

## 眼蕈蚊科昆虫的采集、制作与物种鉴定

### Collecting, Preparation and Identification of Black Fungus Gnats (Diptera: Sciaridae)

刘彩霞, 王青云, 吴鸿, 黄俊浩\*

林业与生物技术学院, 浙江农林大学, 杭州, 浙江省 311300

\*通讯作者邮箱: [huangjh@zafu.edu.cn](mailto:huangjh@zafu.edu.cn)

引用格式: 刘彩霞, 王青云, 吴鸿, 黄俊浩. (2021). 眼蕈蚊科昆虫的采集、制作与物种鉴定. Bio-101 e1010635. Doi: 10.21769/BioProtoc. 1010635.

How to cite: Liu, C. X., Wang, Q. Y., Wu, H. and Huang, J. H. (2021). Collecting, Preparation and Identification of Black Fungus Gnats (Diptera: Sciaridae). Bio-101 e1010635. Doi: 10.21769/BioProtoc. 1010635. (in Chinese)

**摘要:** 眼蕈蚊科是物种丰富度较高的双翅目类群之一。该科昆虫在世界分布广泛, 已记录80属2800余种, 中国记录32属409种。由于种类多、个体小、分布广, 眼蕈蚊科昆虫分类中尚存诸多疑问, 物种鉴别较困难, 待描述的种类较多。目前该类群主要依据雄成虫形态特征和DNA条形码进行物种鉴定。本文介绍了眼蕈蚊科昆虫的生物学及危害、分类研究的国内外进展、野外采集方法和玻片制作方法, 并提供了形态鉴定的主要特征图和分子鉴定的技术流程。本文为促进眼蕈蚊的分类鉴定和相关应用研究提供参考。

**关键词:** 眼蕈蚊总科, COI片段, 样本采集, 形态特征, 分子鉴定

### 研究背景

眼蕈蚊科 Sciaridae 属于双翅目 Diptera, 长角亚目 Nematocera, 眼蕈蚊总科 Sciaroidea。眼蕈蚊昆虫分布范围广, 种类繁多, 该科的许多类群是重要的农业害虫 (Miao *et al.*, 2020)。幼虫通常以腐烂的有机质、真菌的菌丝体、植物为食, 近来发现少数种类为肉食性。该幼虫对农作物、园林植物、真菌等危害严重, 以迟眼蕈蚊属 *Bradysia* 和厉眼蕈蚊属 *Lycoriella* 一些物种的危害最为严重, 其幼虫导致缓慢生长, 干黄枯死; 幼虫和成虫均可传播病原菌, 某些成虫能传播螨虫, 严重影响食 (药) 用菌生产。因此眼蕈蚊为

植物授粉、害虫生物控制和土壤有机物分解等过程中体现了多种生态系统服务功能 (Phillips *et al.*, 2014)。

眼蕈蚊的分类研究开始于 19 世纪初，国内眼蕈蚊分类学研究工作开始于 20 世纪 80 年代，杨集昆教授和张学敏教授先后发表 4 新属 221 新种 (e.g. 杨集昆和张学敏, 1987)。前人的研究为眼蕈蚊的鉴定奠定了坚实的基础。但是，由于传统的形态鉴定主要依据雄性个体的外生殖器特征，受眼蕈蚊性别、发育阶段等因素的局限，鉴别结果的判定也易受主观影响，尤其是对研究者的分类知识和经验要求比较严格。近年来分子生物学技术在昆虫分类鉴定中的应用越来越广泛。由于眼蕈蚊昆虫物种极其丰富、属内物种形态相似度高、属级特征不明确、分类基础相对薄弱，导致眼蕈蚊物种难以鉴定，经常存在同物异名、异物同名的现象，部分种类含有模糊的复合种。因此，形态特征与分子技术手段相结合，将帮助眼蕈蚊科物种快速准确的分类鉴定。

目前眼蕈蚊科分为 4 个亚科 1 个伪厉眼蕈蚊属团，即眼蕈蚊亚科 Sciarinae，鬃眼蕈蚊亚科 Chaetosciarinae，强眼蕈蚊亚科 Cratyinae，万眼蕈蚊亚科 Megaloshyinae 和伪厉眼蕈蚊属团 *Pseudolycoriella* group (Shin *et al.*, 2013)。全世界眼蕈蚊科共计 80 属 2800 余种，中国眼蕈蚊科 32 属 409 种 (Shin *et al.*, 2013; Yang *et al.*, 2019; 黄俊浩等, 2020)。作为双翅目昆虫物种最丰富而研究较少的类群，眼蕈蚊昆虫的研究目前主要集中在古北区，而其他地区对眼蕈蚊昆虫尚未有系统性研究。Menzel and Mohrig (2000) 在对古北区眼蕈蚊分类研究的基础上，估计全世界眼蕈蚊科昆虫约为 2 万种。德国眼蕈蚊科昆虫的研究历史悠久、区系明确，目前已经记录 500 余种 (Moriniere *et al.*, 2019)，并不断发现新物种。近年来根据我们对东洋区眼蕈蚊昆虫区系的考察，发现云南和海南热带雨林的马氏网收集样本中，眼蕈蚊个体数常常占全部昆虫的 20% 左右，且物种多样性也非常高。Hebert *et al.* (2016) 对加拿大昆虫的 DNA 条形码研究结果证实了我们的观察，发现加拿大眼蕈蚊科的种类至少为 4,000 种，其中已知物种数量仅占 1.3%；以加拿大昆虫占世界种类 1% 的比例估算，世界眼蕈蚊科昆虫将达到 40 万种。

