

# 五种库蠓脂肪酸的研究

刘金华

(广州军区军事医学研究所, 广州 510507)

陈立茵 周方 虞以新

(微生物流行病学研究所, 北京 100071\*)

**摘要** 本文用气相色谱法分析了不显库蠓 (*Culicoides obsoletus*)、兴安库蠓 (*C. sinanoensis*)、怒江库蠓 (*C. nujiangensis*)、灰黑库蠓 (*C. pulicaris*) 和刺螫库蠓 (*C. punctatus*) 等5种库蠓雌虫脂肪酸的组成和含量。结果表明, 5种库蠓均含有12—14种主要脂肪酸, 并以棕榈油酸 ( $C_{16:1}$ )、棕榈酸 ( $C_{16:0}$ )、油酸 ( $C_{18:1}$ )、硬脂酸 ( $C_{18:0}$ ) 含量最高, 共占脂肪酸总量的70%以上。对主要脂肪酸的含量进行聚类分析, 发现不显库蠓种团内任意两种库蠓间的欧氏距离小于不显库蠓种团种类与灰黑库蠓种团种类间的欧氏距离, 说明脂肪酸的定性、定量分析结果对库蠓分类有一定的参考价值。

**关键词** 不显库蠓 灰黑库蠓 脂肪酸 气相色谱

近二十年来, 应用气相色谱法测定医学昆虫的化学组分(核酸、表皮烃类、脂肪酸和单糖等), 按其定性和定量结果对蚊、蝇、蚋、蟑螂进行分类, 获得了一定成功 (Carlson 和 Service, 1979; Newton 和 Michael, 1984), 气相色谱法已成为昆虫化学分类学的重要方法。迄今为止, 除 Wirth 和 Morris (1985) 对 *Culicoides variipennis* 的表皮碳氢化合物进行过气相色谱分析外, 尚无其它关于蠓类气相色谱分析的材料。

库蠓是分布广泛的吸血双翅目昆虫, 是某些人畜共患病的重要媒介 (Pinheiro, 1981), 具有重要的医学意义。广布我国的不显库蠓 (*Culicoides obsoletus*) 种团近缘种形态差异较小, 在没有雄虫参照的情况下, 正确区分雌虫具有一定困难, 严重妨碍了进一步研究其媒介效能和防治措施。脂肪酸是昆虫的重要组成物质之一。为此, 本文用气相色谱法测定5种库蠓雌虫脂肪酸的组分和含量, 探讨其组成和含量与库蠓种类的关系。

## 材料和方法

**实验材料** 5种库蠓用挥网法和灯诱法采于自然界, 实验室内经常规形态学方法准确鉴定后干燥保存 (李铁生, 1978)。

不显库蠓 (*Culicoides obsoletus*): 吉林省通化白河镇 (42.4°N, 128.9°E);

兴安库蠓 (*C. sinanoensis*): 黑龙江省伊春市附近 (47.7°N, 128.9°E);

怒江库蠓 (*C. nujiangensis*): 云南省怒江傈僳族自治州 (25.8°N, 98.8°E);

刺螫库蠓 (*C. punctatus*): 吉林省敦化市黄泥河乡 (43.5°N, 128.0°E);

灰黑库蠓 (*C. pulicaris*): 吉林省吉林市大丰满乡 (43.7°N, 126.6°E)。

本文于1991年8月收到

\* 100071 北京丰台区七里庄路23号(甲)。

其中,不显库蠓、兴安库蠓和怒江库蠓属不显库蠓种团,刺螫库蠓和灰黑库蠓属灰黑库蠓种团。

**材料处理** 根据蚊类浸泡处理脂肪酸的方法(薛瑞德,1989)和预实验结果,选择结构完整的同种雌虫各 50 头, 1.0 ml 己烷液浸泡 4 小时(15℃); 挑出虫体浸入 3.0 ml 2.0 mol/L 的 HCl-CH<sub>3</sub>OH, 封管水解 10 小时(90℃); 冷却后用 N<sub>2</sub> 将液体吹至原体积 1/2, 加等体积己烷提取 2 次。合并提取液, N<sub>2</sub> 吹干。加入 1.0ml 己烷溶解。每次取 1.0μl 进样。

