德永雕翅摇蚊 *Glyptotendipes tokunagai* 幼虫龄期及 DNA 条形码研究*

雷 琦** 刘邦淼 魏相成 刘泽远 党 昊 杨铁柱 郭旭升 王俊如***

（信阳农林学院水产学院，信阳 464000）

摘 要 【**目的**】 明确德永雕翅摇蚊 *Glyptotendipes tokunagai* 幼虫的龄期划分与最佳分龄形态指标，并探究不同地理种群的 DNA 条形码差异。【**方法**】 通过室内饲养幼虫，测量 10 项骨化形态指标（头壳长、颏中齿顶端至冠突前缘间距离、头颏宽、颏宽、颏中齿宽、触角长、触角基节长、上颚长、腹颏板长和腹颏板宽），结合频次分布、Brooks/Crosby 指数及回归分析进行龄期划分；提取 *CO Ⅰ* 基因并测序，利用 MEGA 7.0 分析序列组成、遗传距离及构建系统发育树。【**结果**】 德永雕翅摇蚊幼虫具有 4 个龄期。其中，颏宽（Y4）的三次回归拟合度最高（R^2=0.997 0），并且 Crosby 指数与变异系数符合生长定律，确定颏宽为最佳分龄指标；触角长（Y6）、上颚长（Y8）、腹颏板长（Y9）3 项指标可作为辅助指标，推测德永雕翅摇蚊 1-4 龄幼虫的持续时间分别约为 2、3、6 和 8 d。DNA 条形码研究显示德永雕翅摇蚊 *CO Ⅰ* 序列具有明显的 AT 偏好性（A+T 含量为 63.75%）。系统发育树将种群分为两支：中国种群单独构成一支，与日本、韩国种群的平均遗传距离分别为 8.31%和 8.70%；日本与韩国种群聚为另一支，两者间遗传距离仅为 1.14%。【**结论**】 德永雕翅摇蚊幼虫有 4 个龄期，颏宽是可靠的分龄指标，幼虫期为 19 d。中国与日本、韩国种群间可能存在隐种。

关键词 德永雕翅摇蚊；幼虫龄期划分；形态测量；DNA 条形码；*CO Ⅰ* 基因；遗传距离

Research on the larval age and DNA barcoding of *Glyptotendipes tokunagai*

LEI Qi** LIU Bang-Miao WEI Xiang-Cheng LIU Ze-Yuan DANG Hao
YANG Tie-Zhu GUO Xu-Sheng WANG Jun-Ru***

(College of Fisheries, Xinyang Agriculture and Forestry University, Xinyang 464000, China)

Abstract **[Aim]** To determine the optimal morphological indicators for identifying the instars of *Glyptotendipes tokunagai* larvae, and to explore DNA barcoding differences among different geographic populations. **[Methods]** Larvae were reared in the laboratory, and ten sclerotized morphological characteristics (head capsule length, length from tip of the median teeth of the mentum to the leading coronoid, head mentum width, mentum width, width of the median mentum tooth, antenna length, length of antennal basal segment, mandible length, ventromental plate length and ventromental plate width) were measured. Instar classification was based on the frequency distributions of these variables, the Brooks/Crosby index and regression analysis. The *CO Ⅰ* gene was extracted and sequenced, and MEGA 7.0 was used to analyze sequence composition, genetic distances and to construct a phylogenetic tree. **[Results]** The results confirm that *G. tokunagai* larvae have four instars. Among the measured characteristics, mentum width (Y4) had the best fit to the cubic regression model (R^2 = 0.997 0). Both the Crosby index and coefficient of variation conformed to Dyar's law, confirming mentum width as the optimal characteristic for

*资助项目 Supported projects：河南省重点水域水生生物资源与环境调查；信阳农林学院博士科研启动基金（203130）；河南省自然科学基金（252300420726）

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

***通讯作者 Corresponding author，E-mail：jrwang1021@163.com

收稿日期 Received：2025-12-26；接受日期 Accepted：2026-04-13

instar identification. Three additional characteristics, namely antenna length (Y6), mandible length (Y8) and ventromental plate length (Y9), can serve as auxiliary indicators. The estimated durations for 1st to 4th instar larvae were approximately 2, 3, 6 and 8 days, respectively. *CO Ⅰ* sequences had a distinct AT bias (A+T content: 63.75%). The phylogenetic tree divided populations into two clades; one comprised of the Chinese population and another comprised of the Japanese and Korean populations. The average genetic distances between the Chinese population and the Japanese and Korean populations were 8.31% and 8.70%, respectively. The genetic distance between the Japanese and Korean populations was only 1.14%. **[Conclusion]** *G. tokunagai* larvae have four instars, and mentum width is the most reliable indicator for instar identification. The larval period is estimated to be 19 days. Cryptic species may exist among populations of this species in China, Japan and Korea.

Key words *Glyptotendipes tokunagai*; larval instar division; morphometry; DNA barcoding; *CO Ⅰ* gene; genetic distance

摇蚊隶属于双翅目 Diptera、长角亚目 Nematocera，因其幼虫体内富含血红蛋白而常呈红色，俗称“红虫”。摇蚊科昆虫种类繁多，全球已知超过 6 000 种，广泛分布于湖泊、水库和河流等生态系统，其种群密度高，生物量大，可占淡水底栖动物总量的 70%-80%，是世界上最重要的淡水底栖动物类群之一（Armitage *et al.*，1995；徐紫刚等，2024）。

德永雕翅摇蚊 *Glyptotendipes tokunagai* 是东亚地区常见物种，其隶属于摇蚊亚科 Chironominae、雕翅摇蚊属 *Glyptotendipes*，由 Sasa 于 1979 年命名（Yamamoto and Yamamoto，2018）。该种属于典型的富营养化指示生物，对水体有机污染及沉积物复合污染具有较好的指示作用，因此在环境毒理学和水生态监测中具有重要意义。例如，Choi 等（2015）利用德永雕翅摇蚊研究了银纳米颗粒的粒径依赖性毒性，发现 50 nm 粒径的颗粒具有更强的急性毒性。2016 年永定河水系生态健康评估中 60%的河流处于亚健康或一般状态，德永雕翅摇蚊幼虫作为耐污值较高的种类，出现频率达 40%（孔凡青等，2018）。Bang 等（2024）研究发现德永雕翅摇蚊幼虫对沉积物中镉、铜等重金属及氨氮污染均表现出良好的剂量-效应关系，可作为东亚地区沉积物生态风险评估的本土代表性物种。

