

黄羽摇蚊 *Chironomus flaviplumus* Tokunaga 幼虫龄期的研究*

朱利明** 温虹 冯立辉 王丽卿 张瑞雷***

(上海海洋大学水产与生命学院, 上海 201306)

摘要 【目的】探寻黄羽摇蚊 *Chironomus flaviplumus* Tokunaga 幼虫最佳分龄形态指标并判断其龄数, 准确区分其幼虫龄期。【方法】本文采用实验室内人工养殖定期取样观察的方法, 分别测量了不同发育阶段摇蚊幼虫的头壳长、颏中齿顶端至冠突前缘间距离、头壳宽、颏宽、颏中齿宽、触角长、触角基节长、触角除基节以外 2~5 节长、上颚长、腹颏板长、腹颏板宽 11 项形态指标, 运用 Crosby 生长法则、频次分析、回归方法分析对 11 项形态指标测量数据进行统计分析, 选择判定幼虫龄数的最佳形态指标, 推断其幼虫的龄数及龄期。【结果】黄羽摇蚊幼虫可分为 4 个龄期, 颏宽为最佳的分龄形态指标, 1~4 龄幼虫的颏宽 (μm) 分别为 (30.9008 ± 0.3253) , (52.2114 ± 0.7172) , (98.6165 ± 0.6146) , (171.2985 ± 0.5582) 。幼虫颏宽 (y) 与龄期 (x) 的回归方程为 $y = 0.1971x^3 + 11.365x^2 - 14.163x + 33.502$, $R^2 = 0.9827$ 。另外, Y_2 (颏中齿顶端至冠突前缘间距离)、 Y_5 (颏中齿宽) 和 Y_9 (上颚长) 也可以作为分龄的辅助指标。选取颏宽对各龄期持续时间进行推测, 得出 1~4 龄幼虫的龄期分别为 2~3、2~4、5~6、7 d, 幼虫期共为 16~20 d。【结论】黄羽摇蚊幼虫具有 4 个龄期, 颏宽为最佳分龄形态指标, 幼虫期共为 16~20 d。

关键词 黄羽摇蚊, 幼虫龄期, 形态指标, Crosby 生长法则, 频次分析

Determination of larval instars of *Chironomus flaviplumus* Tokunaga (Chironomidae: Diptera)

ZHU Li-Ming** WEN Hong FENG Li-Hui WANG Li-Qing ZHANG Rui-Lei***

(College of Fisheries and Life Science, Shanghai Ocean University, Shanghai 201306, China)

Abstract 【Objectives】To determine the larval instars of *Chironomus flaviplumus* Tokunaga. 【Methods】Egg masses were artificially cultured in the lab and larvae sampled periodically for analysis. Eleven morphological metrics, including head capsule length, the length from the tip of the median teeth of the mentum to the leading coronoid, head capsule width, mentum width, the width of the median teeth of the mentum, antenna length, length of the basal antenna segment, the length of antenna segments 2-5, mandible length, and ventromental plate length and width, were measured. The optimal morphological metrics were chosen according to the Crosby growth rule, their frequency distribution and regression analysis. 【Results】The larval stage of *C. flaviplumus* is comprised of 4 instars and mentum width is the best morphological metric for identifying these. The average mentum width (μm) of instars 1st-4th were (30.9008 ± 0.3253) , (52.2114 ± 0.7172) , (98.6165 ± 0.6146) , and (171.2985 ± 0.5582) , respectively. The linear regression equation of the relationship between mentum width and instar number is $y = 0.1971x^3 + 11.365x^2 - 14.163x + 33.502$, $R^2 = 0.9827$. The length from the tip of the median teeth of the mentum to the leading coronoid, the width of the median teeth of the mentum, and the length of the mandible, can be used as auxiliary morphological metrics for identifying instars. Estimated average stadia of instars 1st-4th based on mentum width were 2-3, 2-4, 5-6 d and 7 d, respectively. The overall duration of the larval period was 16-20 d. 【Conclusion】The larval stage of *C. flaviplumus* is comprised of 4 instars and mentum width is the best morphological metric for identifying the larval instars of this species.

*资助项目 Supported projects: 国家自然科学基金项目 (31201739)

**第一作者 First author, E-mail: aquazhulm@163.com

***通讯作者 Corresponding author, E-mail: rlzhang@shou.edu.cn

收稿日期 Received: 2017-01-16, 接受日期 Accepted: 2017-03-24

Key words *Chironomus flaviplumus*, the larval instar, the morphological metrics, Crosby growth rule, the frequency distribution analysis

摇蚊科 (Chironomidae) 昆虫隶属于双翅目 (Diptera) 长角亚目 (Nematocera), 其幼虫生活在各类水体中, 是种类最多、分布最广、密度和生物量最大的淡水底栖动物类群之一 (Armitage *et al.*, 1995)。摇蚊科中的一些种类可危害水稻, 某些摇蚊幼虫可危害鱼苗、养殖的珍珠贝以及栽培的水生植物 (莼菜、水莲) (土山哲夫, 1953; 问锦曾和陈庆恩, 1960; 王士达和叶奕佐, 1986)。国外多年前就已经利用摇蚊幼虫口器或触角的形态畸变以及摇蚊幼虫的分布格局作为监测湖泊或河流水质、湖泊营养状态和污染程度的指标 (Cowell and Vodopich, 1981; Armitage *et al.*, 1995; 王俊才和李开国, 2000)。从 20 世纪 70 年代起, 国内外就已有城市供水系统中发生摇蚊幼虫污染的报道 (张瑞雷等, 2004)。不同龄期的摇蚊幼虫也被广泛应用在重金属、农药等生态毒理评价的研究中 (Lydy *et al.*, 1999; Fargasova, 2001)。

摇蚊属于完全变态昆虫, 其生活史要经历卵、幼虫、蛹、成虫 4 个阶段, 生活史的大部分时间都是以幼虫期渡过, 约占整个生活史的 91%~97% (王俊才和李开国, 2000)。幼虫龄期的确定是进一步研究发生规律、生物学习性、预测预报以及制定综合防治技术的基础 (魏书军等, 2006)。准确区分和判定摇蚊幼虫的龄期在生产防治和科学研究上具有重要意义, 但难度较大。黄羽摇蚊是在东亚地区广泛分布的一个种, 它是由 Tokunaga (1940) 依据产于日本的标本而建立的种, 其幼虫广泛的分布在各种类型的水体中, 对于黄羽摇蚊各虫态的特征及野外生物学特性已经有了详细的研究 (Sasa, 1978; Kim *et al.*, 2005), 但是对其具体的龄期划分缺少研究。本研究选择黄羽摇蚊幼虫 11 项形态指标, 采用合理的统计学方法, 初步推断其幼虫的龄数, 旨在找出判定幼虫龄数的最佳形态指标, 为摇蚊幼虫的在水产、环境毒理等方面利用提供重要的基础知识。

