

DOI:10.3724/SP.J.1008.2014.00581

我国西沙群岛鼠形动物和吸血昆虫的鉴定并首次记述按蚊和蠓

王 琰¹, 马雅军^{1*}, 杨振洲^{2*}, 郑锦旗³, 俞天峰³

1. 第二军医大学热带医学与公共卫生学系热带传染病学教研室, 上海 200433

2. 军事医学科学院疾病预防控制中心, 北京 100071

3. 91892 部队医院, 三沙 573100

[摘要] **目的** 研究我国西沙群岛有害的鼠形动物和吸血昆虫的种类和分布情况, 为当地传染病防控提供资料。**方法** 2013年11月至12月和2014年2月至3月两次赴我国海南省西沙群岛的永兴岛和石岛, 用鼠笼和诱蚊灯采集鼠形动物和吸血昆虫, 结合形态和分子特征进行种类鉴定。**结果** 捕获鼠形动物3种共计160只, 分别为: 褐家鼠、黄胸鼠和鼯鼠, 优势种为褐家鼠(61.25%)。捕获的315只蚊成虫隶属4属5种, 优势种是骚扰阿蚊(52.38%), 按蚊经分子鉴定为浅色按蚊B。捕获蠓成虫121只, 隶属3亚科4属8种, 帛琉库蠓为优势种(61.98%)。**结论** 共发现西沙群岛的永兴岛和石岛的鼠形动物3种, 蚊5种, 蠓8种, 其中按蚊和蠓均为西沙群岛首次记述, 斑美铗蠓和泥泽铗蠓是我国的新记录种。

[关键词] 西沙群岛; 啮齿科; 蚊科; 蠓科

[中图分类号] R 38

[文献标志码] A

[文章编号] 0258-879X(2014)06-0581-05

Identification of rodents and blood-sucking insects in Xisha Islands of China and the first report of *Anopheles* mosquitoes and midges

WANG Yan¹, MA Ya-jun^{1*}, YANG Zhen-zhou^{2*}, ZHENG Jin-qi³, YU Tian-feng³

1. Department of Tropical Infectious Diseases, Faculty of Tropical Medicine and Public Health, Second Military Medical University, Shanghai 200433, China

2. Institute of Disease Prevention and Control, Academy of Military Medical Sciences, Beijing 100071, China

3. Hospital of No. 91892 Troop, Sansha 573100, Hainan, China

[Abstract] **Objective** To study the species and distribution of rodents and blood-sucking insects in Xisha Islands of China, so as to provide evidence for prevention and control of infectious diseases in the area. **Methods** Using mouse cages and light trap, we collected rodents and blood-sucking insects (mosquito and midge) in Yongxing and Shi Islands (two islands of China's Xisha Islands) during November to December in 2013 and February to March in 2014. The specimens were identified by morphologic characters and molecular markers. **Results** A total of 160 rodent individuals, belonging to 3 species, were captured: *Rattus norvegicus*, *Rattus tanezumi* and *Sorex* sp, with *Rattus norvegicus* (61.25%) being the dominant species. The 315 collected mosquito samples belonged to 4 genera and 5 species, with the dominant species being *Armigeres subalbatus* (52.38%). The *Anopheles* mosquito was identified as *Anopheles subpictus* cytotypic B by ITS2 sequence. The 121 collected midges belonged to 3 subfamilies, 4 genera and 8 species, with *Culicoides peliliouensis* (61.98%) being the dominant species. **Conclusion** The species numbers of rodents, mosquitoes, and midges in Yongxing and Shi Islands are 3, 5, and 8, respectively. This is the first record of *Anopheles* mosquitoes and midges in the area, and *Forcipomyia* (*Lepidohelea*) *chrysolopha* and *Forcipomyia* (*Schizoforcipomyia*) *borbonicawere* are firstly recorded in China.

[Key words] Xisha Islands; Rodentia; Culicidae; Ceratopogonidae

[Acad J Sec Mil Med Univ, 2014, 35(6): 581-585]

[收稿日期] 2014-05-17 **[接受日期]** 2014-06-06

[基金项目] 国家自然科学基金面上项目(81371848, 81172730). Supported by National Natural Science Foundation of China (81371848, 81172730).