雕翅摇蚊属幼虫形态特征较为一致，仅靠幼虫头壳色斑特征和颏板测量去进行种间区分对非分类专业人员具有较大难度。近年来，DNA 条形码技术已成为解决近缘种鉴定和成幼虫匹配问题的有效手段。DNA 条形码通过线粒体 *CO Ⅰ* 基因序列实现物种鉴定，为物种分类提供依据（Hebert *et al.*，2003）。陈锦贤（2022）采用形态学与 DNA 条形码技术相结合的方法，对上海市崇明岛的摇蚊物种进行了鉴定，其中 DNA 条形码技术匹配度 87.5%，很好地说明 DNA 条形码技术对摇蚊鉴定的可行性。

幼虫龄期是昆虫生长发育的关键指标，明确幼虫龄期划分对于理解其生活史、种群动态以及毒理实验中的剂量-效应关系具有重要意义。以汉江流域为例，摇蚊的年生产力取决于龄期周期：粗腹摇蚊属一种未定名种 *Pentaneura* sp.一年 3 代，而刺突摇蚊属一种未定名种 *Chaetocladius* sp.一年仅 1 代，龄期时长决定了群落生物量的累积（闫云君和李晓宇，2006），然而，目前国内并无针对德永雕翅摇蚊幼虫龄期的相关研究。综上，本研究通过野外采卵，结合形态学和 DNA 条形码技术对德永雕翅摇蚊幼虫的龄期和 *CO Ⅰ* 基因进行探究，旨在明确其幼虫发育阶段的形态，为后续种群动态研究和生态毒理实验剂量设置提供基础数据，并为摇蚊生物多样性保护与水域生态健康评估提供参考。

1 材料与方法

1.1 摇蚊幼虫饲养与收集

本研究摇蚊卵块采集于河南省信阳市光山青虾国家级水产种质资源保护区（31.879 4°N，114.862 4°E）。带回的卵块置于培养皿中培养，待观察到幼虫孵化后转入白色饲养桶（25 cm × 25 cm × 40 cm）中继续培育。桶内注入曝气 72 h 以上的自来水，水温通过加热棒维持在 25-30 ℃，底层铺 1 cm 厚经 200 目筛网过滤后的底泥，具体方法参考朱利明等（2017）。

从卵孵化当天起，每日 8:00 采集约 15 头幼虫，置于 75%乙醇的 1.5 mL 离心管中保存并标记日期（Annelle and Constance，1982；王小艺等，2012）。每天滴加纯牛奶补充营养，直到幼虫大部分化蛹为止，累计采集幼虫 275 头。所有幼虫经梯度脱水后，用 Euparal 封片胶制作永久玻片，用于后续形态测量（卢宝荣，1991）。

1.2　摇蚊幼虫头壳形态学数据统计

对制片后的不同龄期的幼虫进行形态观察，通过参考有关摇蚊测量的指标文献（王雪龙等，2015）选取了德永雕翅摇蚊骨化程度较高的 10 个形态学特征（图 1）进行测量和作为分龄的形态指标。

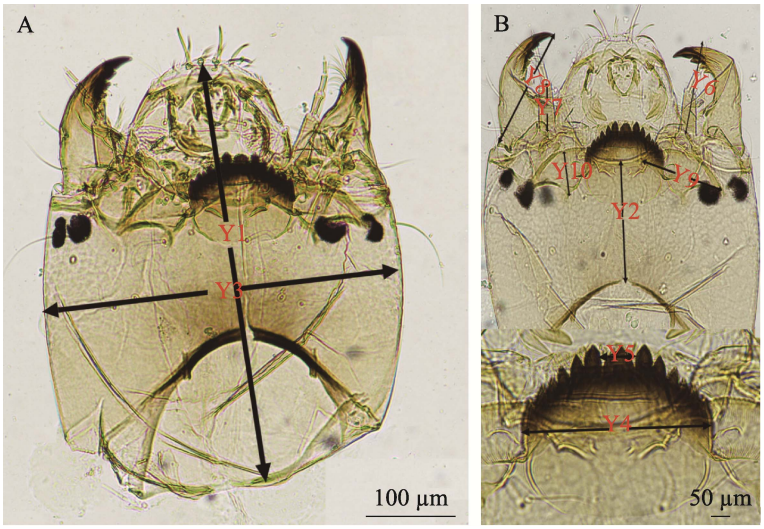

图 1　德永雕翅摇蚊幼虫分龄的 10 项指标

Fig. 1　Ten morphometric indicators for instar identification of *Glyptotendipes tokunagai* larvae

A. 幼虫头壳示意图；B. 幼虫颏部、腹颏板及触角示意图。
Y1：头壳长；Y2：颏中齿顶端至冠突前缘间距离；Y3：头颏宽；Y4：颏宽；Y5：颏中齿宽；Y6：触角长；Y7：触角基节长；Y8：上颚长；Y9：腹颏板长；Y10：腹颏板宽。
A. Schematic diagram of larval head capsule; B. Schematic diagram of larval mentum, Ventromental plate, and antenna. 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 the median mentum tooth; Y6: Antenna length; Y7: Length of antennal basal segment; Y8: Mandible length; Y9: Ventromental plate length; Y10: Ventromental plate width.

在 Excel 2019 中对数据进行统计，然后在 SPSS 27.0 中对结果进行处理，并用 Origin 8.6 软件绘制各部位频次分布图，数据频次分布图统计的最佳组数与组距确定方法参考李秀枝和张冬梅（1994），确定幼虫有几个龄期。频次分布图中会有集中区域和峰值，一个集中区域相当于 1 个龄期，再根据测定值，计算各龄幼虫 Y1-Y10 这 10 项测量指标（Y1：头壳长；Y2：颏中齿顶端至冠突前缘间距离；Y3：头颏宽；Y4：颏宽；Y5：颏中齿宽；Y6：触角长；Y7：触角基节长；Y8：上颚长；Y9：腹颏板长；Y10：腹颏板宽）的均值、标准误差及变异系数（王小艺等，2005），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 值和 Crosby 值，用来确定最佳分龄指标和龄期划分标准，然后对分龄数据进行回归分析，从而得到用于德永雕翅摇蚊幼虫分龄的最佳形态指标。

Brooks 指数=X_n/X_{n-1}，

x_n 和 x_{n-1} 分别表示 n 龄和 n - 1 龄幼虫各个测量指标的平均值。

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。

1.3　摇蚊 DNA 提取与扩增

使用上海生物工程公司 Ezup 柱式动物基因组 DNA 抽提试剂盒对摇蚊基因组 DNA 提取，然

后进行 PCR 扩增。使用引物为通用引物 LCO1490 和 HCO2198（Folmer *et al.*，1994）。PCR 反应体系为 25 μL，其中 TaqMix（2×，blue dye）12.5 μL，ddH_2O 10.5 μL，引物各 0.5 μL，DNA 模板 1 μL。PCR 程序为 95 ℃ 5 min，94 ℃ 30 s，55 ℃ 30 s，72 ℃ 45 s，34 个循环，72 ℃ 1 min，4 ℃保存。产物经 1%琼脂糖凝胶电泳检测后，送至武汉奥科鼎盛生物科技有限公司测序。