1 材料与方法

1.1 摇蚊幼虫的饲养

分别于 2016 年 3 月和 5 月在上海海洋大学校园内的池塘边采集刚产出不久未孵化的黄羽摇蚊卵块, 带回实验室中, 置于白色塑料桶中饲养 (白色塑料桶尺寸: 长×宽×高=35 cm×20 cm×25 cm), 白色塑料桶中放置曝气 3 d 以上的自来水, 水中放置加热棒, 水温保持 25℃左右。白色塑料桶底部平铺经 200 目筛网过滤后的河塘底泥, 底泥厚度为 5 mm 左右, 水位控制在 5 cm 并进行充氧。每天 9:00 和 21:00 滴喂数滴纯牛奶。

1.2 取样方法

卵块投入 1 d 后, 可观察到有幼虫已经孵出, 从黄羽摇蚊孵化之日 (2016 年 3 月 16 日和 2016 年 5 月 16 日) 起, 每天 9:00、21:00 各采集一次, 每次随机采集 10 头左右的摇蚊幼虫, 放入 75% 乙醇中保存, 贴上标签, 注明采集日期, 直到幼虫全部化蛹为止。如在采集过程中发现正在蜕皮或者刚蜕完皮的幼虫个体, 则单头保存, 方法同上, 供分龄时参考。将采集到的幼虫参照 Sæther (1969) 的制作程序, 用 Euparal 封片胶封片做成永久性玻片标本, 供显微镜下观察测量。

1.3 幼虫头壳形态指标的选择与测量

参考相关文献 (Vinicius *et al.*, 2013; 王雪龙等, 2015), 本研究选取摇蚊幼虫发育过程中骨化程度较高的结构进行测量, 共选择了以下 11 项形态指标 (图 1): Y1: 头壳长; Y2: 颏中齿顶端至冠突前缘间距离; Y3: 头壳宽; Y4: 颏宽; Y5: 颏中齿宽; Y6: 触角长; Y7: 触角基节长; Y7-8: 触角除基节以外 2~5 节长; Y9: 上颚长; Y10: 腹颏板长; Y11: 腹颏板宽。

应用 Olympus BX53 显微镜, 用 Image-Pro Express 6.3 软件测量形态指标数据, 共测量 356 头幼虫。

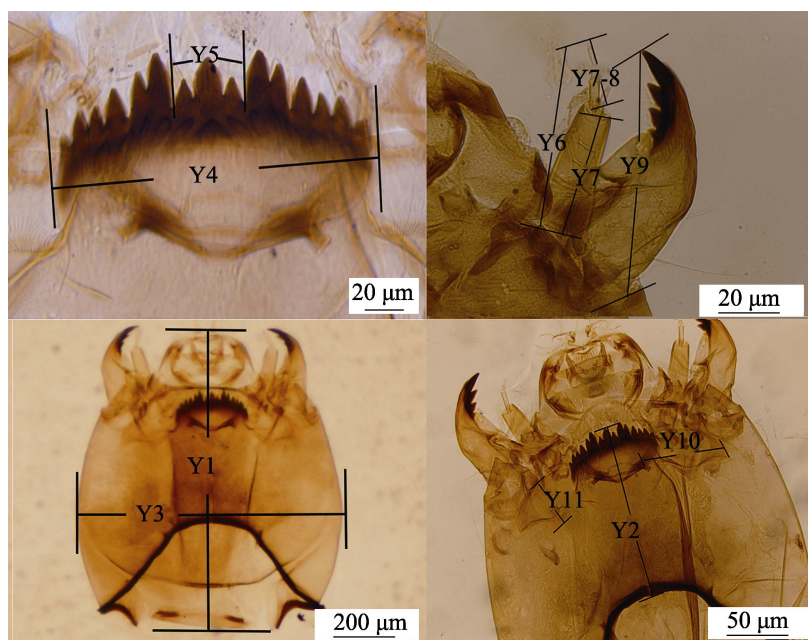


图 1 黄羽摇蚊幼虫分龄的 11 项测量指标

Fig. 1 11 metrics used for distinguishing instars of *Chironomus flaviplumus* larva

Y1: 头壳长; Y2: 颏中齿顶端至冠突前缘间距离; Y3: 头壳宽; Y4: 颏宽; Y5: 颏中齿宽; Y6: 触角长;
Y7: 触角基节长; Y7-8: 触角除基节以外 2~5 节长; Y9: 上颚长; Y10: 腹颏板长; Y11 腹颏板宽。

Y1: Head capsule length; Y2: Length from tip of the median teeth of mentum to leading coronoid; Y3: Head capsule width;

Y4: Mentum width; Y5: Width of median teeth of mentum; Y6: Antenna length; Y7: Basal segment length of antenna;

Y7-8: Length of segments 2-5 of antenna; Y9: Length of the mandible; Y10: Length of the ventromental plate;

Y11: Width of the ventromental plate.

1.4 数据处理与分析

在 Excel 2007 中对数据进行预处理, 利用 SPSS19.0 对所测数据进行分析, 利用 Origin8.6 绘制频次分布图, 初步确定幼虫的龄期。频次分布图中频次集中的几个区域, 一个集中区域就代表一个龄期 (张海滨等, 2011)。根据测定值计算各龄幼虫测量指标 Y1~Y11 的均值、标准误差及变异系数 (王小艺等, 2005), 再根据 Dyar 定律 (Chapman, 1998; 彩万志等, 2001) 和 Crosby 生长法则 (Loerch and Cameron, 1983) 计算 Brooks 指数和 Crosby 指数, 以确定最佳分龄指标和龄期划分的标准。昆虫幼虫头壳及其它表皮结构长度的对数与龄数之间存在直线关系和修改指数曲线关系这两种关系 (陈永年和潘栋, 1988)。将各指标数据与相应龄数进行回归分析, 进一步验证分龄的合理性。变异系数小于 20%、Crosby 指数小于 10% 表示分龄准确 (Loerch and Cameron, 1983; Chapman, 1998; 彩万志

等, 2001; 王小艺等, 2005), 符合统计上的要求, Brooks 指数和 Crosby 指数按如下公式计算。

Brooks 指数 = X_n / X_{n-1} (X_n 和 X_{n-1} 分别表示 n 龄和 $n-1$ 龄幼虫各测量指标的平均值),

Crosby 指数 = $(b_n - b_{n-1}) / b_{n-1}$ (b_n 和 b_{n-1} 分别表示第 n 和 $n-1$ 个 Brooks 指数)。