DNA 条形码序列是线粒体基因组中一段短的标准细胞色素 c 氧化酶亚基 I (cytochrome C oxidase subunit I, COI) 基因片段，常用于许多类群中的物种鉴定、分类和多样性分析，被认为是发现新物种和隐存种的有效工具，也是一种对昆虫分类有益的辅助技术手段 (Hebert *et al.*, 2004)。由于不受物种发育阶段、性别、个体完整性

的影响,该方法可以提供更加可靠的物种鉴定。它不仅提高了物种鉴定的准确率,而且还加快了较难鉴别类群和多样性丰富类群的研究。近年来,DNA条形码技术在昆虫生物多样性和生物进化领域的研究逐步深入,多项昆虫国际条形码计划先后开展,极大地丰富了昆虫条形码序列信息库。目前,DNA条形码已经广泛地应用到生物多样性评估、群落生态学和食物网特征等方面的监测 (Ji *et al.*, 2013; Pentinsaari *et al.*, 2020)。

条形码数据库 (barcode of life database, BOLD) 是一个收录、存储、分析和公布 DNA 条形码的信息平台。该数据库收录的条形码不仅包括条形码序列,还有引物名称、标本信息、采集记录、鉴定人等信息。BOLD 数据库对研究者是公开的,可以在网上免费获取信息,也可以将未知序列与 BOLD 上的序列进行比对,获取样本号和 BIN (Barcode index number) 号,创建个人数据库。截止 2021 年 5 月,该数据库共收录眼蕈蚊科条形码 441,843 条,其中,中国眼蕈蚊 10,360 条。

## 眼蕈蚊的生活史

眼蕈蚊主要生活在潮湿阴暗的森林中,物种丰富、个体数量大,一般 30-60 d 完成一个世代。

### 1. 卵 (图 1A)

卵期 4-7 d,乳黄色椭圆,当胚成熟时变成白色。

### 2. 幼虫 (图 1B)

一般 9-17 d,大多数物种的幼虫研究较少,身体通常细长、白色,有一明显的黑色头囊。头囊背面具三角形前额,一对头盖片由两条头盖缝与前额隔开,膜状上唇;触角小,位于前额侧端部。腹部白色至半透明,共 12 节。幼虫具各式各样的半气门,且每龄都有不同的变化。

### 3. 蛹 (图 1C)

通常 3-5 d,蛹的背面具狭长的前胸背板、前胸气门、中胸背板、后胸背板、触角鞘、翅鞘等;蛹腹面具额唇基,额唇基位于触角基鞘与喙鞘之间,下颚鞘位于复眼下面。

### 4. 成虫 (图 1D)

成虫为小型暗淡蚊类,体长 0.1-1.5 cm,眼桥或有或无,身体较为粗壮,腹部微弯,足基节延长,翅脉简单且固定。

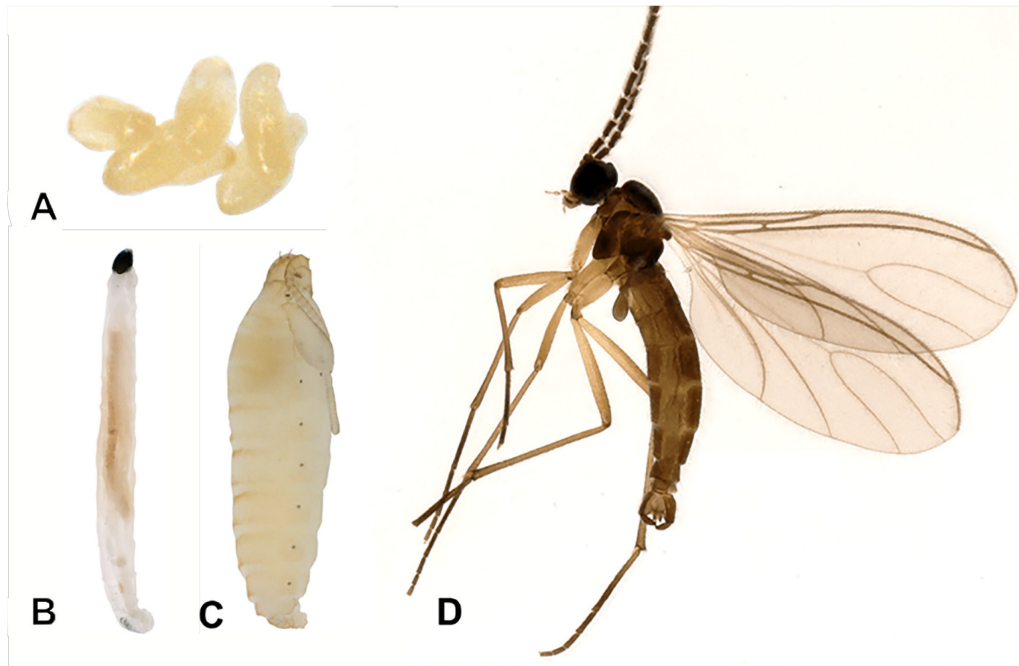


图 1. 眼蕈蚊科昆虫各虫态 (A) 卵 异型眼蕈蚊 *Pnyxia scabiei*; (B) 幼虫 *P. scabiei*; (C) 蛹 *P. scabiei*; (D) 成虫 *Bradysia* sp.。