1.4 摇蚊 DNA 条形码数据分析

首先用 Lasergene version 7.0 软件包中的 SeqMan 软件对测序结果良好的 *CO Ⅰ* 基因序列进行组装（Swindell and Plasterer，1997），组装之后在 NCBI 中进行比对，以确定物种为德永雕翅摇蚊，并在 BOLD 平台下载该物种的已公开 *CO Ⅰ* 基因序列。接着用 BioEdit 7.0（Helge-Friedrich，2004）对上述序列进行比对，同时剪切掉序列多余引物。

在 MEGA 7.0 中构建邻接法（Neighbor-joining，NJ）系统发育树（陈士超等，2015），模型选择 Kimura 2-parameter，Bootstrap 值设置为 1 000。同时在 MEGA 7.0 中对德永雕翅摇蚊 *CO Ⅰ* 基因序列特征进行分析，并对不同地区德永雕翅摇蚊进行分组，计算德永雕翅摇蚊种内和组间遗传距离。本研究中外类群为毛跗球附器摇蚊，从 BOLD 平台下载序列具体信息见表 1，养殖的德永雕翅摇蚊标本及 DNA 条形码信息已上传至 NCBI（GenBank accession numbers: PV929831-PV929836）。

表 1 德永雕翅摇蚊及外类群序列下载信息

Table 1 Sequence download information of *Glyptotendipes tokunagai* and outgroup

物种 Species	登录号 Accession number	采集地 Collection locality
德永雕翅摇蚊 *Glyptotendipes tokunagai*	KP902774.1-KP902775.1	中国 China
德永雕翅摇蚊 *Glyptotendipes tokunagai*	KP902770.1	中国 China
德永雕翅摇蚊 *Glyptotendipes tokunagai*	MN521273.1	中国 China
德永雕翅摇蚊 *Glyptotendipes tokunagai*	YHJ217-18	中国 China
德永雕翅摇蚊 *Glyptotendipes tokunagai*	JF412117.1-JF412127.1	韩国 Korea
德永雕翅摇蚊 *Glyptotendipes tokunagai*	AB838662.1-AB838665.1	日本 Japan
德永雕翅摇蚊 *Glyptotendipes tokunagai*	JCDB053-15-JCDB055-15	日本 Japan
德永雕翅摇蚊 *Glyptotendipes tokunagai*	JCDB106-15-JCDB108-15	日本 Japan
德永雕翅摇蚊 *Glyptotendipes tokunagai*	LC773059.1	日本 Japan
德永雕翅摇蚊 *Glyptotendipes tokunagai*	LC773024.1	日本 Japan
德永雕翅摇蚊 *Glyptotendipes tokunagai*	LC773037.1	日本 Japan
德永雕翅摇蚊 *Glyptotendipes tokunagai*	LC773058.1	日本 Japan
德永雕翅摇蚊 *Glyptotendipes tokunagai*	LC773356.1	日本 Japan
毛跗球附器摇蚊 *Kiefferulus barbatitarsis*	KP902782.1	中国 China
毛跗球附器摇蚊 *Kiefferulus barbatitarsis*	KP902780.1	中国 China

2 结果与分析

2.1 德永雕翅摇蚊 *CO Ⅰ* 基因序列特征分析

本研究共涉及德永雕翅摇蚊 37 条 *CO Ⅰ* 序列。MEGA 7.0 数据组成分析可知，德永雕翅摇蚊 *CO Ⅰ* 基因长度为 618-658 bp，其中保守位点 585 个，简约信息位点 64 个，单态位点 9 个，T 占 36.69%，A 占 27.06%，C 占 19.34%，G 占 16.91%。序列碱基组成中，A+T 总含量为 63.75%，明显

高于 G+C 总含量（36.25%），表现出明显的 AT 偏好性，这一结果符合昆虫 *CO I* 基因碱基组成的基本特征。

2.2　德永雕翅摇蚊遗传距离分析

德永雕翅摇蚊 NJ 系统发育树显示（图 2），德永雕翅摇蚊聚为两支，一支为日本和韩国的标本，另一支为中国的标本。MEGA 7.0 计算可知，中国德永雕翅摇蚊平均种内遗传距离为 0.24%，韩国德永雕翅摇蚊平均种内遗传距离为 0.99%，日本德永雕翅摇蚊平均种内遗传距离为 0.14%。中国的德永雕翅摇蚊与韩国和日本的平均遗传距