2 结果与分析

2.1 黄羽摇蚊幼虫龄数的确定

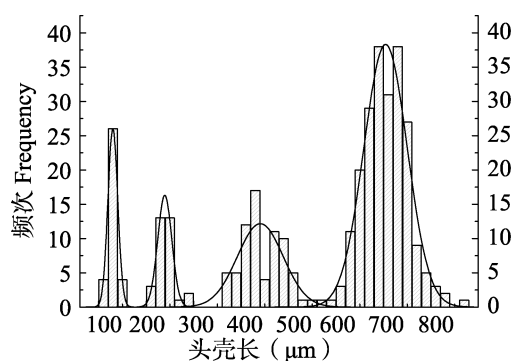
采集室内饲养的完整的黄羽摇蚊幼虫共 356 头, 对其骨化程度较高的头壳进行测量, 共测量 11 项分龄指标, 分别作这 11 项指标测量值的频次分布图。根据对 356 头黄羽摇蚊幼虫 11 项指标的测定结果, 分别对这 11 项指标的测量值进行了频次分布的统计分析, 结果表明, Y8-触角比 (触角基节与其余各节的长度之比) 这个指标重叠比较多, 除了 Y8 这项指标外, 其余 10 个指标的频次分布明显具有 4 个集中区和 4 个峰

值, 因此黄羽摇蚊分为 4 龄 (图 2), 通过频次分布图初步判定 Y8 这个指标对于分龄不合适。还需通过对剩余 10 个指标进行 Crosby 指数分析和回归分析来验证其合理性。

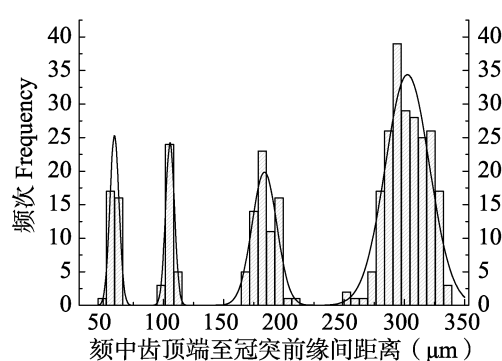
2.2 Brooks 指数和 Crosby 指数分析

根据黄羽摇蚊幼虫头壳的 10 种不同的形态指标数据, 计算各龄幼虫 10 项指标的平均值、数值变幅、样本数、变异系数以及 Brooks 指数和 Crosby 指数 (表 1)。

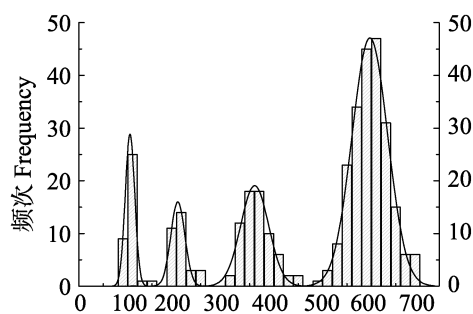
从表 1 可以发现, 这 10 项指标的变异系数在 0.0301~0.1468, 均小于 20%。但是 Y1、Y3、Y4、Y7、Y10、Y11 这 6 项指标的 Crosby 指数大于 10%, 因此这几项指标对于分龄来说不合适。剩余 Y2、Y5、Y6、Y9 这 4 项指标在龄数划分时, 相邻龄数的测量值间没有重叠, 且 Crosby 指数均小于 10%, Brooks 指数在 1.6~2.1 之间, 符合 Dyar 定律, 表明将黄羽摇蚊划分为 4 个龄期是合适的。



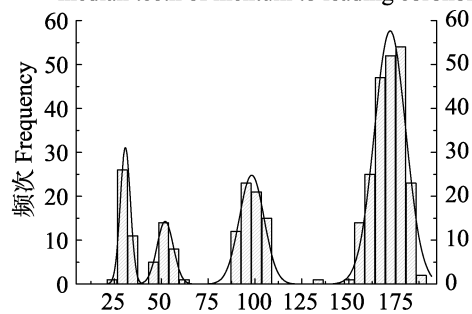
头壳长 (μm)
Head capsule length
Y1 头壳长频次分布
Frequency distribution of head capsule length



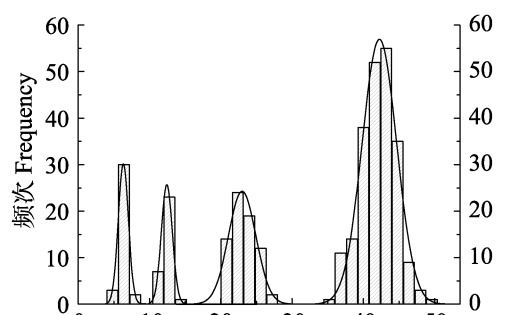
颏中齿顶端至冠突前缘间距离 (μm)
Length from tip of the median teeth of mentum to leading coronoid
Y2 突前缘间距离频次分布
Frequency distribution of length from tip of the median teeth of mentum to leading coronoid



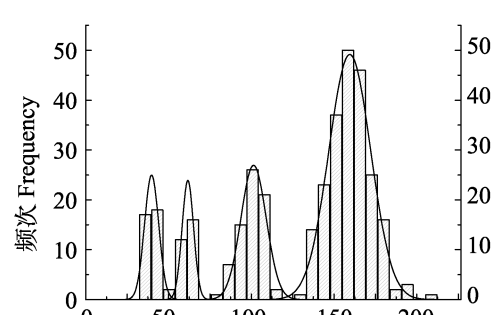
头壳宽 (μm) Head capsule width
Y3 头壳宽频次分布
Frequency distribution of head capsule width



颏宽 (μm) Mentum width
Y4 颏宽频次分布
Frequency distribution of mentum width



颏中齿宽 (μm) Median teeth width of mentum
Y5 颏中齿宽频次分布
Frequency distribution of median teeth width of mentum