**仪器及工作条件** 选用 Perkin-Elmer Sigma 115 型气相色谱系统, 12 米甲基硅酮高效毛细管柱, 氢焰电离鉴定器鉴定。根据多次预实验确定仪器的工作条件。毛细管柱 60℃, 柱温 5 分钟, 然后以 8℃/分钟上升至 250℃, 于 250℃ 时恒温 25 分钟; 汽化室和鉴定器恒温 270℃。载气选用高纯氮气; 流速 2ml/分钟, 分流比 1:10。

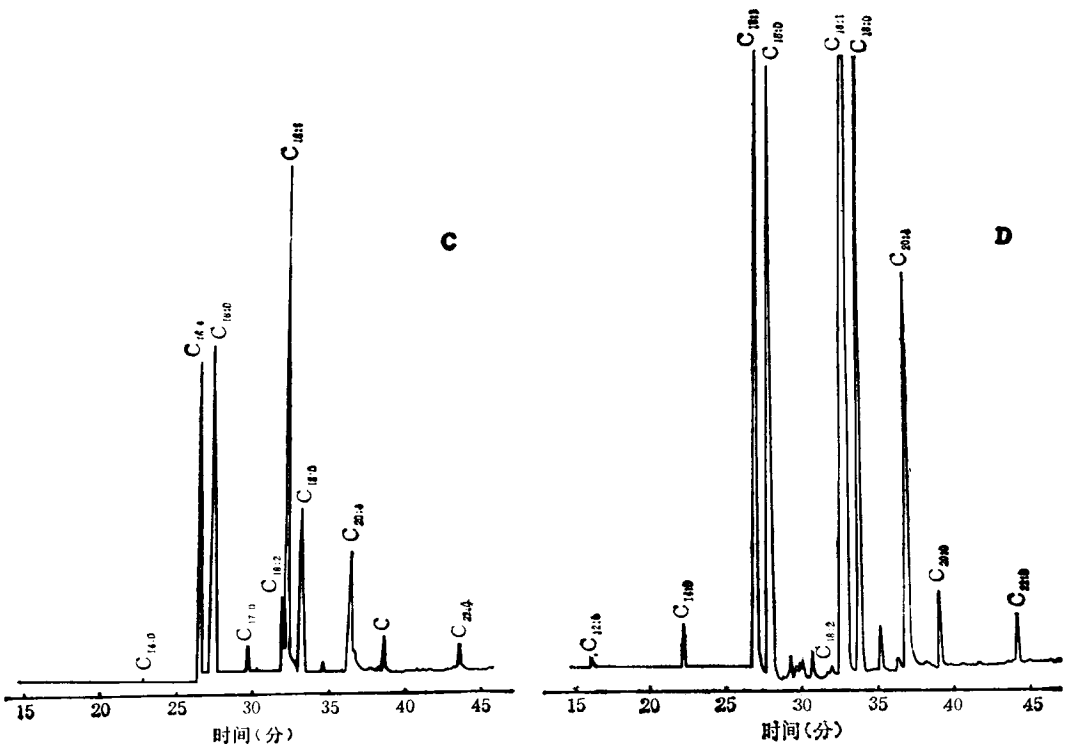
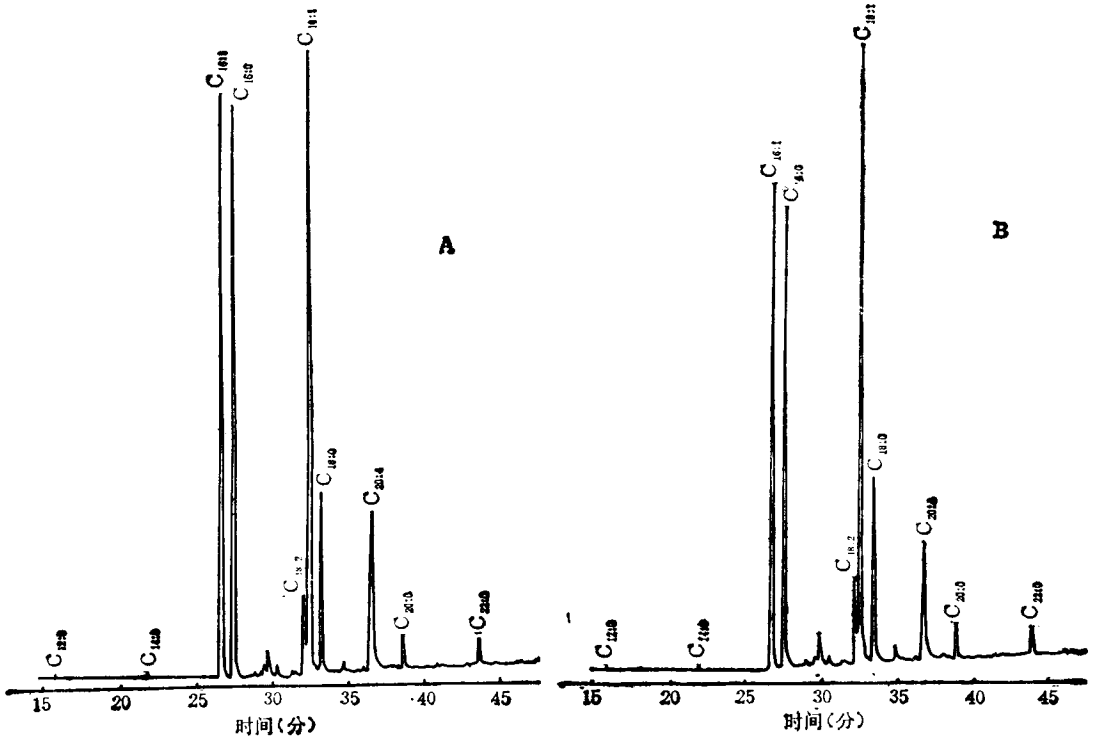
**脂肪酸标准样品和数据处理** 本实验选用 C<sub>10:0</sub>—C<sub>24:0</sub> 脂肪酸作标准样品, 预实验作出标准样品气相色谱图, 以资比较。从实验测得的定量结果中, 选取含量大于 1% 的脂肪酸作为主要组分; 计算任意两种库蠓主要脂肪酸含量的欧氏距离, 建立矩阵, 进行聚类分析。