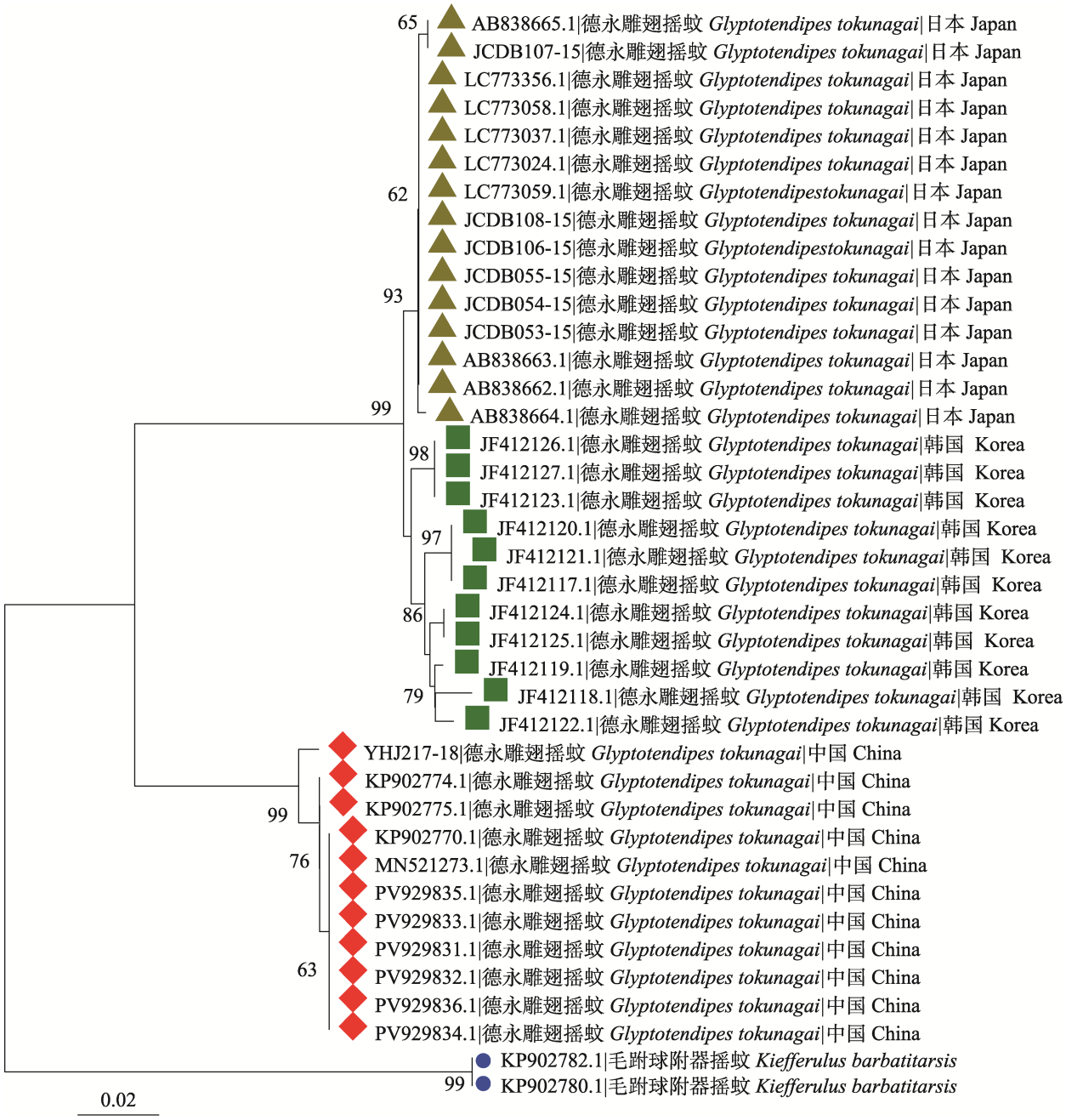

图 2　德永雕翅摇蚊邻接法系统发育树

Fig. 2　Neighbor-joining tree of *Glyptotendipes tokunagai*

系统发育树上的数字为自展支持率，标尺上数字为遗传距离。

Numbers on the phylogenetic tree are bootstrap values, and the numbers on the scale bar represent genetic distance.

离为 8.70%和 8.31%，而日本和韩国的德永雕翅摇蚊平均遗传距离为 1.14%。

2.3 德永雕翅摇蚊幼虫龄数测定

德永雕翅摇蚊幼虫 Y1-Y10 数据频次统计（图 3：A-J）均显示出 4 个相对集中的区域和 4 个峰值，可初步判断为德永雕翅摇蚊幼虫具 4 个龄期。根据各龄幼虫 Y1-Y10 的形态指标测量值（表 2）得出，Y1-Y10 的变异系数在 0.036 0-0.189 1，均小于 20%。Y1、Y3、Y4、Y5、Y9、Y10 这 6 项指标的 Crosby 指数均大于 10%，不适用于雕翅摇蚊幼虫的分龄。Y2、Y6、Y7 这 3 项指标的 Crosby 指数均小于 10%，Brooks 指数范围在 1.614 1-1.946 0 之间，符合 Crosby 定律和

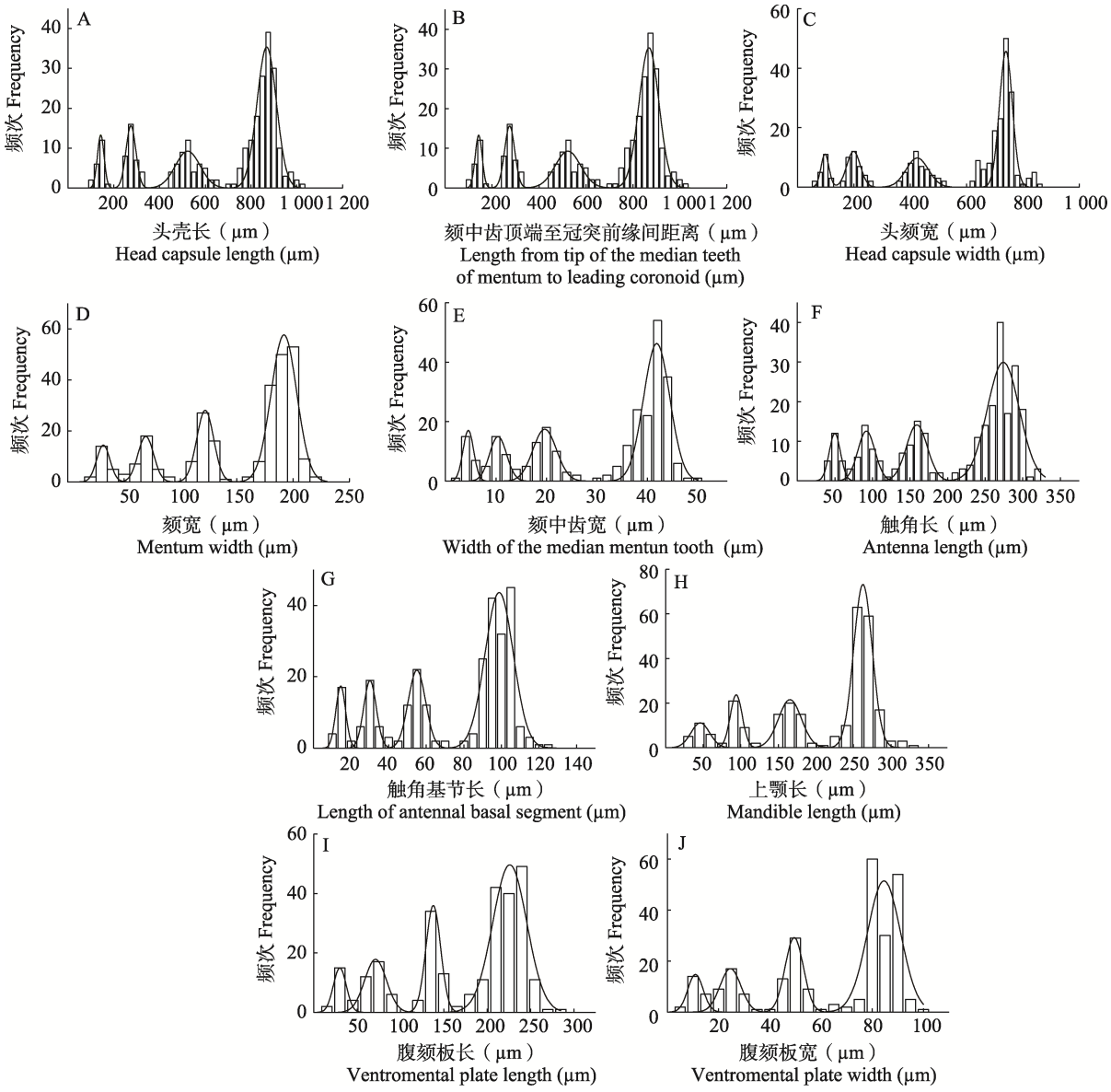

图 3 德永雕翅摇蚊 10 项形态指标测量值频次分布图

Fig. 3 Frequency distribution of the measured data for ten morphological traits in *Glyptotendipes tokunagai*