触角长 (μm) Antenna length
Y6 触角长频次分布
Frequency distribution of antenna length

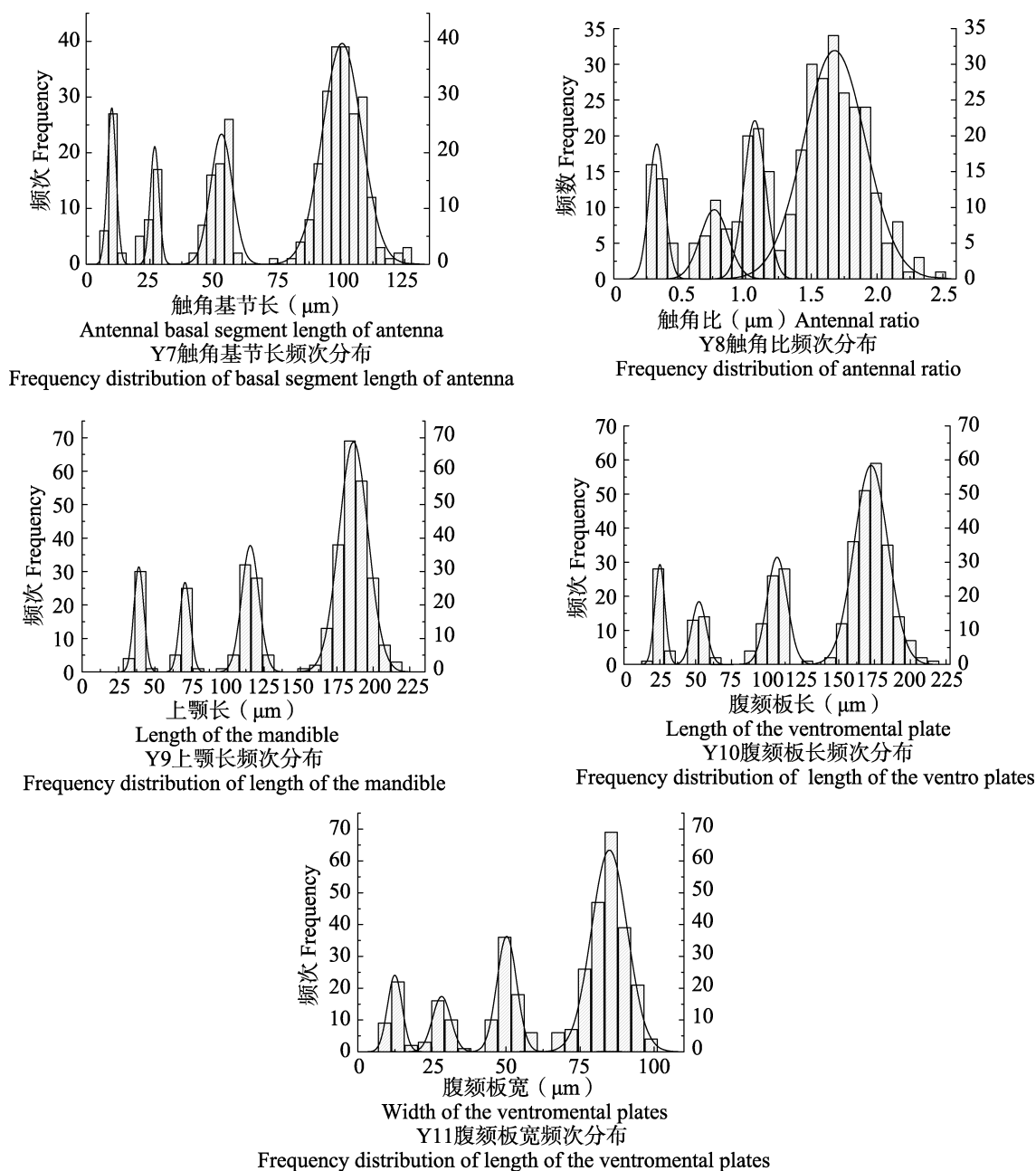


图 2 黄羽摇蚊幼虫 11 种形态指标测量值频次分布图
 Fig. 2 Frequency histograms of 11 morphological metrics used for distinguishing the larval instars of *Chironomus flaviplum*

2.3 黄羽摇蚊各测量指标与龄数的回归分析

选取合适的 9 组数据对黄羽摇蚊幼虫各项分龄形态指标实测值与相应龄数之间进行线性指数回归分析。结果表明, 所测的 9 组数据的实测值与龄数之间都符合 Dyar 定律所描述的关系; 经检验, 回归曲线均达到极显著水平 ($P < 0.01$) (表 2)。从表 2 中可以看出, 比较同一项

指标的各个相关系数, 发现指数拟合相关系数相比较其他 3 个拟合曲线相关系数较小, 拟合程度较差; Y4 的三次线性相关系数最大 ($R^2=0.9827$), 且 Y4 的各项拟合方程的相关系数相比较其他 8 项指标都较大, 拟合效果最好。Y2、Y5、Y9 3 个测量指标的三次线性相关系数也较大, 分别为 $R^2=0.9771$, $R^2=0.9753$, $R^2=0.9742$ 。在同一项指标的各个相关系数中, 三次线性相关系数相比较

表 1 黄羽摇蚊幼虫分龄的 10 项形态指标测量值
Table 1 Measurements and statistics of 10 metrics of *Chironomus flaviplumus* larva

形态指标 Metrics	龄数 Instar	变幅 Range	均值±标准误 Mean±SE	样本数 Number of specimen	变异系数 Coefficient of variation	99%置信区间 99% Confidence interval	Brooks 指数 Brooks index	Crosby 指数 Crosby index
Y1	1	112.25–147.79	131.0076±1.4046d	34	0.0625	127.1684–134.8469		
	2	204.61–298.72	242.1525±3.3829c	32	0.0790	232.8696–251.4354	1.8484	
	3	364.34–540.86	443.3608±5.0181b	71	0.0954	430.0734–456.6483	1.8309	- 0.009
	4	571.24–861.51	705.3668±3.0940a	219	0.0649	697.3269–713.4066	1.591	- 0.131
Y2	1	52.30–62.01	58.2888±0.4331d	34	0.0433	57.1052–59.4725		
	2	97.46–112.76	105.7128±0.5632c	32	0.0301	104.1673–107.2583	1.8136	
	3	167.40–207.19	184.3510±1.0470b	71	0.0479	181.5786–187.1234	1.7439	- 0.038
	4	250.06–336.93	302.5795±1.1123a	219	0.0544	299.6890–305.4699	1.6413	- 0.059
Y3	1	85.01–124.39	103.5291±1.1835d	35	0.0676	100.3000–106.7583		
	2	159.61–248.32	207.1016±3.4735c	32	0.0949	197.5701–216.6330	2.0004	
	3	312.18–422.84	364.5866±3.1887b	68	0.0721	356.1326–373.0406	1.7604	- 0.12
	4	453.31–695.55	597.3619±2.6799a	221	0.0667	590.3984–604.3253	1.6385	- 0.069
Y4	1	26.11–34.87	30.9008±0.3253d	38	0.0649	30.0174–31.7842		
	2	44.63–59.62	52.2114±0.7172c	28	0.0727	50.2243–54.1985	1.6896	
	3	87.58–107.68	98.6165±0.6146b	71	0.0525	96.9892–100.2438	1.8888	0.118
	4	131.82–188.46	171.2985±0.5582a	219	0.0482	169.8480–172.7490	1.737	- 0.08
Y5	1	5.48–7.56	6.1731±0.0887d	35	0.0850	5.9312–6.4151		
	2	11.10–13.64	12.5668±0.1229c	31	0.0544	12.2289–12.9047	2.0357	
	3	20.34–26.56	23.1631±0.2017b	71	0.0734	22.6290–23.6972	1.8432	- 0.095
	4	35.31–49.82	42.0662±0.1688a	219	0.0594	41.6275–42.5050	1.8161	- 0.015
Y6	1	32.85–43.19	39.2457±0.4073d	35	0.0614	38.1345–40.3570		
	2	50.44–66.32	60.5057±0.6961c	30	0.0630	58.5869–62.4244	1.5417	
	3	82.72–118.43	100.0047±0.8819b	72	0.0748	97.6703–102.3391	1.6528	0.072
	4	133.05–212.20	160.0243±0.8572a	218	0.0791	157.7966–162.2520	1.6002	- 0.032
Y7	1	7.93–12.55	10.0174±0.2298d	35	0.1357	9.3904–10.6445		
	2	19.39–29.66	26.039±0.4871c	30	0.1025	24.6964–27.3816	2.5994	
	3	40.34–58.56	52.1783±0.4789b	71	0.0773	50.9101–53.4465	2.0039	- 0.229
	4	72.02–125.31	100.5951±0.5522a	219	0.0812	99.1602–102.0299	1.9279	- 0.038
Y9	1	31.25–44.88	39.2571±0.5261d	35	0.0793	37.8218–40.6924		
	2	62.79–79.75	70.7468±0.6209c	31	0.0489	69.0394–72.4542	1.8021	
	3	94.00–129.82	115.3359±0.7717b	71	0.0564	113.2926–117.3793	1.6303	- 0.095
	4	155.35–215.53	186.6508±0.6923a	219	0.0549	184.8519–188.4496	1.6183	- 0.007
Y10	1	19.53–33.84	24.6149±0.5267d	33	0.1229	23.1724–26.0573		
	2	45.37–60.62	53.3135±0.7622c	29	0.077	51.2073–55.4196	2.1659	