[作者简介] 王 琰, 硕士生. E-mail: wang1yu2yan@126.com

* 通信作者(Corresponding authors). Tel: 021-81871016, E-mail: yajun_ma@163.com; Tel: 010-66948402, E-mail: pcchina@hotmail.com

西沙群岛位于我国南海中部,其地理环境和气候因素有利于多种宿主动物和媒介昆虫的孳生和繁殖,为虫媒病等自然疫源性疾病的自然循环提供了适宜条件^[1-3]。恙虫病即是南海多个岛屿常见的自然疫源性疾病之一^[4-5],文献记载1989至1998年某岛该病的发病占传染病总数的49.20%^[6],明显区别于内陆的情况。恙虫病的主要传染源是啮齿类动物,传播媒介为恙螨幼虫。但是关于西沙群岛的鼠形动物和吸血昆虫的报告不多,仅见1980年、1994年的2次调查,记录了3种鼠形动物和6种蚊^[7-9]。

海岛由于地理隔离、自然环境恶劣和土壤贫瘠,以及淡水资源的缺乏等因素,生态环境系统稳定性差、抗干扰能力弱、环境承载力有限,其生态系统十分脆弱^[10]。近年来,随着海洋资源的开发和一些岛屿基础设施的建设,加上全球气候变暖的影响,岛屿动物种类组成和密度均发生变化^[11]。本课题组于2013至2014年间2次赴西沙群岛对有害动物和医学昆虫进行系统调查,并结合形态和分子特征对其进行鉴定,为评估当地传染病潜在的流行态势和制定有效的防控措施提供资料。

1 材料和方法

1.1 主要试剂及仪器 诱捕踏板式YZ-LA型擒鼠笼(中山粤岭捕鼠器厂);LTS-02B功夫小帅灭蚊灯(武汉吉星医疗科技有限公司);MM4100灭蚊磁(广州市长盛化工技术服务有限公司);奥林巴斯SZX-16体视显微镜(日本奥林巴斯光学工业株式会社);SZX-16奥林巴斯显微镜(日本奥林巴斯光学工业株式会社);电子恒温水浴锅(国华电器有限公司);Veriti™ PCR扩增仪(AB Applied Biosystem);三氯甲烷(国药集团化学试剂有限公司);组织/细胞抽提基因组DNA试剂盒(北京艾德莱生物科技有限公司);2×Taq PCR Mastermix(北京艾德莱生物科技有限公司)。

1.2 标本采集 于2013年11月至12月和2014年2月至3月,2次赴我国海南省西沙群岛的永兴岛和石岛进行鼠形动物、吸血昆虫(蚊、蠓)的采集。永兴岛面积约2.13 km²,石岛约0.08 km²,其间有人工修建的道路相连。(1)鼠形动物的采集:选择多种生态环境,于傍晚18:00—19:00分别在宿舍、食堂、渔民村和野外布放鼠笼,次日清晨6:00—7:00查看回收。将捕获的鼠形动物用三氯甲烷麻醉至濒死状态,收集其体表寄生虫,并取肝脏置75%乙醇溶液中

浸泡保存。(2)吸血昆虫的采集:在院落和猪圈内,于傍晚18:00—19:00布放灭蚊磁或悬挂诱蚊灯,进行通宵捕捉,次日取得收集袋,将昆虫用三氯甲烷麻醉致死,在体视镜下进行初步挑拣和分类^[12],将蚊和蠓干燥或置于75%乙醇溶液中浸泡保存。