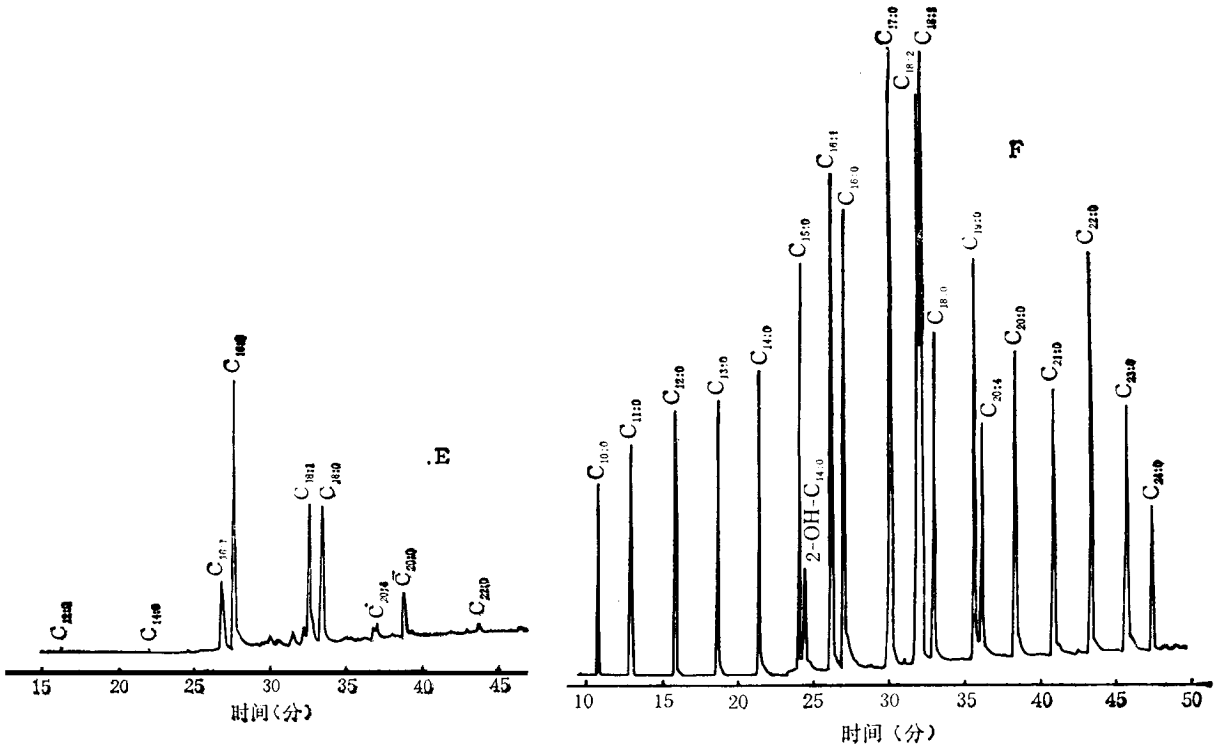
## 结 果

**1. 五种库蠓主要脂肪酸组分及其含量** 通过与标准样品的气相色谱图比较和百分峰面积打印报告, 发现五种库蠓均含有 12—14 种主要脂肪酸, 并以棕榈油酸 (C<sub>16:1</sub>)、棕榈酸 (C<sub>16:0</sub>)、油酸 (C<sub>18:1</sub>)、硬脂酸 (C<sub>18:0</sub>)、月桂酸 (C<sub>12:0</sub>)、豆蔻酸 (C<sub>14:0</sub>)、花生四烯酸 (C<sub>20:4</sub>)、花生酸 (C<sub>20:0</sub>) 的含量较高, 其中前四种主要脂肪酸的含量超过总量的 70% (表 1, 图 1)。不显库蠓种团的不显库蠓和兴安库蠓之间除组分 X<sub>1</sub> 差别显著外, 其余主要组分的含量没有明显差别。不显库蠓、兴安库蠓和怒江库蠓以油酸含量最高, 灰黑库蠓和刺

表 1 五种库蠓主要脂肪酸含量 (>1%)

组 分	不显库蠓	兴安库蠓	怒江库蠓	灰黑库蠓	刺螫库蠓
X <sub>1</sub>	0.2731	2.3189	0.4883	0.1156	2.7533
X <sub>2</sub>	—	—	—	—	4.6570
C <sub>12:0</sub>	0.9374	1.4234	—	0.4196	1.2290
C <sub>14:0</sub>	1.1642	1.0737	1.2693	0.8874	1.2991
C <sub>16:1</sub>	21.4406	19.2457	16.4602	15.3751	7.8349
C <sub>16:0</sub>	19.9566	19.1560	17.3099	28.0533	28.3869