续表 1 (Table 1 continued)

形态指标 Metrics	龄数 Instar	变幅 Range	均值±标准误 Mean±SE	样本数 Number of specimen	变异系数 Coefficient of variation	99%置信区间 99% Confidence interval	Brooks 指数 Brooks index	Crosby 指数 Crosby index
	3	86.51-124.95	104.8246±0.8275b	71	0.0665	102.6335-107.0158	1.9662	- 0.092
	4	146.89-213.15	173.4072±0.8194a	219	0.0699	171.2779-175.5366	1.6543	- 0.159
Y11	1	10.04-18.06	12.4649±0.3185d	33	0.1468	11.5927-13.3370		
	2	22.30-35.87	28.5867±0.5380c	30	0.1031	27.1036-30.0697	2.2934	
	3	44.15-57.83	50.7321±0.3999b	70	0.066	49.6727-51.7915	1.7747	- 0.226
	4	66.01-98.94	84.4870±0.4230a	219	0.0741	83.3877-85.5863	1.6654	- 0.062

Y1：头壳长；Y2：颏中齿顶端至冠突前缘间距离；Y3：头壳宽；Y4：颏宽；Y5 颏中齿宽；Y6：触角长；Y7：触角基节长；Y9：上颚长；Y10：腹颏板长；Y11 腹颏板宽。表中同一指标均值后标有不同字母表示经 LSD 多重比较差异显著 ($P<0.05$)。

Y1: Head capsule length; Y2: Length from tip of the median teeth of mentum to leading coronoid; Y3: Head capsule width; Y4: Mentum width; Y5: Median teeth width of mentum; Y6: Antenna length; Y7: Basal segment length of antenna; Y9: Length of the mandible; Y10: Length of the ventromental plate; Y11: Width of the ventromental plate. Dates are mean± SE, and followed by different letters indicate significantly different at 0. 05 level by Fisher LSD test.

表 2 黄羽摇蚊幼虫 10 种形态结构测量值回归方程及回归系数
Table 2 Regression equation and coefficient of 10 metrics of *Chironomus flaviplumus* larva

形态结构 Morphological structures	拟合模型 Fitted model	回归方程 Regression equation	相关系数 R^2 Correlation coefficient	显著水平 P Significance level
Y1	直线 Linear	$y=206.05x-130.74$	0.9414	<0.01
	二次 Quadratic	$y=36.45x^2+9.95x+82.66$	0.9619	<0.01
	三次 Cubic	$y=-4.88x^3+74.30x^2-77.61x+139.19$	0.9620	<0.01
	指数 Exponential	$y=91.98e^{0.51x}$	0.9589	<0.01
Y2	直线 Linear	$y=88.13x-55.87$	0.9493	<0.01
	二次 Quadratic	$y=18.06x^2-9.10x+49.88$	0.9770	<0.01
	三次 Cubic	$y=1.40x^3+7.23x^2+15.96x+33.70$	0.9771	<0.01
	指数 Exponential	$y=38.12e^{0.52x}$	0.9762	<0.01
Y3	直线 Linear	$y=176.38x-118.82$	0.9422	<0.01
	二次 Quadratic	$y=33.18x^2-1.83x+73.54$	0.9648	<0.01
	三次 Cubic	$y=3.56x^3+5.58x^2+61.90x+32.49$	0.9649	<0.01
	指数 Exponential	$y=72.61e^{0.53x}$	0.9629	<0.01
Y4	直线 Linear	$y=51.05x-37.19$	0.9418	<0.01
	二次 Quadratic	$y=12.90x^2-17.71x+35.78$	0.9827	<0.01
	三次 Cubic	$y=0.20x^3+11.37x^2-14.16x+33.50$	0.9827	<0.01
	指数 Exponential	$y=17.70e^{0.57x}$	0.9823	<0.01
Y5	直线 Linear	$y=13.09x-11.39$	0.9335	<0.01
	二次 Quadratic	$y=3.31x^2-4.67x+7.80$	0.9748	<0.01
	三次 Cubic	$y=0.68x^3-2.00x^2+7.61x-0.12$	0.9753	<0.01
	指数 Exponential	$y=3.70e^{0.61x}$	0.9750	<0.01

续表 2 (Table 2 continued)

形态结构 Morphological structures	拟合模型 Fitted model	回归方程 Regression equation	相关系数 R^2 Correlation coefficient	显著水平 P Significance level
Y6	直线 Linear	$y=43.79x-18.40$	0.9142	<0.01
	二次 Quadratic	$y=9.79x^2-8.76x+38.35$	0.9462	<0.01
	三次 Cubic	$y=0.38x^3+6.84x^2-1.92x+33.94$	0.9462	<0.01
	指数 Exponential	$y=24.01e^{0.47x}$	0.9459	<0.01
Y7	直线 Linear	$y=33.06x-34.58$	0.9174	<0.01
	二次 Quadratic	$y=8.64x^2-13.30x+15.43$	0.9608	<0.01
	三次 Cubic	$y=2.03x^3-7.10x^2+23.14x-8.05$	0.9616	<0.01
	指数 Exponential	$y=6.65e^{0.68x}$	0.9605	<0.01
Y9	直线 Linear	$y=52.69x-27.71$	0.9475	<0.01
	二次 Quadratic	$y=10.55x^2-3.96x+33.53$	0.9738	<0.01
	三次 Cubic	$y=2.27x^3-7.08x^2+36.82x+7.24$	0.9742	<0.01
	指数 Exponential	$y=25.98e^{0.49x}$	0.9736	<0.01
Y10	直线 Linear	$y=53.45x-43.44$	0.9425	<0.01
	二次 Quadratic	$y=9.71x^2+1.21x+13.33$	0.9644	<0.01
	三次 Cubic	$y=-0.96x^3+17.15x^2-16.04x+24.47$	0.9645	<0.01
	指数 Exponential	$y=18.62e^{0.56x}$	0.9599	<0.01