1.3 种类鉴定 鼠形动物依据《中国重要医学动物鉴定手册》^[12]的检索表进行鉴定。随机挑取部分个体,用肝脏标本抽提基因组DNA,用PCR扩增线粒体DNA细胞色素氧化酶亚单位I(mitochondrial DNA cytochrome oxidase subunit I, mtDNA-CO I)。引物序列^[13]如下:正向BatL5310序列为5'-CCT ACT CRG CCA TTT TAC CTA TG-3',反向R6036R序列为5'-ACT TCT GGG TGT CCA AAG AAT CA-3'。反应体系:2×Taq PCR Mix 12.5 μL、10 μmol/L引物各1 μL、模板1 μL,加dd H₂O至25 μL;反应条件:94℃ 5 min,94℃ 30 s,55℃ 40 s,72℃ 1 min共35个循环,72℃ 10 min。PCR产物经1.5%琼脂糖(0.02% Goldenview)电泳检测。PCR产物送铂尚生物技术(上海)有限公司,应用四色荧光标记的双脱氧末端终止法,分别以正向引物测序。所获序列用Seqman软件包检查峰图后,在GenBank网站中以默认参数进行Blast搜索,确定种类。蚊:依据《中国动物志:昆虫纲,第九卷,双翅目蚊科》^[14]的检索表进行鉴定,单蚊抽提基因组DNA,PCR扩增核糖体DNA第2内转录间隔区(ribosomal DNA second internal transcribed spacer, rDNA-ITS2)部分片段,反应体系和条件参照文献^[15]。蠓:依据《中国蠓科昆虫:昆虫纲双翅目》^[16]的检索表进行鉴定,并挑取部分雌、雄成虫,对其整体、外生殖器、翅等制片后置显微镜下检视和拍照,制片方法参照文献^[16]。PCR产物直接送测序,或对测序结果为套峰的个体进行克隆后再测序,序列分析同鼠形动物。

2 结果和讨论

2.1 鼠形动物 本研究共捕获鼠形动物160只,形态鉴定结果显示,隶属啮齿目(Rodentia)鼠科(Muridae)的2种:褐家鼠(*Rattus norvegicus*; n=98)、黄胸鼠(*Rattus tanezumi*; n=26),以及食虫目(Insectivora)鼯鼠科(Soricidae)的1种:鼯鼠(*Sorex* sp.; n=36)。对形态鉴定为鼠科的样本进行mtDNA-CO I序列分析,显示分别与GenBank注册的褐家鼠(FQ215344)和黄胸鼠(KF011916)序列的同源性为

99%以上,分子鉴定与形态鉴定结果相符。

本研究所获的鼠形动物种类与1994年的调查结果^[7]相同,均为3种;但种类组成存在差异,1994年永兴岛的优势种为鼯鼯(占91.38%),现为褐家鼠(占61.25%),分析其变化的原因应是近年岛上道路和房屋建设使灌木丛面积减小,适合鼯鼯生存的面积减少,也与鼠笼布放的位置靠近人的活动区域有一定关系。另外,所有个体体表均可检获寄生虫,经形态初步鉴定,包括恙螨、革螨、蚤和虱等,种类需进一步确定。

2.2 吸血昆虫

2.2.1 蚊

本研究统计了2013年12月23日至30日8d诱捕的315只蚊,现场形态鉴定结果为:致倦库蚊(*Culex pipiens quinquefasciatus*; $n=27$)、三带喙库蚊(*Culex tritaeniorhynchus*; $n=110$)、白纹覆蚊 *Stegomyia albopicta* (白纹伊蚊, *Aedes albopictus*; $n=4$)^[17]、骚扰阿蚊(*Armigeres subalbatus*; $n=165$)和按蚊(*Anopheles* sp.; $n=9$)。查看灭蚊磁收集袋中的蚊虫,发现绝大多数为白纹覆蚊,少量骚扰阿蚊。上述两种方法获得的蚊种有所差异,应与诱集方式存在一定关系。随后挑选每种的5只(按蚊为所有9只)进行分子鉴定,结果显示除三带喙库蚊的ITS2序列与GenBank注册的序列仅85%相似,其他种类的分子鉴定结果与形态鉴定相符。本研究所获蚊虫种类与以往记录^[8-9]对照,未获得海滨库蚊(*Culex sitiens*)和褐尾路蚊 *Lutzia fuscana* (褐尾库蚊 *Culex fuscans*)^[17],分子鉴定结果显示,历史资料中记载的三带喙库蚊可能有误。