A. 头壳长（Y1）；B. 颏中齿顶端至冠突前缘间距离（Y2）；C. 头颏宽（Y3）；D. 颏宽（Y4）；E. 颏中齿宽（Y5）；F. 触角长（Y6）；G. 触角基节长（Y7）；H. 上颚长（Y8）；I. 腹颏板长（Y9）；J. 腹颏板宽（Y10）。

A. Head capsule length (Y1); B. Length from tip of the median teeth of mentum to leading coronoid (Y2); C. Head mentum width (Y3); D. Mentum width (Y4); E. Width of median mentum tooth (Y5); F. Antenna length (Y6); G. Length of antennal basal segment (Y7); H. Mandible length (Y8); I. Ventromental plate length (Y9); J. Ventromental plate width (Y10).

Dyar 定律，表明将德永雕翅摇蚊幼虫划分为 4 个龄期是合理的。

2.4　德永雕翅摇蚊各指标与龄数回归分析

表 2 显示 10 组数据指标测量范围都符合 Dyar 定律所描述的关系。经过分析，三次函数的相关性系数明显大于一次函数、二次函数和指数函数的相关性系数，拟合程度较好；由表 3 可知 Y10 指标相关性系数（0.891 8）显著低于其他 9 项指标（$P < 0.001$），所以舍弃该指标；Y4 相较于其他 8 组的相关性系数最大（R^2=0.997 0），并且拟合效果较好。Y6、Y8、Y9 这 3 项测量指标三次相关性系数也相对较大，分别为 0.996 6、0.996 9、0.996 9。这 9 项测量指标都出现了 4 个峰，因此将德永雕翅摇蚊划分为 4 龄是合适的。Y4 的三次相关性系数最大，并且 Crosby 指数，Dyar 定律和变异系数均符合规律，因此 Y4（颏宽）是最佳分龄指标，Y6（触角长）、Y8（上颚长）、Y9（腹颏板长）的三次相关性系数也比较大，可以作为辅助分龄指标。

2.5　龄期持续时间推断

根据颏宽结果推测 1 龄幼虫持续时间为 2-3 d，持续时间最短，2 龄持续时间为 3-4 d，3 龄持续时间为 5-6 d，4 龄持续时间为 8 d，持续时间最长。

3　结论与讨论

3.1　德永雕翅摇蚊条形码分析

对摇蚊科昆虫，线粒体 *CO Ⅰ* 基因的遗传距离可以用来划分物种。种内和种间遗传距离的明显差距，也就是条形码间隙，正是 DNA 条形码技术实现准确鉴定的关键（Carew *et al.*，2005）。Lin 等（2015）通过对 2 790 条 DNA 条形码的分析，证明 *CO Ⅰ* 序列能够准确界定长跗摇蚊属 *Tanytarsus* 中 94.6%的形态种，并建立了 4%-5%的属级遗传分化阈值作为物种边界判定标准。Song 等（2018）在高度多样化的多足摇蚊属 *Polypedilum* 中对 3 670 条条形码实现了 94.4%的鉴定成功率，系统发育分析揭示出多个物种复合群，界定了 5%-8%为其种间分化阈值。本研究中国的德永雕翅摇蚊与韩国和日本的平均遗传距离为 8.70%和 8.31%，中国河南、辽宁和湖南等地的德永雕翅摇蚊平均组内遗传距离仅为 0.24%。因此中国境内的德永雕翅摇蚊应为同一种，而中国，韩国和日本的德永雕翅摇蚊之间可能存在地理隔离和隐种问题。

唐红渠（2006）研究表明中国和日本的德永雕翅摇蚊标本，在幼虫头壳色斑、前上颚齿式这些关键的形态特征上无明显区别。本研究发现，不同地理种群的幼虫都有共同特征：上颚具有 3 个内齿，1 个顶齿和 1 个背齿，触角 5 节，颏板具有 1 个中齿和 6 对背齿，但是还需要进一步比较成虫形态差异和基因区别。

3.2　德永雕翅摇蚊幼虫龄期

摇蚊幼虫龄数及发育进程受多种因素影响，比如温度、光照周期、食物质量和数量、幼虫培养密度。化学污染物的干扰具有特异性，Victor 和 McCauley（1974）指出其可能会导致龄期的变化，还会破坏幼虫形态结构，Hamilton 和 Sæther（1971）在重污染区发现幼虫严重畸形的龄期发育异常现象。摇蚊幼虫对水环境变化较为敏感，在污染水体中会致使摇蚊幼虫口器畸形（田文龙等，2021）。同时温度作为关键因素，可显著改变龄期变化时间但对鉴别指标影响有限，Trivinho 和 Strixino（1982）发现同一种摇蚊在不同实验室条件下，幼虫发育时间具有显著差异，但头壳腹面观长度在各龄期保持稳定，说明头壳的尺寸不受非生物因素温度变化的影响，这与 Vinicius 等（2013）提出的非生物因素主要影响龄期时长，不影响以头壳尺寸作为指标的龄期区分结论一致。因此，相对于野外生境质量容易受到人为影响以及气温和降水等环境变化影响（刘殿锋等，2025），室内采卵饲养更有利于数据集的统计分析，在幼虫形态结构上具有较高的一致性，数据分析更准确、可靠（张海滨等，2011）。

在短期室内养殖中，摇蚊龄期发育的核心特征（如头壳尺寸、龄数变化规律）可维持稳定，

表 2　德永雕翅摇蚊幼虫分龄的 10 项形态指标测量值（μm）

Table 2　Measurements of ten morphological parameters for larval instars of *Glyptotendipes tokunagai* (μm)