## 眼蕈蚊标本的野外采集

### 1. 采集工具

眼蕈蚊成虫的野外采集常用方法为马氏网、扫网和灯诱。工具涉及：扫网、马氏网、诱虫灯、冻存管 (2.5 ml 和 5 ml)、镊子 (软镊和硬镊)、记录本等。

### 2. 马氏网法

眼蕈蚊多生活在潮湿的灌草丛和郁闭度高的乔木林中。马氏网由垂直网面和顶部网面组成，顶部成屋脊状，一端高，另一端低。在略高的顶部装置收集瓶，被拦截的眼蕈蚊向上爬去，最后掉入盛有不同浓度乙醇的收集瓶中 (75%/每 1 个星期收集 1 次，85%/每 2 个星期，100%/每月)。

### 3. 扫网法

扫网法是随着挥网的动作顺势将网袋向上甩，或者迅速翻转网柄使网口与网袋叠合，将装有无水乙醇的冻存管慢慢放入网中，避免入网眼蕈蚊逃脱，但也要注意避免将虫体的头、翅、足和生殖器破坏，将雌性和雄性个体分别放入不同的冻存管中，以便后期样本的挑选与鉴定。

#### 4. 灯诱法

部分眼蕈蚊昆虫具有趋光性，可以利用黑光灯或高压汞灯进行诱集。为了便于收集眼蕈蚊，灯诱时常在灯旁边悬挂一块白布，或是专用灯诱帐篷，中间悬挂灯。诱集地点最佳位置为林区、灌草丛等四周较为开阔的场所。

### 玻片制作和形态特征拍摄

#### 1. 药品

无水乙醇、Euparal-Essenz 树胶

#### 2. 工具

解剖镜、显微镜、酒精灯、载玻片 (76 × 26 mm)、盖玻片 (直径 10 mm)、解剖针、培养皿、解剖镊 2 支

#### 3. 玻片制作

整个玻片制作过程在体式镜下进行，步骤如下：

第一步，将眼蕈蚊个体从 85%酒精中取出后放在 100%的酒精中，完成解剖。

第二步，滴一小滴混合胶于载玻片上，用细棒将其展开，将解剖下的外生殖器、头、翅、足四个部分分别放在小胶中，调整其位置，将生殖器腹面、头的正面、前足的胫梳朝上，并将下颚须展开，放置 20 min。

第三步，将放有组织的载玻片再滴适量的树胶，并分别盖上盖玻片进行封片。

第四步，水平放置一段时间后，检查玻片是否出现缺胶情况，若有需要，适当进行补胶，室温静置 1 d，使用烘箱在 60 °C 烘干或自然条件下风干，置玻片盒保存 (图 2)。

#### 4. 形态特征的拍摄

采用基恩士超景深三维显微镜 VHX-6000，拍摄眼蕈蚊物种的主要鉴别特征，包括外生殖器、前足胫梳、翅脉、下颚须、触角，度量单位为  $\mu\text{m}$ 。

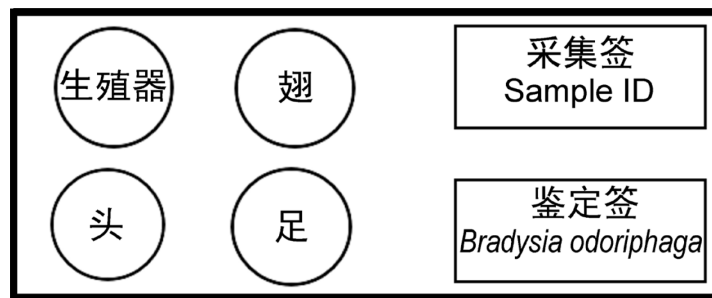


图 2. 玻片标本示意图

## 物种的分子鉴定

### 1. 材料与试剂

- 1.1 1.5 ml 离心管, 200  $\mu$ l PCR 管 (上海生工)
- 1.2 20  $\mu$ l, 200  $\mu$ l, 1 ml 移液枪枪头 (上海生工)
- 1.3 一次性滤纸
- 1.4 DNeasy Blood & Tissue kit (Qiagen Hilden, Germany)
- 1.5 DNeasy TIANamp Genomic DNA Kit (TIANGEN, China)
- 1.6 Takara Taq buffer (10 x) (上海生工)
- 1.7 dNTPs (10 mM) (上海生工)
- 1.8 无水乙醇 (分析纯)
- 1.9 引物 LCO1490 和 HCO2198 (上海生工合成)
- 1.10 PCR (Takara Bio Company)
- 1.11 Premix 酶 (上海生工)
- 1.12 琼脂糖 (Life Technologies)
- 1.13 0.1 x TE 缓冲液 (上海生工)
- 1.14 双蒸水 (杭州欧泉科技有限公司)
- 1.15 DEPC 缓冲液 (上海生工)

### 2. 仪器设备

- 2.1 0.2-2  $\mu$ l, 2-20  $\mu$ l, 20-200  $\mu$ l, 100-1000  $\mu$ l 移液枪
- 2.2 涡旋振荡器
- 2.3 适配 1.5 ml 离心管的离心管架、200  $\mu$ l PCR 的 96 孔板
- 2.4 适配 1.5 ml 离心管、200  $\mu$ l 离心管的小型离心机

2.5 高速冷冻离心机

2.6 恒温水浴锅

2.7 量筒 100 ml

2.8 天平

2.9 药勺

2.10 电泳仪

2.11 锥形瓶 50 ml

2.12 分光光度计 (Nanodrop 2000)