吸血昆虫中的按蚊为西沙群岛首次记述,以往的调查从未捕获过按蚊,推测其原因可能是淡水环境缺乏所致。本次诱捕到9只(其中2只雄蚊)按蚊,形态鉴定为塞蚊亚属(*Cellia*)带热蚊系(*Pyrethophorus* series)的种类(图1)。因该系的种类缺乏稳定的鉴别特征,容易误定^[18],故我们测定其客观的分子特征ITS2序列,经比对和综合分析,确定其种类均为浅色按蚊B(*Anopheles subpictus* cytotype B)。浅色按蚊为复合体,4成员中A/B/C/D有特征性的X染色体固定倒位^[18-19],幼虫孳生地等生态习性也不尽相同,如在印度和斯里兰卡,浅色按蚊B的孳生地主要在半咸水中,是沿海的优势种和传疟媒介^[19-21];而A/C/D的幼虫在印度主要孳生于淡水^[18, 22]。浅色按蚊B在海南岛的沿海地区也有发现(本课题组未发表资料),而该蚊在南海其他岛屿

的分布情况、季节消长以及传疟作用需进一步阐明。

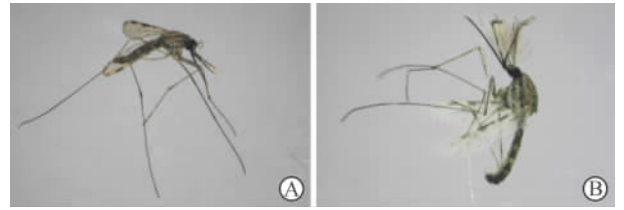


图1 浅色按蚊 B

Fig 1 *Anopheles subpictus* cytotype B

A: Female; B: Male

2.2.2 蚊

本研究获蚊121只,鉴定的种类包括:帛琉库蚊(*Culicoides peliliouensis*; $n=75$,占61.98%)、荒川库蚊(*Culicoides arakawae*; $n=1$)、日本库蚊(*Culicoides nipponensis*; $n=1$)、铗蚊(*Forcipomyia* sp.; $n=35$)、毛蚊(*Dasyhelea* sp.; $n=8$)、裸蚊(*Atrichopogon* sp.; $n=1$),详见表1。

表1 永兴岛和石岛的蚊科种类

Tab 1 Species of midges in Yongxing and Shi Islands

Subfamily	Genus	Species
<i>Ceratopogoninae</i>	<i>Culicoides</i>	<i>Culicoides peliliouensis</i>
		<i>Culicoides arakawae</i>
		<i>Culicoides nipponensis</i>
<i>Forcipomyiinae</i>	<i>Forcipomyia</i>	<i>Forcipomyia chrysolopha</i>
		<i>Forcipomyia borbonica</i>
		<i>Forcipomyia guangdongensis</i>
		<i>Atrichopogon</i>
<i>Dasyheleinae</i>	<i>Dasyhelea</i>	<i>Dasyhelea</i> sp.

蚊在西沙群岛属首次记述,以下是部分制片标本的结果。(1)帛琉库蚊(图2A~2D):最早发现于太平洋劳劳群岛^[23],后在印度尼西亚、马来西亚、菲律宾、泰国,以及中国台湾和海南岛等都有发现^[16]。本研究中帛琉库蚊是永兴岛的首次记述,也是灯诱蚊类中的优势种群。在制片的9只标本中发现有3只雄虫尾器与以往文献所描述的特征有一定差异^[16],两性成虫翅的明斑与报道于金门岛同种库蚊翅斑也有所不同^[24],有待进一步研究。(2)斑美铗蚊(图2E):模式产地是塞舌尔,广布于苏丹、埃塞俄比亚、苏丹、阿尔及利亚、刚果等^[25],与分布于我国四川、广西、福建、台湾和海南岛的美妙铗蚊(*Forcipomyia pulcherrima*)十分近似^[16],但斑美铗蚊不仅足股节、胫节中部有淡色环,而且各足膝部皆有淡色环,雄虫阳基侧突端部呈钩状。本文是斑美铗蚊在我国的首次记述。(3)泥泽铗蚊(图2F):是裂蚊亚属(*Schizoforcipomyia*)中分布于印度洋和太平洋