形态指标 Metrics	龄数 Instar	变幅 Range	均值±标准误 Mean±SE	样本数 Number of samples	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
头壳长 Y1 Head capsule length	1	124.25-176.22	154.468 1±3.364 5	21	0.099 8	145.801 2-163.135 1		
	2	253.42-344.17	291.512 9±4.045 8	35	0.082 1	281.090 8-301.934 9	1.887 2	
	3	470.12-655.71	545.919 6±7.398 3	50	0.095 8	526.861 5-564.977 7	1.872 7	- 0.007 7
	4	721.30-1 048.82	873.017 3±4.237 4	164	0.062 2	862.101 8-883.932 8	1.599 2	- 0.146 1
颏中齿顶端至冠突前缘间距离 Y2 Length from tip of the median teeth of mentum to leading coronoid	1	60.29-86.91	73.119 8±1.564 8	21	0.098 1	69.089 0-77.150 6		
	2	118.77-145.87	127.541 7±1.041 9	35	0.048 3	124.857 7-130.225 7	1.744 3	
	3	190.45-257.70	228.119 6±2.736 1	52	0.085 8	221.128 3-235.110 9	1.788 6	0.025 4
	4	335.06-409.93	368.209 1±1.041 9	162	0.036 0	365.525 1-370.893 0	1.614 1	- 0.097 6
头颏宽 Y3 Head mentum width	1	79.41-125.96	105.105 5±3.512 4	21	0.153 1	96.057 5-114.153 5		
	2	175.57-269.07	212.162 2±4.189 9	37	0.120 1	201.369 1-222.955 2	2.018 6	
	3	372.83-533.37	441.867 1±6.080 1	49	0.096 3	426.204 9-457.529 4	2.082 7	0.031 8
	4	623.35-868.64	739.878 0±3.459 6	163	0.059 7	730.966 2-748.789 8	1.674 4	- 0.196 0
颏宽 Y4 Mentum width	1	28.26-43.25	37.586 0±0.821 1	21	0.100 1	35.470 7-39.701 2		
	2	50.45-91.48	72.566 6±1.688 9	35	0.137 7	68.216 0-76.917 1	1.930 7	
	3	112.96-145.38	127.081 0±1.035 0	52	0.058 7	124.414 9-129.747 1	1.751 2	- 0.092 9
	4	166.81-229.52	196.052 2±0.081 3	162	0.053 3	195.842 8-196.261 7	1.542 7	- 0.119 1
颏中齿宽 Y5 Width of median mentum tooth	1	3.94-7.18	5.688 0±0.206 9	23	0.174 4	5.155 1-6.220 9		
	2	8.09-15.80	11.969 4±0.337 1	33	0.161 8	11.101 1-12.837 7	2.104 3	
	3	16.86-27.58	20.962 0±0.313 8	51	0.106 9	20.153 6-21.770 4	1.751 3	- 0.167 8
	4	31.08-50.49	41.902 3±0.251 9	163	0.076 8	41.253 4-42.551 2	1.999 0	0.141 4
触角长 Y6 Antenna length	1	40.40-69.12	55.953 3±1.831 7	22	0.153 5	51.235 0-60.671 6		
	2	75.17-117.89	95.615 0±1.984 0	36	0.124 5	90.504 3-100.725 7	1.708 8	
	3	129.65-195.41	161.657 5±2.114 5	51	0.093 4	156.210 6-167.104 3	1.690 7	- 0.010 6
	4	210.24-327.29	276.361 9±1.708 6	161	0.078 4	271.960 7-280.763 2	1.709 6	0.011 1
触角基节长 Y7 Length of antennal basal segment	1	13.99-24.05	16.935 0±0.496 0	23	0.1405	15.657 3-18.212 7		
	2	26.37-44.97	32.955 3±0.842 8	34	0.149 1	30.784 1-35.126 4	1.946 0	
	3	49.25-74.47	58.380 2±0.700 0	52	0.086 5	56.576 9-60.183 5	1.771 5	- 0.089 7
	4	82.08-129.17	101.125 8±0.569 8	161	0.071 5	99.658 0-102.593 5	1.732 2	- 0.022 2

续表 2 (Table 2 continued)

形态指标 Metrics	龄数 Instar	变幅 Range	均值±标准误 Mean±SE	样本数 Number of samples	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
上颚长 Y8 Mandible length	1	34.06-64.62	53.505 6±1.885 1	22	0.165 3	48.649 6-58.361 6		
	2	85.47-121.25	101.532 9±1.665 5	34	0.095 7	97.242 5-105.823 4	1.897 6	
	3	152.11-198.46	174.735 6±1.739 7	52	0.071 8	170.254 1-179.217 0	1.721 0	- 0.093 1
	4	223.18-334.34	271.094 1±1.318 7	162	0.061 9	267.697 2-274.491 1	1.551 5	- 0.098 5
腹颏板长 Y9 Ventromental plate length	1	28.50-59.28	42.189 5±1.735 1	21	0.188 5	37.719 9-46.659 2		
	2	65.36-104.11	79.748 0±1.804 4	35	0.133 9	75.099 8-84.396 2	1.890 2	
	3	120.64-165.76	144.798 3±1.314 8	52	0.065 5	141.411 4-148.185 2	1.815 7	- 0.039 4
	4	176.27-286.86	231.159 9±1.533 4	162	0.084 4	227.209 9-235.110 0	1.596 4	- 0.120 8
腹颏板宽 Y10 Ventromental plate width	1	9.11-19.31	14.030 7±2.652 5	23	0.189 1	12.605 9-15.455 4		
	2	20.62-39.28	27.180 3±4.346 7	34	0.159 9	25.260 0-29.100 6	1.937 2	
	3	40.28-60.63	52.006 2±3.746 9	53	0.072 0	50.680 4-53.332 0	1.913 4	- 0.012 3
	4	66.53-101.34	86.666 2±5.664 6	160	0.065 4	85.512 6-87.819 9	1.666 5	- 0.129 0

表 3　德永雕翅摇蚊幼虫 10 种形态结构测置值回归方程及回归系数

Table 3　Regression equations and coefficients for the measurements of ten morphological structures in larvae of *Glyptotendipes tokunagai*