### 3. 总 DNA 提取

采用试剂盒提取眼蕈蚊胸部或足的总 DNA。总 DNA 分装成 2 管，1 管用于 PCR 实验，短期保存在 4 °C 冰箱；另 1 管保存于 -20 °C 冰箱中备用。DNA 提取步骤如下：

#### 3.1 试剂盒 1: DNeasy Blood & Tissue kit (Qiagen Hilden, Germany)

- 1) 准备 1.5 ml 的离心管，标记编号，加入 180  $\mu$ l Buffer ATL，20  $\mu$ l Proteinase K 溶液混匀，将胸部或足去除酒精后放到已准备好的混合液体中，水浴 6-9 h。
- 2) 加入 200  $\mu$ l Buffer AL，简短的离心去除离心管壁上的液体。
- 3) 加入 200  $\mu$ l 无水乙醇，充分振荡混匀 15 s，简短离心，去除离心管壁上的液体。
- 4) 将上一步所得到的溶液和絮状物沉淀都加到吸附柱 CB3 中，8000 rpm 离心 1 min，倒掉废液，将吸附柱 CB3 放到新的收集管。
- 5) 加入 500  $\mu$ l Buffer AW1，8000 rpm 离心 1 min，倒掉废液，将吸附柱 CB3 放到新的收集管。
- 6) 500  $\mu$ l Buffer AW2，8000 rpm 离心 1 min，倒掉废液，将吸附柱 CB3 放到新的收集管。
- 7) 12000 rpm 离心 3 min。
- 8) 将离心柱放到新的收集管中，加入 60  $\mu$ l Buffer AE 静置 5-10 min，8000 rpm 离心 1 min，使用移液枪将离心管液体吸入离心柱中，8000 rpm 离心 1 min，共重复 3 次，将总 DNA 收集到离心管中。

### 3.2 试剂盒 2: DNeasy TIANamp Genomic DNA Kit (TIANGEN, China)

- 1) 准备 1.5 ml 的离心管, 注上编号, 加入 200  $\mu$ l 缓冲液 GA, 20  $\mu$ l Proteinase K 溶液混匀, 将胸部或胸部和剩余的足去除酒精后放到已准备好的混合液体中, 水浴 6-9 h。
- 2) 加入 200  $\mu$ l 缓冲液 GB, 充分颠倒混匀, 70 °C 放置 10 min, 简短的离心去除离心管壁上的液体。
- 3) 加入 200  $\mu$ l 无水乙醇, 充分振荡混匀 15 s, 简短离心, 去除离心管壁上的液体。
- 4) 将上一步所得到的溶液和絮状物沉淀都加到吸附柱 CB3 中, 12,000 rpm 离心 30 s, 倒掉废液, 将吸附柱 CB3 放回收集管。
- 5) 加入 500  $\mu$ l 缓冲液 GD, 12,000 rpm 离心 30 s, 倒掉废液, 将吸附柱 CB3 放回收集管。
- 6) 加入 600  $\mu$ l 漂洗液 PW, 12,000 rpm 离心 30 s, 倒掉废液, 将吸附柱 CB3 放回收集管; 重复步骤 6。
- 7) 将吸附柱 CB3 放回收集管中, 12,000 rpm 离心 2 min, 倒掉废液, 将吸附柱 CB3 室温放置 5-10 min, 以彻底晾干吸附材料中残余的漂洗液。
- 8) 将 CB3 放到离心管, 加入 60-80  $\mu$ l 洗脱缓冲液 TE, 放置 5 min, 12,000 rpm 离心 2 min, 重复 1 次, 将总 DNA 收集到离心管中。

### 4. PCR 扩增

PCR 扩增反应中, COI 选用引物 LCO1490 和 HCO2198 各 0.2-0.3  $\mu$ l (Folmer *et al.*, 1994)。PCR 反应体系为 15  $\mu$ l, 10 x Buffer 1.5  $\mu$ l,  $Mg^{2+}$  1.5  $\mu$ l (25 mmol/L), 2.5 mmol/L 的 dNTP 1.5  $\mu$ l, 0.13  $\mu$ l 的 Takara Taq 酶, 模板 DNA 1-2  $\mu$ l, 缓冲液 DEPC 7.77-8.77  $\mu$ l, 或 premix 酶 7.5  $\mu$ l, 引物 LCO1490 和 HCO2198 各 0.2-0.3  $\mu$ l, 模板 DNA 1-2.5  $\mu$ l, 缓冲液 DEPC 4.4-5.9  $\mu$ l。

COI 片段的 PCR 扩增条件为 95 °C 预变性 5 min, 共运行 35 个循环: 95 °C 变性 30 s, 45 °C 退火 40 s, 72 °C 延伸 50 s, 72 °C 延伸 10 min, 最后 4 °C Forever。PCR 产物在 1% 的琼脂凝胶上检测扩增效果, 最后用于测序工作。

### 5. 序列处理

5.1 采用双向测序，测序得到的 COI 原始序列使用 ContigExpress 软件观察序列峰图质量，并对每个碱基逐一人工校对，保证 COI 序列的可靠性。将每条序列完成拼接后，整理存放在同一个.fasta 格式文件中。

5.2 采用 ClustalW 进行比对，判断碱基的同源性和去除终止密码子。

## 6. 序列比对

将每条序列在 BOLD Systems v4 (<http://www.boldsystems.org/>) 上进行鉴定，单个基因片段可以运用 MEGA7.0 软件、基于 Kimura-2-parameter 参数模型，采用邻接法 (Neighbour-Joining, NJ) 构建系统发育树。

