

淡色庫蚊 (*Culex pipiens pallens* Coq.) 幼虫的不同性別对 γ -666 敏感度变化的研究*

黃品鑑 刘維德

(中国科学院华东昆虫研究所)

摘要 淡色庫蚊幼虫从1至4齡都有性別分化的現象。从1至3齡, 其先蛻皮者为雄, 后蛻皮者为雌。4齡則凡先化蛹者为雄, 后化蛹者为雌。不同性別的幼虫对杀虫剂的敏感度也有所不同, 2、3齡雄虫对 γ -666 的敏感度低于2、3齡的雌虫, 其中以3齡雌雄間的差异較大。4齡則与2、3齡相反, 雌性的敏感度低于雄性。

在2、3、4齡幼虫中, 由于以2齡幼虫雌雄性別間对 γ -666 的敏感度的差异最小, 因此, 在生物測定中用2齡幼虫为材料时其准确度是較高的。

一、引言

近年来淡色庫蚊幼虫已成为我国許多实验室作为杀虫剂毒效生物測定的材料(张宗炳, 1958)。我室使用它也已经有好几年的历史。但常常发现同一品系同一齡期的幼虫, 虽然在营养、温度、光照、pH等条件及測定方法上都控制得很一致, 但几次測定的結果之間仍然会出现不同程度的差异。因此, 常使生物測定和抗药性的研究工作遇到困难。刘維德和刘金发最近已经注意到发育程度对敏感度变化的影响。十分显然, 如果发育程度較为一致, 測定結果的稳定性也較大。但他们仍然发现其中某些次的測定結果存在着較显著的差异, 因而怀疑有其它影响敏感度的因素存在(刘維德, 1963)。我們进一步探討这一問題, 发现幼虫的雌雄性別对杀虫剂的敏感度存在着很大的差异。这和 Jones, J. C. (1957) 对 *Anopheles quadrimaculatus* 的观察认为幼虫的性別与对杀虫剂的敏感度无关的結果完全不同(Jones, 1957)。因而在生物測定上有頗为重要的意义。現特將結果报告于后。

二、材料与方法

(一) 鉴别淡色庫蚊幼虫性別的方法和結果

曾有几种鉴别蚊类幼虫和蛹的雌雄性別的方法, 如 Jones, J. C. (1957) 发现依据 *Anopheles quadrimaculatus* 幼虫体色和触角盘的不同可以鉴别其雌雄(Jones J. C. 1957)。Wood, R. J. (1962) 提到 *Aedes aegypti* (L.) 幼虫化蛹先后次序之不同, 其两者間的性比也会有所不同(Wood, 1962)。Elmo, M. 及 McCary, Jr. (1961) 曾利用机械装置来分离出 *Aedes aegypti* 的雌雄蛹, 得到較好的效果(Elmo, 1961)。但淡色庫蚊幼虫不具有类似 *Anopheles quadrimaculatus* 幼虫的触角盘和体色上的差别, 无法应用 Jones 的方法进

(本文于1963年8月6日收到。)

* 本文数据的計算和整理承龔坤元教授指导, 特此致謝。

表1 從淡色庫蚊單一卵塊的孵化先后、一、二、三齡幼虫化蛹先后的性別統計

卵 块 号	龄 期		性 别	化 次 序	化 次 序	♂:♀ (%)	一 龄		♂:♀ (%)	二 龄		♂:♀ (%)	三 龄		♂:♀ (%)	四 龄		♂:♀ (%)		
	卵 块 号	性 别					♂	♀		♂	♀		♂	♀		♂	♀			
																			化 次 序	化 次 序
I	先 孵 化		49	22	70:30		95	12	89:11		46	0	100:0	48	0	100:0		83	0	100:0
	后 孵 化		40	80	34:66		0	75	0:100		8	67	11:89	8	61	11:89		10	95	10:90
II	先 孵 化		64	37	63:37		85	0	100:0		70	2	97:3	56	7	90:10		62	3	95:5
	后 孵 化		21	50	30:70		10	95	10:90		0	72	0:100	0	47	0:100		17	94	15:85
III	先 孵 化		56	20	74:26		105	2	98:2		87	0	100:0	78	0	100:0		107	4	96:4
	后 孵 化		41	67	38:62		1	98	1:99		5	90	5:95	2	84	3:97		0	89	0:100