岛屿的特有蠓种,1959年由法国昆虫学家 Clatrier 发现于非洲印度洋的留尼旺岛^[26],随后记述于塞舌尔、关岛、夏威夷、新加坡、泰国和马来西亚等^[25]。本研究中永兴岛的泥泽钹蠓及其所隶属的裂蠓亚属在我国均为首次记述。(4)广东钹蠓(图 2G):1987年采自广东珠海市唐家湾镇附近,2001年由刘金华和虞以新描述^[14],本文是第2次在我国记述该种。(5)

毛蠓:与热带植物的花粉传播有关,据《中国蠓科昆虫》记载,我国已知有 151 种^[14],约占全世界已知种数的 1/4,本次制片检视至少有 1 种(图 2H,2I),需进一步确定是新种或是新记录。(6)裸蠓:仅见 1 只雌虫(图 2J),裸蠓主要为白天活动,因本研究采集时间的限制,故所获数量不多。

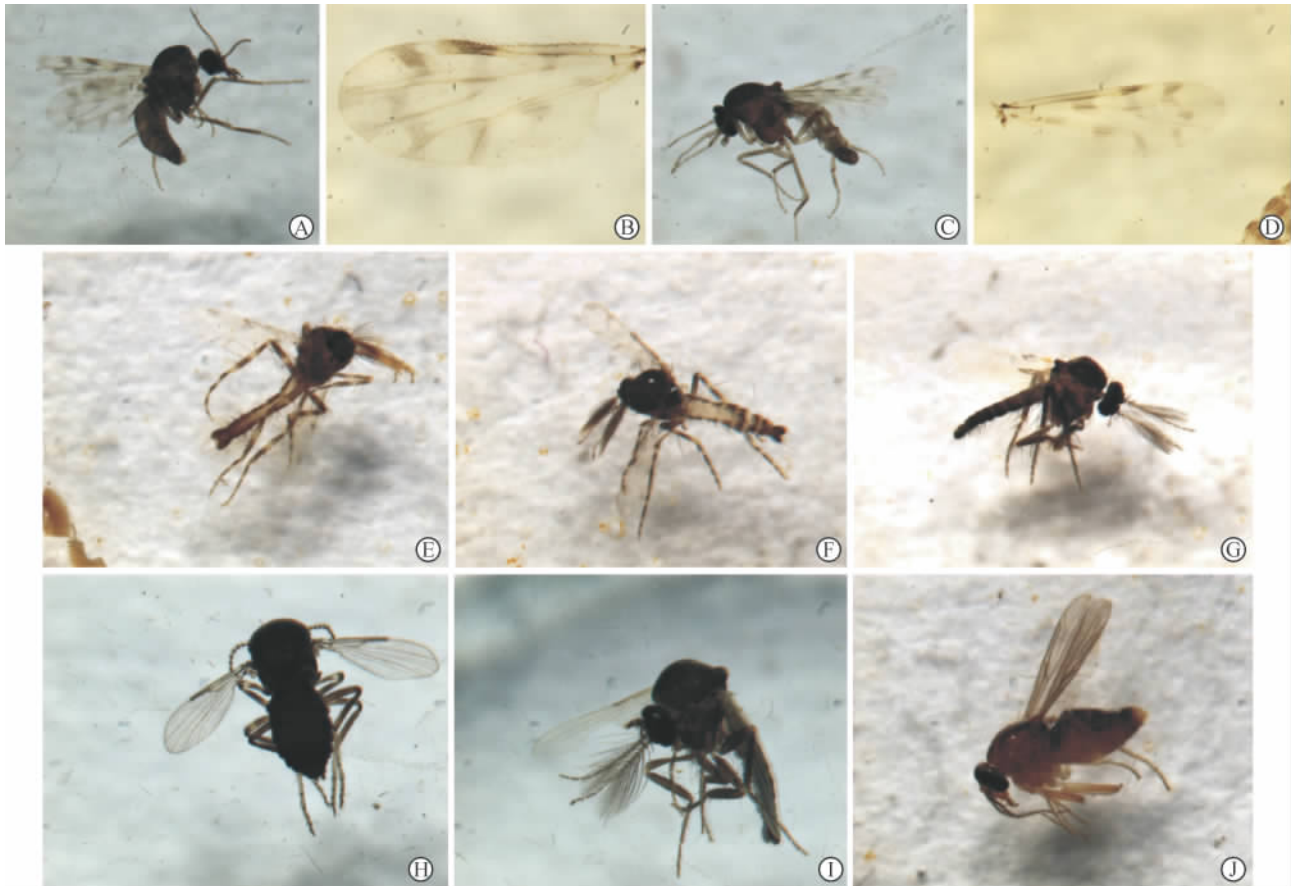


图 2 永兴岛和石岛的蠓科昆虫

Fig 2 The midges in Yongxing and Shi Islands

A-D: *Culicoides peliliouensis* Tokunaga, 1936 (A, B; Female; C, D: Male); E: *Forcipomyia (Lepidohelea) chrysolopha* (Kieffer), male; F: *Forcipomyia (Schizoforcipomyia) borbonica* Clatrier, male; G: *Forcipomyia guangdongensis* Liu and Yu, male; H, I: *Dasyhelea* sp. (H: Female; I: Male); J: *Atrichopogon* sp., female

综上所述,本研究于 2013 年 11 月至 12 月和 2014 年 2 月至 3 月两次赴西沙群岛永兴岛和石岛进行有害动物和医学昆虫调查,结合形态和分子特征对部分标本进行了鉴定研究。捕获的鼠形动物为 3 种,优势种为褐家鼠(61.25%);蚊虫有 4 属 5 种,诱蚊灯诱集的蚊虫优势种是骚扰阿蚊;蠓隶属 4 属至少 8 种,优势种为帛琉库蠓。永兴岛与石岛分布的种类未见差别,按蚊与蠓均为西沙群岛的首次记述,斑美钹蠓和泥泽钹蠓是我国的新记录种。提示该地区应加强吸血昆虫的防护并重视虫媒病的监测

和防控。

3 利益冲突

所有作者声明本文不涉及任何利益冲突。

(志谢 本研究蠓的种类均为军事医学科学院虞以新教授鉴定。摸清南海各岛屿吸血蠓的分布和危害情况是虞教授长久以来的愿望,在此致以诚挚的感谢和崇高的敬意!同时感谢 91892 部队医院的李剑华和杨杰在标本采集中提供的帮助!)

[参 考 文 献]