## 7. 序列相似度分析

以韭菜迟眼蕈蚊 (韭蛆) *Bradysia odoriphaga* 的分子鉴定为例。

>*Bradysia* sp. COI 371 bp

```
GAGTTTGTGAGATTTGACTTTTACCCCCTCATTAACTTTATTATTAACAAGAA
GATTAGTTGAAAGAGGAACAGGGACAGGATGAACAGTTTATCCTCCTCTATCT
TCCACAATTTCTCATTGAGGTGCATCAGTAGATTTATCAATTTTTCTCTTCATT
TAGCAGGAATTTCTTCTATTTTAGGGGCGGTTAATTTTATTTCTACAATTATTAAT
ATACGGACTCCTGGGATATCATTTGATAAAATACCTTTATTTGTTTGATCAGTAT
TAATTACAGCAATTCTTTTATTATTATCTTTACCTGTATTAGCAGGAGCTATTACA
ATATTATTAACAGACCGAAATTTAAACACTTCATTTTTTTGTA
```

### 7.1 数据库比对

公共数据库：BOLD system, GenBank

将以上存疑序列于 BOLD system 上进行 Identification, 发现与 *Bradysia* sp. 和 *B. odoriphaga* (BIN BOLD: AAZ5626) 相似度均达 100% (图 3)。然后根据形态特征进行再次确定。



对于眼蕈蚊昆虫，BOLD 系统和 NCBI 数据库相比较，由于 BOLD 系统中物种鉴定均由分类学者一一确认过，物种比对的结果更可信。

## 7.2 建树分析

下载 BOLD system 相似度达 100%的序列 (19 条) 和 Genebank 相似度达 99.72%的序列 (3 条), 并与 *Bradysia tilicola* group 的 *Bradysia tilicola* (BOLD: AAN6444)、*Bradysia impatiens* (BOLD: AV1295) 和 *Bradysia ocellaris* (BOLD: AAO8565) 采用 MEGA 7.0 构建 NJ 树 (图 5)。

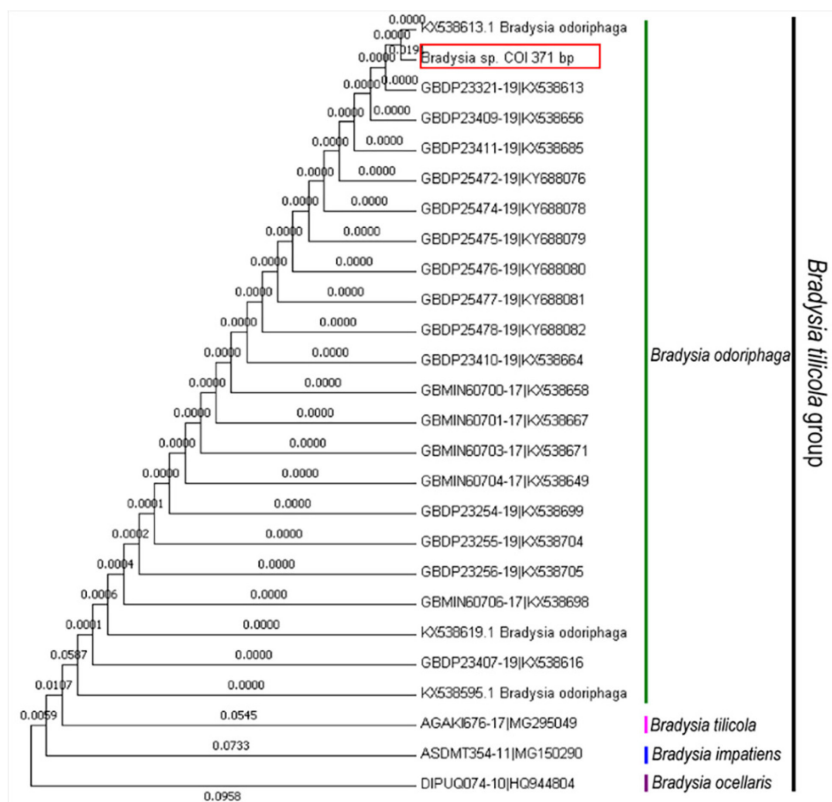


图 5. 基于 NJ 法的迟眼蕈蚊 *Bradysia sp.* 的系统发育树

运用 MEGA 7.0 软件, 基于 Kimura-2-parameter 模型 (bootstrap 10,000), 构建迟眼蕈蚊 *Bradysia tilicola* group 的 NJ 树。*Bradysia sp.* 的序列和 *B. odoriphaga* (BOLD: AAZ5626) 序列聚为一支, 与迟眼蕈蚊 *Bradysia tilicola* group 的 3 个物种聚为不同的分支; 根据系统发育树的支持率, 发现存疑物种与韭菜迟眼蕈蚊 *B. odoriphaga* 具有非常高的同源性, 其与 *B. odoriphaga* 相似度达 98%。因此, 序列相似度和系统发育的分析都表明,