行鑒別，Wood 的方法可靠性很差，而 Elmo, M. 等的方法又比較煩復難行。近年來我們曾較仔細的觀察了淡色庫蚊幼蟲的生活史，發現淡色庫蚊幼蟲在發育過程中其先蛻皮和先化蛹者無例外地都是羽化為雄性成蟲。為了証實這一觀察的正確性，我們用室內培養的敏感品系為材料，進行了如下的實驗。把單個卵塊置于一白搪瓷臉盆中飼養（方法見下節），分別把卵塊中先孵化，1、2、3 齡幼蟲中先蛻皮和 4 齡幼蟲先化蛹的約半數個體取出，置于另一盆中，余下尚未孵化、蛻皮和化蛹者留于原盆內飼養。這樣，就分出先孵化和後孵化、先蛻皮和後蛻皮、先化蛹和後化蛹幾個組（表 1）。將這些組分別養至成蟲，然後從成蟲所獲得的雌雄比例來考核發育先後與性別間的關係。實驗証明各齡先蛻皮和 4 齡先化蛹的一半確為雄蟲。用這個方法來鑒別 2 至 4 齡幼蟲性別的誤差最高僅 18%，一般皆在 10% 以下。以卵塊孵化的先後來鑒別雌雄，其準確度較差，這是因為從第一個到最末一個幼蟲自卵塊孵出的時間很短（只有幾分鐘到幾十分鐘），因而不易掌握其較準確的半數。為此，以後我們也未作 1 齡幼蟲的性別分化對殺蟲劑敏感度變化的測定。

（二）生物測定的方法

所用蚊蟲為我室培養的 SeN（滬昆正系）品系。卵塊培養在白搪瓷臉盆中，盛水 2000 至 3000 毫升，每盆放同一時期吸血所產下的卵塊 7 至 10 塊，共幼蟲約 1500 至 2000 條。每日飼食 2 次，1 至 2 齡幼蟲每次飼以 0.2 克左右，3 至 4 齡幼蟲每次飼以 0.4 克左右。飼料配方為：玉米粉 75%，干酪素 20%，酵母粉 5%。飼養室溫度為 27℃ 至 29℃。測定的方法與 Brown 所主張的相仿（Brown, 1957）。以分析純丙酮再提純一次作為溶劑，配製成等比濃度。用若干 400 毫升的小白搪瓷盆為容器。每盆中放入已擱置一夜的自來水 150 毫升，然後放入藥液 1 毫升，攪拌均勻。另外將供試幼蟲先數入盛少量水的 50 毫升的量杯中，然後加水至 50 毫升，再倒入已有藥液的小盆中，共為 200 毫升。每個濃度測試的幼蟲數為 50 條。受藥時間為 24 小時。死亡率的標準為用鑷子接觸無趨避反應和身體變形者。結果先用 Finney 氏機率分析法求出其致死中濃度 (LC_{50}) (Finney, 1952)。測定共重複 5 次，把 5 次結果按各齡雌雄分組，再用 Bliss 的分析方法求出其 LC_{50} 均值、95% 可信度和其迴歸方程式 (Bliss, 1952)。

三、結 果

2 至 4 齡幼蟲，每個齡期皆用上節所述以蛻皮先後來區分性別的方法，對雌雄幼蟲分別進行了測定。共作 5 個重複，即進行了 30 次測定。茲將其結果簡述如次（圖 1 和表 2）

1、2 齡幼蟲 把 1 齡幼蟲分蛻皮先後兩組，每組 5 個重複，共作 10 次測定。從每次測定結果來看（表 2），顯然都是 1 齡先蛻皮者（雄性）對藥劑的敏感度低於 1 齡後蛻皮者（雌性）。從 5 次平均的結果來看，雄性的 LC_{50} 是為 0.5868 p.p.m.，雌性則為 0.3469 p.p.m.，即先蛻皮一半的敏感度低於後蛻皮的一半。兩者 LD-p 綫的 b 值各為 2.49 和 2.69，相差很小，其 LD-p 綫基本是平行的。從表 2 還可看出，2 齡雌雄幼蟲對藥劑敏感度的差異要較 3、4 齡為小。在各次測定中，2 齡幼蟲 LC_{50} 值差異的平均數為 0.2001。