其他 3 个拟合相关系数均较大,说明形态指标与相应龄期之间更符合三次回归方程拟合。而且,在这 9 项指标的频次分布中都清晰的出现了 4 个峰,因此,黄羽摇蚊幼虫划分为 4 龄。其中,Y4 的各个回归分析的相关系数都是最大,且 Crosby 指数和变异系数都符合规律,因此 Y4(颏宽)是最佳分龄指标。另外,Y2(颏中齿顶端至冠突前缘间距离)、Y5(颏中齿宽)和 Y9(大颏长)也可以作为分龄的辅助指标。

2.4 各龄期持续时间的推断

确定了黄羽摇蚊幼虫的龄数后,根据划分幼虫龄数最可靠的指标颏宽(Y4),对摇蚊幼虫各龄期持续时间进行推测,得出结果(表 3),1~4 龄幼虫的龄期分别为 2~3、2~4、5~6 和 7 d,幼虫期共为 16~20 d。

3 讨论

3.1 黄羽摇蚊幼虫龄期

在摇蚊幼虫龄数研究这方面,国外已见诸多

表 3 黄羽摇蚊幼虫各龄幼虫的持续时间
Table 3 Stadia duration of each larval instar of *Chironomus flaviplumus*

龄期 Instar	Y4 颏宽 (μm) Y4 Mentum width	持续日期 Duration	天数 (d) Days
1	32.85–43.19	2016.3.16–2016.3.18 2016.5.16–2016.5.18	2–3
2	50.44–66.32	2016.3.19–2016.3.20 2016.5.18–2016.5.22	2–4
3	82.72–118.43	2016.3.21–2016.3.25 2016.5.21–2016.5.26	5–6
4	133.05–212.20	2016.3.26–2016.4.1 2016.5.23–2016.5.29	7

报道,而国内的相关研究较少。大多数的研究都支持摇蚊幼虫有 4 个龄期,Edwards (1926) 在研究中发现摇蚊亚科的大部分种类幼虫具有 4 个龄期;Sadler (1935) 及 Rempel (1936) 通过研究 *Chironomus tentans* Fabr 和 *Chironomus anthracinus* (Zett.)也发现了相同的结果,认为摇蚊幼虫是一种 4 龄幼虫;Berg (1950) 通过研究 *Cricotopus elegans* Joh 也认为摇蚊幼虫具有 4 个龄期;Vinicius 等 (2013) 在研究中得出

Chronomus sancticaroli (Strixino & Strixino) 同样具有 4 个龄期。总体来说, 长足摇蚊亚科、寡角摇蚊亚科、直突摇蚊亚科和摇蚊亚科幼虫大多具有 4 个龄期 (Thienemann, 1954; Ford, 1959; Canteiro and Albertoni, 2011); 但是也存在一些其它情况, Ford (1959) 研究表明直突摇蚊亚科有些种类幼虫存在 3 个或 5 个龄期, Kettish (1936, 1937) 在研究中发现了 *Cricotopus trifasciatus* (Panz.) 具有 7 个龄期; Berg (1950) 发现了 *Cricotopus flavipes* Joh, *Glyptotendipes dreisbachi* Townes 和 *Polypedilum* (*Pentapedilum*) *sordens* (v.d. Wulp) 具有 3 个龄期, Styczyński 和 Rakusa (1963) 报道了 *Cricotopus humeralis* Zett. 和 *Orthocladus consobrinus* Holmg. 等种类的摇蚊幼虫具有 5 龄; Peckman (1971) 在研究中发现 *Belgica antarctica* Jacobs 具有 6 个龄期。国内对摇蚊龄期的研究较少, 王雪龙等 (2015) 研究表明, 背摇蚊 *Chironomus dorsalis* Anderson 幼虫具有 4 个龄期。目前结合本研究的研究结果可知摇蚊亚科摇蚊属 (*Chironomus*) 的幼虫都具有 4 个龄期。

3.2 黄羽摇蚊幼虫可量性状的选择

在幼虫龄期的划分工作中, 昆虫学工作者通常以头壳宽度、体重、体宽、体长、趾钩数目以及类型等指标作为分龄特征, 其中最常用的划分指标便是幼虫头壳宽度 (万喻等, 2015), 这个指标已在包括蟋蟀科 (直翅目) (Gabbutt, 1959)、飞虱科 (同翅目) (Hamilton, 1965)、象甲科 (鞘翅目) (Harman, 1970)、沼石蛾科 (毛翅目) (Winterbourn, 1971) 和蚊科 (双翅目) (Makiya, 1969) 等幼虫龄期的研究中得到广泛的应用。

在以往的判断摇蚊幼虫龄期的研究中, 体长以及与头壳各结构有关的头壳长、头壳宽、下唇、上颚、颊板等各形态指标都被采用, 但并没有哪一个测量指标是占绝对优势, 头壳长和宽以及体长是应用最多的特征 (McCauley, 1974)。昆虫幼虫体长随着虫龄的增加而增长, 呈现一定的规律性, 但体长的增长是连续的, 各龄幼虫间体长重叠现象, 且个体之间体长变异较大, 因此不

宜用于作为龄期划分的指标和依据 (李召波等, 2014)。摇蚊幼虫在制作玻片观察标本时身体会收缩, 同时食物、环境条件等因素也会影响幼虫体长与体宽, 所以以它们作为分龄依据, 准确度较低 (宗世祥等, 2006)。相比较而言, 骨化程度较高的颊板、上颚、腹颊板在测量过程中就相对容易看清楚, 测量较准确。不同的研究者所采用的形态指标种类和数目都不同, Victor 和 McCauley (1974) 仅用幼虫头壳长和宽两个指标来确定摇蚊幼虫龄期, Annelie 和 Constance (1982) 使用了触角、上颚、颊中齿、颊板和腹颊板等 5 个形态指标作为龄期区分的指标, Vinicius 等 (2013) 选取了触角、上颚、颊板、腹颊板以及颊中齿顶端至冠突前缘间距离等作为龄期区分的指标, 并提出了将腹颊板条纹数作为确定幼虫龄期的新指标。本研究中, 我们摒弃了摇蚊幼虫的体长和体宽这两个指标, 选择了在发育过程中骨化较明显, 性状稳定易于测量的 11 个形态指标, 频次分布分析显示指标 Y8 (触角比) 出现重叠被剔除, 其余 10 项形态指标的测量值, 龄期之间没有出现重叠现象, 用它们来判定龄期可靠的, 进行回归分析的 9 项测量指标与龄数都呈现回归关系, 即黄羽摇蚊幼虫的生长发育呈几何级数增长, 符合 Dyar 定律。本研究结果显示颊宽是最佳的分龄指标。