- [1] 陆振豸. 我国南海地区初步证实的几种新自然疫源地[J]. 中国人兽共患病杂志, 1997, 13: 206-207.
- [2] 黄佳亮, 龙芝美, 詹道成, 陆振豸, 周培盛, 刘金华, 等. 西沙群岛恙虫病自然疫源地调查研究[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 1996, 7: 350-353.
- [3] 黄佳亮, 詹道成, 陆振豸, 龙芝美. 西沙群岛人鼠恙虫病血清抗体调查及其分型[J]. 中国人兽共患病杂志, 1996, 12: 51-52.
- [4] 唐天开, 詹道成, 陆振豸, 范传海, 彭雪军. 南海某珊瑚岛恙虫病流行病学调查[J]. 解放军预防医学杂志, 2001, 19: 356-357.
- [5] 王珊珊, 苏建新, 李 健, 唐博恒, 刘金华. 南海重要岛屿部队人群恙虫病的综合防治[J]. 中国热带医学, 2008, 8: 2222-2223.
- [6] 林子刚, 徐小文, 肖烈钢, 范传海. 南海某群岛军民1989-1998年疾病谱调查分析[J]. 海军医学杂志, 2000, 21: 142-143.
- [7] 黄佳亮, 龙芝美, 陆振豸, 詹道成, 刘金华, 周培盛. 西沙群岛鼠形动物及体外寄生虫的调查[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 1996, 7: 25-28.
- [8] 龙芝美, 刘金华, 詹道成, 黄佳亮. 西沙群岛主要医学昆虫调查[G]. 流行病学调查集刊, 1995.
- [9] 朱康乐, 张裕能, 张恒才, 郭争平. 西沙群岛蚊蝇类调查报告[J]. 华南预防医学, 1981, 2: 6-9.
- [10] 郭晓峰, 吴耀建, 姜 尚, 彭荔红, 万显会. 海岛生态脆弱性驱动机制及对策措施初探——以平潭岛为例[J]. 海峡科学, 2009, 3: 3-5.
- [11] 孙元敏, 陈 彬, 俞炜炜, 马志远. 海岛资源开发活动的生态环境影响及保护对策研究[J]. 海洋开发与管理, 2010, 6: 87-91.
- [12] 陆宝麟. 中国重要医学动物鉴定手册[M]. 北京: 人民卫生出版社, 1982.
- [13] 刘润吉, 张荣波, 郭天宇, 覃龙江, 张晓龙. DNA条形码技术在贵州茂兰鼠类鉴定中的应用[J]. 中华卫生杀虫药械, 2014, 20: 59-62.
- [14] 陆宝麟. 中国动物志: 昆虫纲, 第九卷, 双翅目 蚊科[M]. 北京: 科学出版社, 1997.
- [15] 马雅军, 吴 静, 马 颖. 基于 rDNA-ITS2 序列的中国按蚊属塞蚊亚属部分种类的系统发育研究[J]. 昆虫分类学报, 2011, 33: 245-256.
- [16] 虞以新. 中国蠓科昆虫: 昆虫纲, 双翅目[M]. 北京: 军事医学科学出版社, 2006.
- [17] Harbach R E. Mosquito taxonomic inventory[EB/OL]. [2014-05-10] <http://mosquito-taxonomic-inventory.info/>
- [18] Chandra G, Bhattacharjee I, Chatterjee S. A review on *Anopheles subpictus* Grassi - a biological vector[J]. Acta Trop, 2010, 115(1-2): 142-154.
- [19] Suguna S G, Rathinam K G, Rajavel A R, Dhanda V. Morphological and chromosomal descriptions of new species in the *Anopheles subpictus* complex[J]. Med Vet Entomol, 1994, 9: 88-94.
- [20] Abhayawardana T A, Wijesuria S R E, Dilrukshi R R K C. *Anopheles subpictus* complex: distribution of sibling species in Sri Lanka[J]. Indian J Malariol, 1996, 33: 53-60.
- [21] Panicker K N, Geetha B M, Bheema R U S, Viswam K, Murthy U S. *Anopheles subpictus*: vector of malaria in coastal villages of southeast India[J]. Curr Sci, 1981, 50: 694-695.
- [22] Singh S P, Raghavendra K, Kumar R, Nanda N, Subbarao S K. Mophotaxonomic studies to identify the members of the *Anopheles subpictus* Grassi (Diptera: Culicidae) species complex in reverine village of district of Sonapat, Haryana state, India[J]. J Commun Dis, 2004, 36: 35-40.
- [23] Tokunaga M, Murachi E K. Diptera: Ceratopogonidae[J]. Insects Micronesia, 1959, 12: 322-350.
- [24] Lien J C, Lin C C, Weng M H, Chin C. Biting midges of the genus *Culicoides* (Diptera, Ceratopogonidae) from Kinmen Is. (Quemoy) [J]. J Taiwan Mus, 1996, 49: 117-135.
- [25] Wirth W W, Messersmith D H. Notes on the biting midges of the *Seychielles* (Diptera: Ceratopogonidae) [J]. Proc Entomol Soc Wash, 1977, 79: 293-309.
- [26] Clatrier J. Notes sur les *Ceratopogonides*. VIII - *Ceratopogondes* de l'île de la Reunion[J]. Arch Inst Pasteur d'Algerie, 1959, 37: 412-446.

[本文编辑] 徐 佳