存疑序列 *Bradysia* sp. 暂定为韭菜迟眼蕈蚊 *Bradysia odoriphaga* (Yang et Zhang, 1985)。

### 8. 遗传距离分析

运用 MEGA 7.0 软件，基于 Kimura-2-parameter 模型，计算迟眼蕈蚊属 *Bradysia* *tilicola* group 26 条序列的遗传距离 (图 6)。数据显示，*Bradysia* sp.与 *Bradysia odoriphaga* 遗传距离为 2.0%。而根据眼蕈蚊科平均种内遗传距离 3.0%，确认为同一物种。

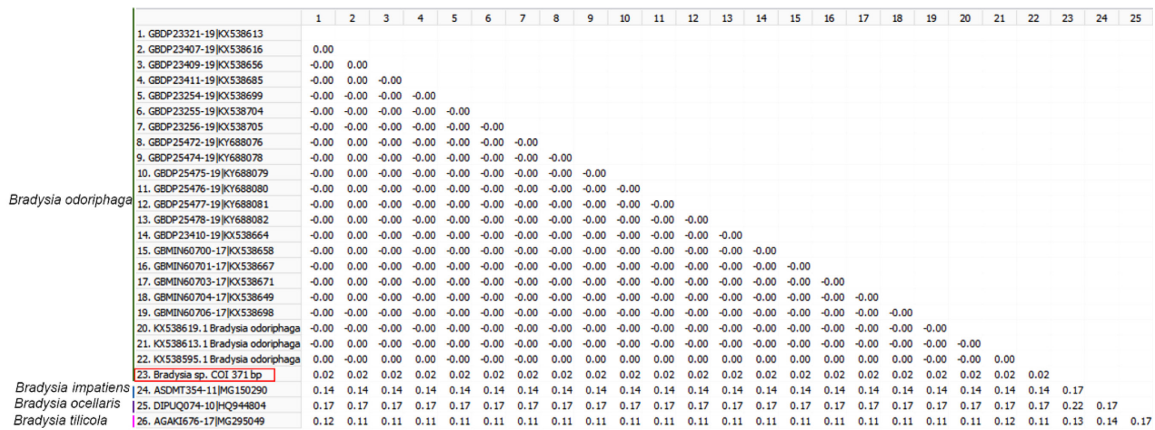


图 6. 迟眼蕈蚊 *Bradysia* sp.遗传距离分析

### 9. 物种分子鉴定的结论

根据对 *Bradysia* sp.的序列相似度分析和遗传距离分析，确认该物种为韭菜迟眼蕈蚊 *Bradysia odoriphaga* (Yang et Zhang, 1985)。

## 物种的形态鉴定

### 1. 形态特征及术语

眼蕈蚊物种的形态鉴定依据雄性个体，主要是雄外生殖器、触角、下颚须、翅脉和前足胫梳等结构特征。本文的研究术语主要参考 Menzel and Mohrig (2000) 和 Menzel and Smith (2017)。

#### 1.1 头 (head)

- 1) 头 (head): 着生于拱形胸部前缘水平之下，通常圆形至肾形，黄褐色至黑褐色 (图 7)。

- 2) 头顶 (vertex): 通常具短毛, 具 3 个单眼 (ocelli), 某些种类侧单眼退化。
- 3) 触角 (antenna): 着生于头的中间, 长度略有变化。柄节 (scape) 和梗节 (pedicel) 圆至椭圆形, 短, 且具毛; 鞭节通常圆柱形, 14 节, 少数种类特呈念珠状如轭眼蕈蚊属 *Zygoneura* Meigen、伪轭眼蕈蚊属 *Pseudozygoneura* Steffan, 不同属的鞭节长、宽比变化较大, 触角多为单色, 但少数种类双色如栉眼蕈蚊属 *Ctenosciara* Tuomikoski、植眼蕈蚊属 *Phytosciara* Frey 柄节和梗节颜色较淡, 与鞭节区别明显。
- 4) 眼桥 (eye bridge): 眼桥小, 眼面 1-6 排, 某些属眼桥退化呈短线状如歧眼蕈蚊属 *Phyxiopsis* Tuomikoski。
- 5) 前额 (prefrons) 和唇基 (clypeus): 具毛或光裸。上唇 (labrum) 三角形。
- 6) 下颚须 (maxillary palpus): 通常 1-3 节, 具毛; 有的属基节长, 凯眼蕈蚊属和植眼蕈蚊属; 有的属基节短, 如木眼蕈蚊属 *Xylosciara* Tuomikoski; 基节是属征之一, 基节具毛多少以及是否有明显感觉窝都是鉴别属的重要特征, 如凯氏眼蕈蚊属基节具 1 毛和感觉窝, 翼眼蕈蚊属 *Corynoptera* Winnertz 基节具 1 毛但无明显感觉窝; 歧眼蕈蚊属和叶眼蕈蚊属 *Scythropochroa* Enderlein 下颚须 1 节, 呈蛋形, 中节常短于端节。