X <sub>3</sub>	2.7582	3.0059	4.0624	1.4108	2.6375
X <sub>4</sub>	—	—	1.1618	—	1.7699
C <sub>18:2</sub>	2.9518	4.3406	4.6248	4.3652	—
C <sub>18:1</sub>	30.5326	27.7464	28.8920	26.4316	18.6883
C <sub>18:0</sub>	6.8304	7.8650	9.1616	9.4489	16.3392
X <sub>5</sub>	—	—	—	—	1.2377
C <sub>20:4</sub>	9.4700	8.0312	10.4946	7.5827	3.0394
C <sub>20:0</sub>	1.6173	1.6753	2.3001	1.2880	6.8225
C <sub>22:0</sub>	0.9391	1.2615	1.8358	0.8947	2.2495





1 五种库蠓气相色谱图

A. 不显库蠓 B. 兴安库蠓 C. 怒江库蠓 D. 灰黑库蠓 E. 刺螯库蠓 F. 标准样品

螯库蠓以棕榈酸含量最高。

2. 五种库蠓主要脂肪酸的定量分析 为了进一步探讨脂肪酸组成和含量与库蠓种类的关系,计算任意两种库蠓之间的欧氏距离,进行聚类分析(表 2,图 2)。

表 2 五种库蠓主要脂肪酸含量的欧氏距离矩阵

	不显库蠓	兴安库蠓	怒江库蠓	灰黑库蠓
兴安库蠓	4.7843	—	—	—
怒江库蠓	7.0029	5.3769	—	—
灰黑库蠓	11.5706	10.3597	11.9374	—
刺螯库蠓	24.4620	21.6165	22.1087	16.5003