2、3 齡幼蟲 和上述相似，把 2 齡幼蟲分蛻皮先後兩組，每組亦重複 5 次，其每次測定也得到了 2 齡先蛻皮一半（雄性）對藥劑的敏感度低於 2 齡後蛻皮一半的結果。5 次的平均是：先蛻皮一半的 LC_{50} 為 0.7929 p.p.m.，後蛻皮一半的為 0.3677 p.p.m.。LD-p 綫的

表 2 淡色庫蚊 2—4 齡幼虫不同性別对 γ -666 敏感度的測定

		死 亡 率 (%)				LC ₅₀ (p.p.m.)	LC ₉₅ (p.p.m.)	LC ₅₀ 均值 (p.p.m.)	95%可信度 (p.p.m.)	LC ₉₅ 均值 (p.p.m.)	迴归方程式
		1.0	0.5	0.25	0.125 (p.p.m.)						
A	A ₁	81	70	15	5	0.4446	1.396	0.5868	0.4467—0.8511	2.674	$y = 3.09 + 2.49x$
	A ₂	69	23	12	5	0.7518	3.468				
	A ₃	80	54	31	16	0.4187	2.666				
	A ₄	83	32	15	7	0.5716	2.246				
	A ₅	64	34	6	2	0.7386	2.716				
A'	A' ₁	90	64	50	30	0.2540	1.694	0.3469	0.2917—0.4074	1.413	$y = 3.55 + 2.69x$
	A' ₂	72	36	23	8	0.6243	3.738				
	A' ₃	98	82	34	12	0.2929	0.827				
	A' ₄	90	53	32	15	0.3809	1.790				
	A' ₅	96	54	32	10	0.3725	1.317				
B	B ₁	84	26	10	2	0.6145	1.764	0.7929	0.7079—0.9705	3.658	$y = 2.78 + 2.47x$
	B ₂	54	34	20	6	0.8602	7.536				
	B ₃	58	26	10	2	0.8539	3.891				
	B ₄	58	28	14	12	0.8330	4.240				
	B ₅	56	20	6	2	0.9313	3.851				
B'	B' ₁	98	86	64	29	0.1960	0.752	0.3677	0.2754—0.4842	1.437	$y = 3.43 + 2.77x$
	B' ₂	98	36	10	2	0.5041	1.156				
	B' ₃	64	46	38	12	0.5475	6.357				
	B' ₄	90	70	46	32	0.2489	1.797				
	B' ₅	80	42	22	4	0.5285	2.118				
C	C ₁	79	49	29	14	0.4273	2.061	0.4227	0.3758—0.4842	1.391	$y = 3.02 + 3.17x$
	C ₂	98	53	27	1	0.4076	1.042				
	C ₃	72	52	24	8	0.5154	2.824				
	C ₄	90	51	18	3	0.4623	1.364				
	C ₅	92	70	36	4	0.3535	1.087				
C'	C' ₁	64	26	14	4	0.6848	2.271	0.7787	0.6761—0.9226	3.659	$y = 2.83 + 2.44x$
	C' ₂	58	26	4	1	0.8015	2.500				
	C' ₃	66	32	10	2	0.7191	4.129				
	C' ₄	67	35	18	8	0.6719	2.784				
	C' ₅	62	26	10	4	0.8110	3.886				

注: A, B, C 分別代表 2, 3, 4 齡, A₁—A₅, B₁—B₅, C₁—C₅ 分別代表各个齡期所做实验的重复次数。A—A', B—B', C—C' 分別代表 1, 2, 3 齡幼虫的先蛻皮和后蛻皮(即雄和雌)

b 值分別 2.47 和 2.77, 可見也基本是平行的。虽然和 2 齡一样, 3 齡雌虫的敏感度也是高于雄虫, 但其雌雄幼虫間敏感度差异的差距却要比 2 齡大得多。其各次所測 LC₅₀ 值差异的平均数为 0.4136。