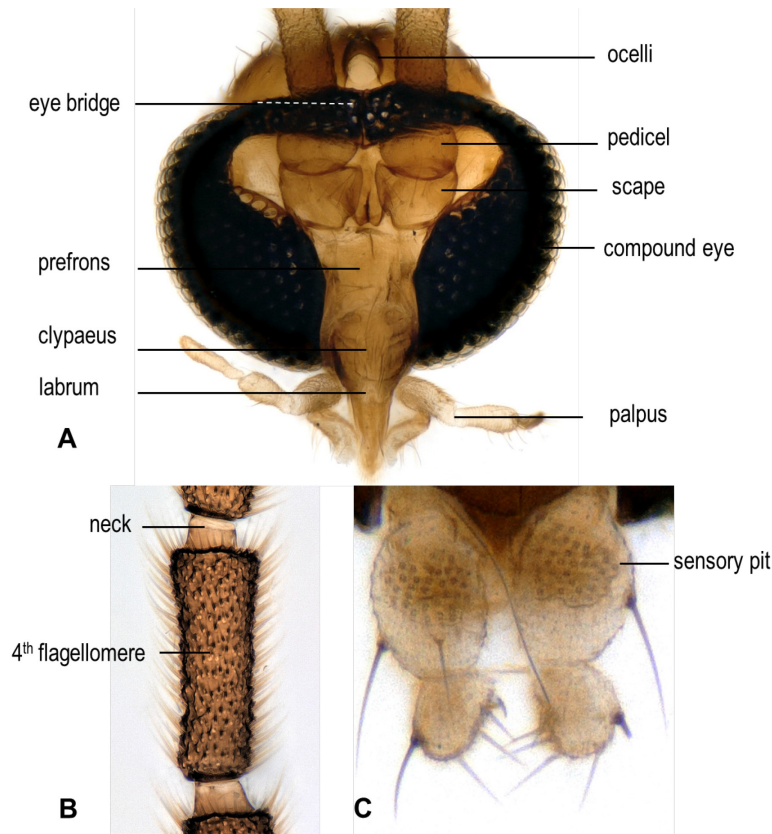


图 7. 头部特征 (A) 正面观, 伪厉眼蕈蚊 *Pseudolycoriella bruckii*; (B) 触角第 4 鞭节, 奇特瓣眼蕈蚊 *Schwenckfeldina explicata*; (C) *Sciaridae* sp. 下颚须。

## 1.2 胸 (thorax)

眼蕈蚊胸部通常较厚而结实, 背部拱形 (图 8)。胸部体表常具有诸如刚毛等被覆物, 其分布特征是分类研究中的常用依据。中胸背板、小盾片常具毛, 同属物种小盾片刚毛数量较为稳定。胸部的其他骨片上偶尔被毛。平衡棒具 1 至多排毛。

- 1) 前胸背板 (pronotum): 包括前胸背板前部 (antepronotum) 和前胸背板后部 (postpronotum)。前胸背板前部具毛或光裸, 部分或完全与前胸前侧片融合; 前胸背板后部退化, 似三角形, 具毛或光裸。
- 2) 前胸前侧片 (prothoracal episternum): 前胸前侧片直接位于前胸背板下方并与其紧密融合, 通常具毛。两骨片之间的骨缝通常清晰。

- 3) 中胸背板 (mesonotum): 中胸盾片从较平伏的到高度隆起, 变化较大。某些种类中胸背板高耸过头部如瘤眼蕈蚊属 *Hybosciara* Rubsaamen。中胸盾片的表被物变化很大, 通常是毛和鬃, 不规则排列或按呈线性排列。小盾片 (scutellum) 位于中胸盾片后面, 几乎总是具有一些小刚毛和成对的 鬃。中胸上前侧片 (anterior anepisternum)、中胸后侧片 (mesothoracic epimeron)、后胸前侧片 (metathoracic episternum) 通常光裸。
- 4) 中胸下前侧片 (mesothoracic katepisternum): 中胸下前侧片位于上前侧片的下方, 通常光裸, 其背缘略成角度。胸膜凹陷 (pleural pit) 位于中胸 下前侧片背缘中央或略前。
- 5) 中背片 (mediotergite): 中背片通常光裸, 颜色较深, 偶具细毛。
- 6) 后胸背板 (metanotum): 光裸, 骨质化极为明显, 通常弯曲, 为测量眼蕈蚊 胸部长度的重要参照标准。

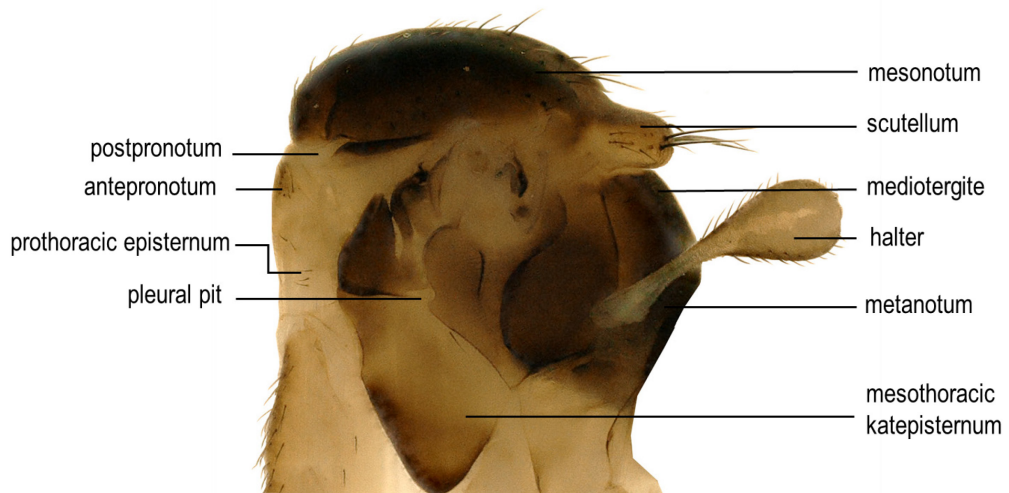


图 8. 胸部特征 突眼蕈蚊 *Dolichosciara* sp. (侧视)。

### 1.3 足 (legs)

通常有长有短, 表被物常由小毛和刚毛组成, 无规则排列。基节表面密被刚毛。腿节通常纤细, 有时略膨大。胫节密被小毛通常具刺, 强度和排列不一。胫式 1:2:2, 前足胫节端腹面具一端距和一扁平的区域, 称为胫梳 (图 9)。形状多样, 为重要的属征, 胫梳类型主要有以下几种: 呈一弧形横排 (突眼蕈蚊属 *Dolicho*