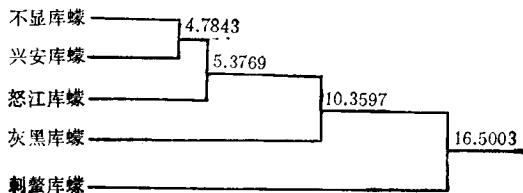


图 2 五种库蠓聚类解析图

从聚类解析图上可以看出,不显库蠓与兴安库蠓雌虫间的欧氏距离最小,聚类解析图上最接近,而灰黑库蠓、刺螫库蠓与其它三种库蠓相距较远。

## 讨 论

1. 五种库蠓虽分属二个种团,但其组分和含量基本相似,仅高含量组分表现一定差异,即不显库蠓种团三种库蠓以不饱和脂肪酸(油酸)的含量最高,灰黑库蠓种团二种库蠓以饱和脂肪酸(棕榈酸)的含量最高。

2. 根据五种库蠓脂肪酸含量间欧氏距离的差异,若将聚类解析图上的欧氏距离 10.0000 作为临界值,该五种库蠓可分为两群,即不显库蠓、兴安库蠓和怒江库蠓为第一群,灰黑库蠓和刺螫库蠓为第二群。第一群中,不显库蠓与兴安库蠓欧氏距离最小(4.7843),位置接近;怒江库蠓与前二者稍有差异,欧氏距离仅相差 0.6。第二群的灰黑库蠓和刺螫库蠓,与第一群的群间欧氏距离相差 6.5,其群内欧氏距离相差 4.6。虽然第二群的两种库蠓差异较大,但与群间距离相比仍较接近。以上两群与常规形态学分类结果是一致的。

3. 这五种库蠓的主要脂肪酸种类与薛瑞德等(1989)报道的中华按蚊、嗜人按蚊的脂肪酸组分基本相同,蚊、蠓高含量脂肪酸的种类没有明显差异,说明脂肪酸主要是昆虫的营养物质,其组分和含量用于分类时仅能作为参考。

## 参 考 文 献

- 李铁生 1978 中国经济昆虫志(第十三册)。科学出版社。
- 薛瑞德等 1989 中华按蚊与嗜人按蚊脂肪酸及单糖的分析研究。医学动物防治 5(2)(增刊): 56—8。
- Carlson, D.A. & M.W. Service 1979 Differentiation between species of the *Anopheles gambiae* species complex (Diptera: Culicidae) by analysis of cuticular hydrocarbon. *Ann. Trop. Med. Para.* 73:589—92.
- Newton, B.N. & F. Michael 1984 New approaches to the identification of parasites and their vectors. Switzerland: Schwabe & Co. Ag. Press. p.131.
- Pinheiro, F.P. 1981 Oropouches virus. *Trop. Med. Hyg.* 30(1):149—76.
- Wirth, W.M. & C. Morris 1985 Bluetongue and Related Orbiviruses 165—175. Alan. R. Liss, INC

## STUDIES ON THE FATTY ACIDS OF FIVE MIDGES WITH GAS CHROMATOGRAPHY

LIU JIN-HUA

(Institute of Military Medical Sciences, Guangzhou Military District, Guangzhou 510507)

CHENG LI-YING ZHOU FANG YU YI-XIN

(Institute of Microbiology and Epidemiology, Beijing 100071)

This paper deals with the fatty acids in female midges of five species. They are *Culicoides obsoletus* (Meigen), *C. sinanoensis* Tokunaga, *C. nujiangensis* Liu, *C. pulicaris* (Linnaeus) and *C. punctatus* (Meigen). The results showed that there were 12—14 major fatty acids in the female midges, of which the predominant ingredients were palmitoleic (C16:1), palmitic (C16:0), oleic (C18:1), and stearic (C18:0). Clustering analysis revealed that the Euclid distances between any two species of *C. obsoletus* group was closer than that between *C. obsoletus* group and *C. pulicaris* group. The differences of the ingredients and contents among the five species are of some reference values to the taxonomy of *Culicoides* midges.

**Key words** *Culicoides obsoletus*—*Culicoides pulicaris*—fatty acid—gas chromatography