3, 4 齡幼虫 与 2, 3 齡相反, 4 齡幼虫是 3 齡后蛻皮一半(雌性)的敏感度反低于 3 齡先蛻皮的一半(雄性)。5 次的 LC₅₀ 平均值雄虫只有 0.4227 p.p.m., 而雌虫却为 0.7787 p.p.m.。两者 LD-p 綫的 b 值各为 3.17 和 2.44, 亦即雄虫的坡度較陡。

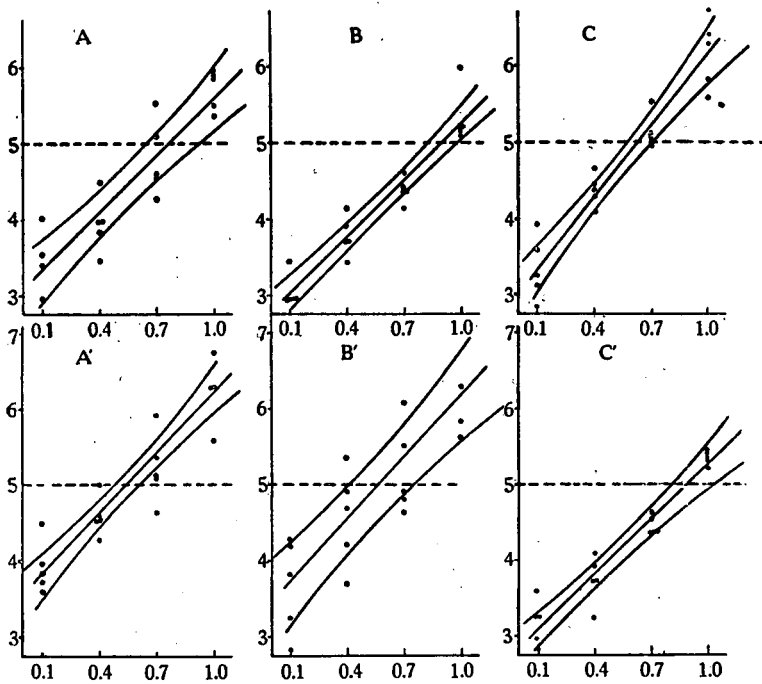


圖 1 二、三、四齡幼蟲不同性別的 LC_{50} 及其 95% 可信度範圍(共六組每組 5 個重複,共 30 次測定)

A、B、C 為一、二、三齡先蛻皮(雄性), A'、B'、C' 為一、二、三齡後蛻皮(雌性)。縱軸:死亡率;橫軸:濃度對數。

四、討 論

(一) 劉維德和劉金發在對淡色庫蚊幼蟲不同發育階段對葯劑敏感度變化所作的研究中发现,每齡初期的敏感度總是高於末期。而在我們的研究中,2、3 齡幼蟲的雄性(即相當於劉維德、劉金發所測的初期)其對葯劑的敏感度都是恆定的低於末期(雌性),與劉維德、劉金發的結果看來似有矛盾。但從他們的報告中可以看出,他們所測定的 2、3 齡幼蟲的初期,都為蛻皮後 6 小時左右的第一批幼蟲,實際即為處於 2 或 3 齡“初期”的雄性幼蟲,因此,其敏感度必然要較其同齡雄性幼蟲的中、末期要高些。至於他們所測定的末期,由於是在蛻皮後 20 (2 齡)至 40 (3 齡)小時左右測定的,所以事實上是老熟雄蟲和初、中期雌蟲的混合羣體,在這個混合羣體中,由於混雜着約半數的老熟雄蟲,因此,其敏感度較之純雄性羣體的初期要降低一些。由於這樣,作者認為本文中所報告的結果並不和劉維德、劉金發所得的結果矛盾。並且還可進一步解釋劉維德和劉金發他們對各齡初、末期敏感度變動的幅度還小於本文中所報告的同齡雌雄性別間的敏感度差異的原因。