形态结构 Morphological structures	回归方程 Regression equation	相关系数 R^2 Correlation coefficient	显著水平 P Signifcance level
头壳长 Y1 Head capsule length	$y= - 0.449x^3+5.636x^2+98.060x+24.852$	0.994 1	< 0.01
颏中齿顶端至冠突前缘间距离 Y2 Length from tip of the median teeth of mentum to leading coronoid	$y= - 0.889x^3+11.930x^2+3.820x+52.446$	0.984 8	< 0.01
头颏宽 Y3 Head mentum width	$y= - 1.175x^3+16.223x^2+41.634x+24.931$	0.993 6	< 0.01
颏宽 Y4 Mentum width	$y=0.044x^3–1.403x^2+35.001x–5.167$	0.997 0	< 0.01
颏中齿宽 Y5 Width of median mentum tooth	$y= - 0.063x^3+1.114x^2+0.351x+3.547$	0.988 8	< 0.01
触角长 Y6 Antenna length	$y= - 0.120x^3+2.319x^2+23.527x+18.506$	0.996 6	< 0.01
触角基节长 Y7 Length of antennal basal segment	$y=0.027x^3–0.063x^2+12.371x+1.704$	0.994 7	< 0.01
上颚长 Y8 Mandible length	$y=0.290x^3–4.694x^2+57.493x–16.319$	0.996 9	< 0.01
腹颏板长 Y9 Ventromental plate length	$y=0.300x^3–4.469x^2+49.792x–16.587$	0.996 9	< 0.01
腹颏板宽 Y10 Ventromental plate width	$y= - 0.297x^3+0.395x^2+10.320x–1.321$	0.891 8	< 0.01

温度等非生物因子仅影响发育速率（Stevens，1993；Vinicius *et al.*，2013）。但长期室内养殖会造成物种的遗传多样性下降。Baek 等（2014）发现，摇蚊经 5 代以上连续养殖后出现显著种内退化：卵块卵量从早期世代快速下降后趋于稳定，39 代幼虫的死亡率与发育时间较 4 代显著增加，成虫体型普遍缩小，通过对线粒体 *CO I* 基因进行分析，发现养殖世代的遗传分化从 0.004 9 降至 0.000 4，遗传同质化伴随发育适应性衰退。

3.3 德永雕翅摇蚊幼虫龄期可量性状选择

有研究证实，幼虫体长、体宽易受自身收缩、食物供给及环境波动等因素干扰，作为分龄依据的准确度较低（宗世祥等，2006）。在划分幼虫龄期时，头颏宽、上颚宽和触角间距对于划分幼虫龄期是可行可信的（潘龙等，2015）。早期学者 Victor 和 McCauley（1974）以头壳长与头壳宽作为幼虫龄期判定指标，开始了骨化结构分龄的研究思路，但实践中头壳易破损或压扁的问题常导致测量偏差。Annelle 和 Constance（1982）进一步完善指标体系，选取触角、下颌骨、颏中齿、颏板和腹颏板这 5 项形态结构；Vinicius 等（2013）在上述基础上增加颏中齿顶端至冠突前缘间距离的测量，并提出腹颏板条纹数目可作为分龄替代指标。

本研究针对德永雕翅摇蚊幼虫选 10 项骨化程度较高的形态指标开展系统测量。经过测量发现，头壳相关指标虽然应用广泛，但德永雕翅摇蚊幼虫头壳薄脆，取样过程中破损率 30%左右。在测量触角长时，触角每一小节会有弯曲甚至会出现透明状不便于测量，同时颏宽颜色清晰可见便于测量，测量结果进行回归分析的 10 项测量指标与龄期都呈几何级增长，即德永雕翅摇蚊幼虫的生长发育呈几何级，并且都符合 Dyar 定律和生长法则，本实验表明颏宽的回归系数最大，龄期之间没有出现重叠情况，颏宽测量较为简单并且测量误差小，颏宽是最佳的分龄指标。

参考文献 (References)

Annelle RS, Constance LR, 1982. Identification of instars and species in some *Polypedilum* (*Polypedilum*) (Diptera: Chironomidae). *Hydrobiologia*, 94(1): 25–32.

Armitage PD, Cranston PS, Pinder LCV, 1995. The Chironomidae: Biology and Ecology of Non-Biting Midges. London: Chapman and Hall. 1–572.

Baek MJ, Yoon TJ, Kang HJ, Bae YJ, 2014. Biological and genetic characteristics of *Glyptotendipes tokunagai* (Diptera: Chironomidae) on the basis of successive rearing of forty-two generations over seven years under laboratory conditions. *Environmental Entomology*, 43(5): 1406–1418.

Bang YJ, Singh R, Hwang DH, Lee JM, Kwak IS, Park JW, Jeong TY, 2024. Sediment TIE validation study using South Korean domestic species *Glyptotendipes tokunagai* to evaluate contamination with two heavy metals and ammonia. *Sustainability*, 16(23): 10318.

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.]

Carew ME, Pettigrove V, Hoffmann AA, 2005. The utility of DNA markers in classical taxonomy: Using cytochrome oxidase I markers to differentiate Australian *Cladopelma* (Diptera: Chironomidae) midges. *Annals of the Entomological Society of America*, 98(4): 587–594.

Chapman RF, 1998. The Insects: Structure and Function (4th ed). Cambridge: Cambridge University Press. 376–380.

Chen JX, 2022. Taxonomic study of Chironomidae (Insecta: Diptera) in Chongming Island based on DNA barcoding and morphology. Master dissertation. Shanghai: Shanghai Ocean University. [陈锦贤, 2022. 基于 DNA 条形码和形态学的崇明岛摇蚊科(昆虫纲: 双翅目)分类研究. 硕士学位论文. 上海: 上海海洋大学.]

Chen SC, Fu CX, Wu XY, 2015. Practical operation methods and theory for easily constructing phylogenetic trees (4th edition). *Life World*, 2015(11): 2. [陈士超, 傅承新, 吴晓运, 2015. 轻松构建系统发育树实用操作方法和理论(第 4 版). 生命世界, 2015(11): 2.]

Choi S, Kim S, Bae YJ, Park JW, Jung J, 2015. Size-dependent toxicity of silver nanoparticles to *Glyptotendipes tokunagai*. *Environmental Health and Toxicology*, 30: e2015003.

Folmer O, Black M, Hoeh W, Lutz R, Vrijenhoek R, 1994. DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. *Molecular Marine Biology and Biotechnology*, 3: 294–299.

Hamilton AL, Sæther OA, 1971. The occurrence of characteristic deformities in the chironomid larvae of several Canadian lakes. *The Canadian Entomologist*, 103(3): 363–368.

Hebert PDN, Cywinska A, Ball SL, de Waard JR, 2003. Biological identifications through DNA barcodes. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences*, 270(1512): 313–321.

Helge-Friedrich T, 2004. Analysis for free: Comparing programs for sequence analysis. *Briefings in Bioinformatics*, 5(1): 82.

Kong FQ, Cui WY, Zhou XS, 2018. Ecological health assessment of

Yongding River system based on the benthic-index of biotic integrity (B-IBI). *Ecology and Environmental Sciences*, 27(3): 550–555. [孔凡青, 崔文彦, 周绪申, 2018. 基于大型底栖动物完整性指数(B-IBI)的永定河系生态健康评价. 生态环境学报, 27(3): 550–555.]