3.3 影响龄数的因素

昆虫幼虫期的生长发育受到温度、光照、食物供给、幼虫密度等因数的影响, 不同条件下幼虫龄数可能不同 (王小艺等, 2012)。且这些因素都可以改变幼虫发育和昆虫的尺寸 (Canteiro and Albertoni, 2011)。生活于化学污染环境中的幼虫会影响形态结构的尺寸, 也可能导致龄数的变化 (Victor and McCauley, 1974)。Hamilton 和 Sæther (1971) 发现了在重污染区采集的幼虫有非常严重的畸形现象。Trivinho-Strixino 和 Strixino (1982) 在不同实验室条件下饲养的摇蚊幼虫, 发育时间具有显著差异, 但是头壳各指标的长度在每一龄期都是连续的。因此, 非生物因素并不影响头壳的尺寸, 其主要影响的是各龄

期持续的时间 (Vinicius *et al.*, 2013)。Stevens (1993) 研究表明, *Chironomus tepperi* Skuse 幼虫在野外 17.5℃ 和实验室 25.0℃ 饲养时, 具有相似尺寸的头壳, 即温度变化尚不能引起龄期数的不同而只会造成不同龄期持续时间的不同, 因此室内的研究结果可以用于室外龄期的推测。

已有的对研究摇蚊幼虫龄期划分的研究, 实验用幼虫多采自于野外 (Styczyński and Rakusa, 1923; Oliver, 1971; Peckman, 1971; McCauley, 1974; Annelle and Constance, 1982), 只有 Berg (1950) 和 Vinicius 等 (2013) 研究工作采用的幼虫是人工饲养的。相比较野外采集的摇蚊幼虫, 实验室饲养的幼虫由于不会受到天敌和环境等外界因素的影响, 生长差异小, 有利于数据的统计分析, 形态结构具有较高的一致性, 数据分析结果更为可靠、准确 (张海濱等, 2011)。本研究所用的黄羽摇蚊幼虫都是由采于野外的同一卵块在相同的实验室条件下饲养获得的。

参考文献 (References)

- Annelle RS, Constance LR, 1982. Identification of instars and species in some *Polypedilum* (*Polypeilum*) (Diptera: Chironomidae). *Hydrobiologia*, 94 (1): 25–32.
- Armitage PD, Cranston PS, Pinder LCV, 1995. The Chironomidae Biology and Ecology of Nonbiting Midges. London: Chapman and Hall. 1–572.
- Berg CO, 1950. Biology of certain Chironomidae reared from Potamogeton. *Ecology Monographs*, 20(2): 83–101.
- Cai WZ, Pang XF, Hua BZ, 2001. General Entomology (2nd edition). Beijing: China Agricultural University Press. 229–230. [彩万志, 庞雄飞, 花保祯, 2001. 普通昆虫学(第2版). 北京: 中国农业大学出版社. 229–230.]
- Canteiro R, CSA, Albertoni EF, 2011. Growth of immature *Chironomus calligraphus* (Diptera, Chironomidae) in laboratory conditions. *Anais da Academia Brasileira de Ciências*, 83(4): 1279–1286.
- Chapman RF, 1998. The Insects: Structure and Function (4th edition). Cambridge: Cambridge University Press. 376–380.
- Chen YN, Pan D, 1988. About the growth law of feeding ability and head capsule width of insect larvae. *Chinese Bulletin of Entomology*, 25(4): 235–240. [陈永年, 潘栋, 1988. 也谈昆虫幼虫头壳宽及摄食量的增长规律. *昆虫知识*, 25(4): 235–240.]
- Cowell BC, Vodopich DS, 1981. Distribution and seasonal abundance of benthic macroinvertebrates in a subtropical Florida lake. *Hydrobiologia*, 78(2): 97–105.
- Edwards FW, 1926. The phylogeny of nematoceros Diptera: a critical review of some recent suggestions. *Internationalen Entomologen*, (1): 111–130.
- Fargasova A, 2001. Winter Third-to Fourth-instar larvae of *Chironomus plumosus* as bioassay tools for assessment of acute toxicity of metals and their binary combinations. *Ecotoxicology and Environmental Safety*, 48(1): 1–5.
- Ford JB, 1959. A study of larval growth, the number of instars and sexual differentiation in the Chironomidae (Diptera). *Proceedings of the Royal Entomological Society of London*, 34(10/12): 151–160.
- Gabbutt PD, 1959. The instars of the wood-cricket, *Nemobius sylvestris* (Bosc.) (Orthoptera: Gryllidae). *Proceedings of the Royal Entomological Society of London, Series A*, 34(1/3): 37–43.
- Hamilton AL, 1965. Analysis of a freshwater benthic community with special reference to the chironomidae. Doctoral dissertation. Vancouver: University of British Columbia.
- Harman DM, 1970. Determination of larval instars of the white-pine weevil by head-capsule measurements. *Annals of the Entomological Society of America*, 63(6): 1573–1575.
- Kettisch J, 1936. Zur kenntnis der morphologie und ökologie der larvae von *Cricotopus trifasciatus*. *Konowia*, 15(3/4): 248–263.
- Kettisch J, 1937. Zur kenntnis der morphologie und ökologie der larvae von *Cricotopus trifasciatus*. *Konowia*, 16(2): 156–163.
- Kim, MC, Chun DJ, Ro TH, Han SS, 2005. Life cycle and seasonal changes of the midge, *Chironomus flaviplumus* (Diptera: Chironomidae), in Wangsuk Creek, Korea. *Journal of Freshwater Ecology*, 20 (2): 409–411.
- Li ZB, Li JW, Zhao N, 2014. Determination of the larval instars of *Athetis lepigone* (Mschler). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 51(5): 1350–1355. [李召波, 李静雯, 赵楠, 2014. 二点委夜蛾幼虫虫龄的测定. *应用昆虫学报*, 51(5): 1350–1355.]
- Loerch CR, Cameron EA, 1983. Determination of larval instars of the bronze birch borer, *Agilus anxius*. *Annals of the Entomological Society of America*, 76(6): 948–952.
- Lydy MJ, Belden JB, Ternes MA, 1999. Effects of temperature on the toxicity of m-parathion, chlorpyrifos, and pentachlorobenzene to *Chironomus tentans*. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology*, 37(4): 542–547.
- Makiya K, 1969. Head width of mosquito larvae for instar determination. *Japanese Journal of Sanitary Zoology*, 20(3): 185–195.
- McCauley VJE, 1974. Instar differentiation in larval Chironomidae (Diptera). *The Canadian Entomologist*, 106(2): 179–200.
- Oliver DR, 1971. Life history of the Chironomidae. *Annual Review of Entomology*, 16: 211–230.
- Peckman V, 1971. Notes on the chironomid midge *Belgica antarctica* Jacobs at Anvers Island in the Maritime Antarctic.