(二) 2、3 齡雄性幼蟲敏感度低於雌性,而 4 齡則雌性幼蟲反低於雄性,我們認為其原因主要是由於雄性幼蟲在發育和代謝強度上都大大的超過了雌性幼蟲(這完全可以從雄性發育較快這點上得到證明),因而,對殺蟲劑具有較高的耐葯力。但到達 4 齡時,這時由肉眼即可清楚的看出雌性幼蟲的身體逐漸變得較雄蟲更為粗壯和肥大起來,體色亦較雄蟲深暗得多,這是在 2、3 齡幼蟲中所沒有看到的現象。顯然,幼蟲在到達 4 齡後,只是由於生理上的需要和變化,在雌蟲體內逐漸累積了比雄蟲多得多的脂肪,才使雌蟲具有了

儲藏更多的杀虫剂的能力,从而大大降低了雌虫对杀虫剂的敏感度。

(三) 从 LD-p 綫的坡度(b 值)看来, 2、3 龄雌雄是基本平行的(2 龄雄为 2.49, 雌为 2.69。3 龄雄为 2.47, 雌为 2.77), 数据同时也說明了同一齡期雌雄之間並沒有显著的异质現象。而在 4 齡时, 雌性 LD-p 綫的坡度都較显著地小于雄性, 这可能由于 4 齡发育時間較长, 因而愈到后期其大小參差愈为显著, 不若 2、3 齡的个体整齐, 所以才出現了較明显的异质現象。

(四) 刘維德和刘金发的工作認為, 用淡色庫蚊幼虫作为 γ -666 和狄氏剂的微量測定材料时, 以 2 齡幼虫最为适宜, 因为 2 齡幼虫初、末期之間的敏感度的差异最小。从本文結果来看, 2 齡雌雄幼虫間敏感度差异的平均数为 0.2001, 而 3、4 齡則各为 0.4136 和 0.3044, 2 齡也較小于 3 齡和 4 齡, 因此, 作杀虫剂殘量生物測定时, 也以用 2 齡幼虫較好。

参 考 文 献

- 张宗炳 1958. 昆虫毒理学. 科学出版社。
- 刘維德、刘金发, 1963. 淡色庫蚊 (*Culex pipiens pallens* Coq) 幼虫的不同发育阶段对几种氯化烴类杀虫剂敏感度变化的研究. 昆虫学报 12 (3): 276—81。
- Bliss, C. I., 1952. The Statistics of Bioassay. New York.
- Brown, A. W. A., 1957. Method employed for determining insecticide resistance in Mosquito larvae, Bull. W. H. O. 16:201—4.
- Elmo, M. & McCary, Jr., 1961. A Mechanical device for the Rapid Sexing of *Aedes aegypti* Pupae, J. Econ. Ent., 54(4):819.
- Finney, D. J., 1952. Probit Analysis Cambridge.
- Jones, J. C., 1957. A simple method for sexing living *Anopheles* larvae, Ann. Ent. Soc. Amer., 50(1): 104—6.
- , 1957. A New standard for the Rapid detection of DDT tolerance in *A. quadrimaculatus* larvae and pupae, Mosquito News., 17(1):1—9.
- Wood, R. J., 1962. A preliminary note on sex ratio and hatching-response in eggs of *Aedes aegypti* (L), Ann. Arop. Med. Parasit., 56(3):356.

STUDIES ON THE SEXUAL DIFFERENCE OF THE LARVAE OF *CULEX PIPIENS PALLENS* COQ. IN RELATION TO THE SUSCEPTIBILITY TO GAMMA-BHC

HWANG PIN-TCHIEN & LIU WI-TEH

(Institute of Entomology, Academia Sinica, East China)

1. The existence of sexual difference has been demonstrated in the various stages of the larvae of *Culex pipiens pallens* Coq. The simplest method to identify the sex of the larvae of this species depends upon the proceeding of the hatching and molting. The hatching and molting take place first in male, later in female.

2. The male larvae of 2nd and 3rd stages of the mosquito of this species are more tolerable to γ -BHC than the female, but in contrast to 2nd and 3rd stages, the females of the 4th stage larvae are more tolerable to the γ -BHC than males.

3. According to the result of this research, the authors are of the opinion that, the 2nd stage larvae of the mosquito of this species would be more suitable for bioassay than other stages.