根精油杀蚊幼活性最好,益智叶精油杀成虫活性最好。益智具有开发成环境友好型灭蚊产品的潜力,为进一步综合利用益智植物资源,特别是开发环境友好型灭蚊产品提供新的思路。

参考文献

- Benelli G, Wilke ABB, Beier JC. *Aedes albopictus* (Asian tiger mosquito) [J]. Trends Parasitol, 2020, 36: 942-943.
- Kraemer MUG, Reiner RC, Brady O, et al. Past and future spread of the arbovirus vectors *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* [J]. Nat Microbiol, 2019, 4: 854-863.
- Guerra CA, Reiner RC, Perkins TA, et al. A global assembly of adult female mosquito mark-release-recapture data to inform the control of mosquito-borne pathogens [J]. Parasit Vectors, 2014, 7: 276-291.
- Gubler DJ. The changing epidemiology of yellow fever and dengue, 1900 to 2003: full circle? [J]. Comp Immunol Microbiol Infect Dis, 2004, 27: 319-330.
- Messina JP, Brady OJ, Pigott DM, et al. The many projected futures of dengue [J]. Nat Rev Microbiol, 2015, 13: 230-239.
- Armbruster PA. Photoperiodic diapause and the establishment of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) in North America [J]. J Med Entomol, 2016, 53: 1013-1023.
- Vega-Rua A, Zouache K, Caro V, et al. High efficiency of temperate *Aedes albopictus* to transmit chikungunya and dengue viruses in the Southeast of France [J]. PLoS One, 2013, 8: e59716.
- Thomas SM, Obermayr U, Fischer D, et al. Low-temperature threshold for egg survival of a post-diapause and non-diapause European aedine strain, *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) [J]. Parasit Vectors, 2012, 5: 100-107.
- Shaalán EAS, Canyon D, Younes MWF, et al. A review of botanical phytochemicals with mosquitocidal potential [J]. Environ Int, 2005, 31: 1149-1166.
- Singh KD, Labala RK, Devi TB, et al. Biochemical efficacy, molecular docking and inhibitory effect of 2,3-dimethylmaleic anhydride on insect acetylcholinesterase [J]. Sci Rep, 2017, 7: 12483-12494.
- Chellappandian M, Vasantha-Srinivasan P, Senthil-Nathan, S, et al. Botanical essential oils and uses as mosquitocides and repellents against dengue [J]. Environ Int, 2018, 113: 214-230.
- Haddi K, Turchen LM, Jumbo LOV, et al. Rethinking biorational insecticides for pest management: unintended effects and consequences [J]. Pest Manag Sci, 2020, 76: 2286-2293.
- Huang RF, Shang Y, Li MP, et al. The resistance of *Aedes albopictus* to commonly used insecticides in Ganzhou City in 2020 [J]. Jiangxi Med J (江西医药), 2021, 56: 584-586.
- Wang D, Shi P, Zhao WP, et al. Monitoring and analysis of insecticide resistance of *Aedes albopictus* in Xingyi and Chishui cities of Guizhou province, China [J]. Chin J Vector Biol Control (中国媒介生物学及控制杂志), 2021, 32: 302-306.
- Zhang CM, Li YW, Chen B, et al. An analysis of the surveillance data on density and insecticide resistance of *Aedes albopictus* in three national surveillance sites in Fujian province, China, 2019 [J]. Chin J Vector Biol Control (中国媒介生物学及控制杂志), 2021, 32: 65-69.
- WJ Peng, ZY Gan, XF Zhou, et al. Density and insecticide resistance of *Aedes albopictus* in different environments in Longhua District of Shenzhen City from 2016 to 2018 [J]. Chin J Hyg Insect Equip (中华卫生杀虫药械), 2020, 26: 526-528.
- Luz TRSA, de Mesquita LSS, do Amaral FMM, et al. Essential oils and their chemical constituents against *Aedes aegypti* L. (Diptera: Culicidae) larvae [J]. Acta Trop, 2020, 212: 105705-105728.
- Cheng SS, Chang HT, Chang ST, et al. Bioactivity of selected plant essential oils against the yellow fever mosquito *Aedes aegypti* larvae [J]. Bioresour Technol, 2003, 89: 99-102.
- Zhang JQ, Wang Y, Chen F, et al. Progress on chemical constituents and pharmacological activities of *Alpinia oxyphylla* fructus [J]. Nat Prod Res Dev (天然产物研究与开发), 2013, 25: 280-287.
- World Health Organization. Guidelines for laboratory and field testing of mosquito larvicides [M]. Switzerland: World Health Organization Geneva, 2005: 1-41.
- Sheng ZJ, Jian RC, Xie FY, et al. Screening of larvicidal activity of 53 essential oils and their synergistic effect for the improvement of deltamethrin efficacy against *Aedes albopictus* [J]. Ind Crop Prod, 2020, 145: 112-131.
- Lee DC, Ahn YJ. Laboratory and simulated field bioassays to evaluate larvicidal activity of pinus *Densiflora hydrodistillate*, its constituents and structurally related compounds against *Aedes albopictus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens pallens* in relation to their inhibitory effects on acetylcholinesterase activity [J]. Insects, 2013, 4: 217-229.
- Silverio MRS, Espindola LS, Lopes NP, et al. Plant natural products for the control of *Aedes aegypti*: the main vector of important arboviruses [J]. Molecules, 2020, 25: 34-84.
- Senthil-Nathan S. A review of resistance mechanisms of synthetic insecticides and botanicals, phytochemicals, and essential oils as alternative larvicidal agents against mosquitoes [J]. Front Physiol, 2019, 10: 1591-1612.