Li XZ, Zhang DM, 1994. The discussion of determining group distance and group median in the preparation of frequency distribution table. *Journal of Zhengzhou College of Animal Husbandry Engineering*, 14(3): 51–53. [李秀枝, 张冬梅, 1994. 次数分布表编制过程中组距和组中值确定方法的探讨. 郑州牧业工程高等专科学校学报, 14(3): 51–53.]

Lin XL, Stur E, Ekrem T, 2015. Exploring genetic divergence in a species-rich insect genus using 2790 DNA barcodes. *PLoS ONE*, 10(9): e0138993.

Liu DF, Wang ZS, Qiu ML, 2025. Response of regional habitat quality to predicted land use change based on system coupling simulation. *Journal of Xinyang Normal University* (*Natural Science Edition*), 38(3): 257–264. [刘殿锋, 王振松, 邱明丽, 2025. 基于系统耦合模拟的土地利用变化及其区域生境质量变化分析. 信阳师范大学学报(自然科学版), 38(3): 257–264.]

Loerch CR, Cameron EA, 1983. Determination of larval instars of the bronze birch borer, *Agrilus anxius* (Coleoptera: Buprestidae). *Annals of the Entomological Society of America*, 76(6): 948–952.

Lu BR, 1991. A new permanent mounting method for chromosome slides. *Hereditas*, 13(1): 39–40. [卢宝荣, 1991. 一种新的染色体制片永久封片法. 遗传, 13(1): 39–40.]

Pan L, Li JW, Luo YQ, 2015. Determination of larval instars of *Xylotrechus rusticus* (Coleoptera: Cerambycidae). *Journal of Northeast Forestry University*, 43(1): 110–113. [潘龙, 李珏闻, 骆有庆, 2015. 青杨脊虎天牛幼虫龄期的划分. 东北林业大学学报, 43(1): 110–113.]

Song C, Lin X, Wang Q, Wang Q, Wang X, 2018. DNA barcodes successfully delimit morphospecies in a superdiverse insect genus. *Zoologica Scripta*, 47(3): 311–324.

Stevens MM, 1993. Larval development in *Chironomus tepperi* (Diptera: Chironomidae) under laboratory conditions. *Environmental Entomology*, 4: 776–780.

Swindell SR, Plasterer TN, 1997. SEQMAN. Contig assembly. *Methods in Molecular Biology*, 70: 75–89.

Tang HQ, 2006. Biosystematics of Chironomid larvae from China (Diptera: Chironomidae). Doctor dissertation. Tianjin: Nankai University. [唐红渠, 2006. 中国摇蚊幼虫生物系统学研究(双翅目: 摇蚊科). 博士学位论文. 天津: 南开大学.]

Trivinho SS, Strixino G, 1982. The life cycle of *Chironomus sancticaroli* (Diptera: Chironomidae). *The Brazilian Magazine of Entomology*, 26(2): 183–189.

Tian WL, Hou GL, Zhang YL, Yang J, Pan YC, Cao YM, 2021. Research progress on mouthpart deformities of chironomid larvae in response to pollutants in water phase and solid sediment phase. *Chinese Journal of Ecology*, 40(12): 4069–4080. [田文龙, 侯桂林, 张瑗玲, 杨佳, 潘钰琛, 曹艳敏, 2021. 水相及沉积物固相污染物作用下摇蚊幼虫口器畸形研究进展. 生态学杂志, 40(12): 4069–4080.]

Victor JE, McCauley VJE, 1974. Instar differentiation in larval Chironomidae (Diptera). *The Canadian Entomologist*, 106(2): 179–200.

Vinicius SR, Debora R, Jose MR, 2013. Determination of larval instars in *Chironomus sancticaroli* (Diptera: Chironomidae) using novel head capsule structures. *Zoologia*, 30(2): 211–216.

Wang XL, Chen ZZ, Gao JZ, Huang ZJ, Lei BX, 2015. Determination of larval instar number and duration in artificially reared *Chironomus dorsalis*. *Journal of Environmental Entomology*, 37(6): 1263–1271. [王雪龙, 陈再忠, 高建忠, 黄志坚, 雷邦雄, 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, Liu ES, 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, 刘恩山, 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, Jiang J, Yang YL, Gao C, 2012. Determination of larval instar 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, 姜静, 杨远亮, 高纯, 2012. 栗山天牛幼虫龄数和龄期的测定. 昆虫学报, 55(5): 575–584.]

Xu ZG, Li CR, Wang JX, Yu P, Xiao YL, Fu Y, 2024. Investigation on diversity of Chironomidae in Dabie Mountains. *Chinese Journal of Environmental Entomology*, 46(3): 606–631. [徐紫刚, 李传仁, 王嘉鑫, 余鹏, 肖云丽, 傅悦, 2024. 大别山地区摇蚊科昆虫多样性调查研究. 环境昆虫学报, 46(3): 606–631.]

Yamamoto N, Yamamoto M, 2018. Taxonomic information on some Japanese Chironomidae (Diptera) described by Dr. M. Sasa. *Zootaxa*, 4514(4): 516–528.

Yan YJ, Li XY, 2006. Annual production and trophic basis of five dominant chironomids in Heizhuchong River of the Hanjiang River basin. *Journal of Lake Sciences*, 18(2): 163–171. [闫云君, 李晓宇, 2006. 汉江流域黑竹冲河五种优势摇蚊的周年生产量及营养基础分析. 湖泊科学, 18(2): 163–171.]

Zhang HB, Wang JW, Zhu XF, Chen XX, 2011. Determination of larval instars of *Anoplophora chinensis* (Forster). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 48(3): 616–621. [张海滨, 王建伟, 朱小峰, 陈学新, 2011. 星天牛幼虫龄期的划分. 应用昆虫学报, 48(3): 616–621.]

Zhu LM, Wen H, Feng LH, Wang LQ, Zhang RL, 2017. Determination of larval instars of *Chironomus flaviplumus* Tokunaga (Chironomidae: Diptera). *Chinese Journal of Applied Entomology*, 54(2): 298–308. [朱利明, 温虹, 冯立辉, 王丽卿, 张瑞雷, 2017. 黄羽摇蚊 *Chironomus flaviplumus* Tokunaga 幼虫龄期的研究. 应用昆虫学报, 54(2): 298–308.]

Zong SX, Luo YQ, Xu ZC, Wang T, 2006. A preliminary study on the larval instars of *Holcocerus hippophaecolus* (Lepidoptera: Cossidae). *Chinese Bulletin of Entomology*, 43(5): 626–631. [宗世祥, 骆有庆, 许志春, 王涛, 2006. 沙棘木蠹蛾幼虫龄期的初步研究. 昆虫知识, 43(5): 626–631.]