- Pacific Insects Monograph*, 25: 145–166.
- Rempel JG, 1936. The life-history and morphology of *Chironomus hyperboreus*. *Journal of the Biological Board of Canada*, 2(2): 209–221.
- Sadler WO, 1935. Biology of the midge *Chironomus tentans* Fabricius, and methods for its propagation. *Cornell Univ. agric. Exp. Stn. Mem.*, 173: 1–25.
- Sasa M, 1978. A comparative study of adults and immature stages of nine Japanese species of the genus *Chironomus* (Diptera: Chironomidae). *Research Report from the National Institute for Environmental Studies*, 3: 1–63.
- Sæther OA, 1969. Some Nearctic Podonominae, Diamesinae, and Orthoclaudiinae (Diptera: Chironomidae). *Bulletin of the Fisheries Research Board of Canada*, 170: 1–154.
- Styczyński B, Rakusa SS, 1963. Tendipedidae of selected water habits of Hornsund region (Spitzbergen). *Polskie Arch. Hydrobiol.* II, 11: 327–341.
- Thienemann A, 1954. *Chironomus* Leben, Verbreitung und wirtschaftliche Bedeutung der Chironomiden. *Binnengewässer*, 20: 1–834.
- Tokunaga M, 1940. Chironomidae from Japan. XII. New or little known Ceratopogonidae and Chironomidae. *Philippine Journal of Science*, 72(3): 255–317.
- Trivinho-Strixino S, Strixino G, 1982. The life cycle of *Chironomus sancticarloi* (Diptera: Chironomidae). *The Brazilian Magazine of Entomology*, 26(2): 183–189.
- Tsuchiyama Z, 1953. List of agricultural pest in Northeast China. *Acta Entomologica Sinica*, 3(4): 437–459. [土山哲夫, 1953. 东北农作物害虫名录. *昆虫学报*, 3(4): 437–459.]
- Vinicius SR, Debora R, Jose MR, 2013. Determination of larval instars in *Chironomus sancticarloi* (Diptera: Chironomidae) using novel head capsule structures. *Zoologia*, 30(2): 211–216.
- Wan Y, Liu TH, Wang JJ, 2015. Identification of the larval instars of the *Depressaria falkovitshi* Lvovsky (Lepidoptera: Elachistidae: Depressariinae). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 52(6): 1491–1495. [万喻, 刘廷辉, 王静静, 2015. 法氏柴胡宽蛾幼虫龄期的划分. *应用昆虫学报*, 52(6): 1491–1495.]
- Wang JC, Li KG, 2000. Distribution of Chironomidae larvae and its relation to water quality. *Chinese Journal of Ecology*, 19(4): 27–37. [王俊才, 李开国, 2000. 摇蚊幼虫分布及其与水质的关系. *生态学杂志*, 19(4): 27–37.]
- Wang SD, Ye YZ, 1986. Harmfulness of *Stenochironomus nelumbus* to lotus and its control. *Entomological Knowledge*, 31(2): 73–74. [王士达, 叶奕佐, 1986. 莲窄摇蚊幼虫对莲的为害和防治. *昆虫知识*, 31(2): 73–74.]
- Wang XL, Chen ZZ, Gao JZ, 2015. Measurement of larval instars and stadia artificially reared *Chironomus dorsalis* (Diptera: Chironomidae). *Journal of Environmental Entomology*, 37(6): 1263–1271. [王雪龙, 陈再忠, 高建忠, 2015. 人工饲养背摇蚊幼虫龄数和龄期的测定. *环境昆虫学报*, 37(6): 1263–1271.]
- Wang XY, Yang ZQ, Liu GJ, 2005. Larval instars and stadia of *Agrilus planipennis* (Coleoptera: Buprestidae). *Scientia Silvae Sinicae*, 41(3): 97–102. [王小艺, 杨忠岐, 刘桂军, 2005. 白蜡窄吉丁幼虫的龄数和龄期测定. *林业科学*, 41(3): 97–102.]
- Wang XY, Yang ZQ, Tang YL, 2012. Determination of larval instars number and duration in the oak longhorn beetle, *Massicus raddei* (Coleoptera: Cerambycidae). *Acta Entomologica Sinica*, 55(5): 575–584. [王小艺, 杨忠岐, 唐艳龙, 2012. 栗山天牛幼虫龄数和龄期的测定. *昆虫学报*, 55(5): 575–584.]
- Wei SJ, Zheng HH, Huang PWG, 2006. Division of larval instars of the citrus borer, *Agrilus auriventris* Saunders (Coleoptera: Buprestidae). *Acta Entomologica Sinica*, 49(2): 302–309. [魏书军, 郑宏海, 皇甫伟国, 2006. 柑桔爆皮虫幼虫龄期的划分. *昆虫学报*, 49(2): 302–309.]
- Wen JZ, Cheng QE, 1960. Examination on red Chironomid midge from rice field. *Entomological Knowledge*, 5(5): 133–134. [问锦曾, 陈庆恩, 1960. 水稻大红摇蚊的初步观察. *昆虫知识*, 5(5): 133–134.]
- Winterbourn MJ, 1971. The life histories and trophic relationships of the Trichoptera of Marion Lake, British Columbia. *Canadian Journal of Zoology*, 49(5): 623–635.
- Zhang HB, Wang JW, Zhu XF, 2011. Determination of larval instars of citrus long-horned beetle, *Anoplophora chinensis* (Coleoptera: Cerambycidae). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(3): 688–694. [张海滨, 王建伟, 朱小峰, 2011. 星天牛幼虫龄期的划分. *应用昆虫学报*, 48(3): 688–694.]
- Zhang RL, Wang XH, Zhou L, 2004. Advances in the studies on infesting and controlling chironomids in municipal water system. *Chinese Bulletin of Entomology*, 41(3): 223–226. [张瑞雷, 王新华, 周令, 2004. 城市供水系统摇蚊污染发生与防治研究. *昆虫知识*, 41(3): 223–226.]
- Zong SX, Luo YQ, Xu ZC, 2006. Preliminary study on different larval of seabuckthorn carpenter moth, *Holcocerus hippophaecolus*. *Chinese Bulletin of Entomology*, 43(5): 626–631. [宗世祥, 骆有庆, 许志春, 2006. 沙棘木蠹蛾幼虫龄期的初步研究. *昆虫知识*, 43(5): 626–631.]