*sciara*, 图 9A); 不规则分布 (伪阿眼蕈蚊属 *Pseudoaerumnosa*, 图 9B); 浓密, 具有明显的弧形界限 (瓣眼蕈蚊属 *Schwenckfeldina*, 图 9C); 呈一横排但中间断开不连续 (屈眼蕈蚊属 *Camptochaeta*, 图 9D); 成一连续横排 (翼眼蕈蚊属 *Corynoptera*, 图 9E), 呈弧形且具边界, 小毛明显 (屈眼蕈蚊属 *Camptochaeta*, 图 9F)。跗节 5 节, 爪具齿或无。



图 9. 前足胫梳 (A) 突眼蕈蚊 *Dolichosciara* sp.; (B) 伪阿眼蕈蚊 *Pseudoaerumnosa* sp.; (C) 基叶瓣眼蕈蚊 *Schwenckfeldina lobocoxa*; (D) 屈眼蕈蚊 *Camptochaeta* sp.; (E) 翼眼蕈蚊 *Corynoptera* sp.; (F) 屈眼蕈蚊 *Camptochaeta* sp.。

#### 1.4 翅 (wing)

翅通常与腹等长。翅脉较为简单并且固定 (图 10), 某些种类翅脉退化, 如欧眼蕈蚊属 *Epidapus* Haliday, 径分脉 Rs 无分支, 基部折成直角如一横脉, 异型眼蕈蚊属 *Pnyxia* Johannsen 基部折成钝角而与其他种类具有明显的区别。径中横脉 (r-m) 与中脉基段 bM 相连在同一直线, 似与 Rs 相连的纵脉, Rs 上多

具大毛，中脉 M 分叉，上具毛或无，少数种类如轭眼蕈蚊属 *Zygoneura* Meigen 和拟轭眼蕈蚊属 *Zygomma* Enderlein，M1 脉基部呈钟状鼓起，M 柄 细长或微弱；平衡棒位于后胸背板和后胸侧板之间，外形几乎一致，具有 1 至多排不规则的毛。

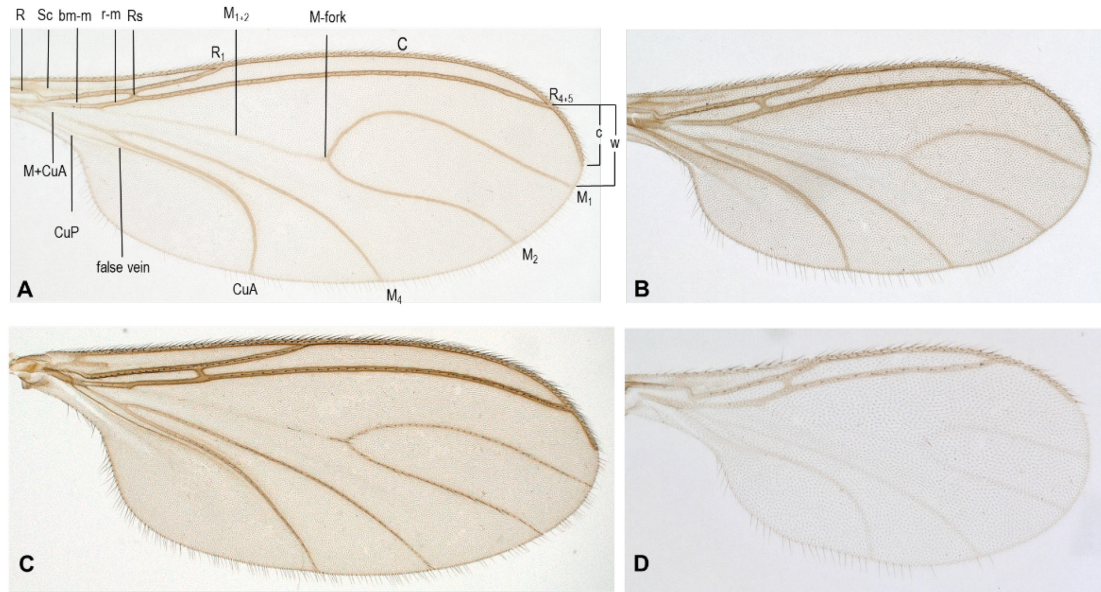


图 10. 翅脉 (A) 轭眼蕈蚊 *Zygoneura* sp.; (B) 摩眼蕈蚊 *Mohrigia* sp.; (C) 突眼蕈蚊 *Dolichosciara* sp.; (D) 密眼蕈蚊 *Claustropyga* sp.。

### 1.5 雄外生殖器 (hypopygium)

眼蕈蚊科昆虫的物种形态鉴定主要依据雄性个体外生殖器的结构特征。雄性生殖器变化相对稳定，主要由腹部 9-10 节组成，包括 1 对生殖基节 (gonocoxite)、1 对生殖刺突 (gonostylus)、1 个阳基 (tegmen) (图 11)。生殖刺突形式多样，为定种的主要依据。

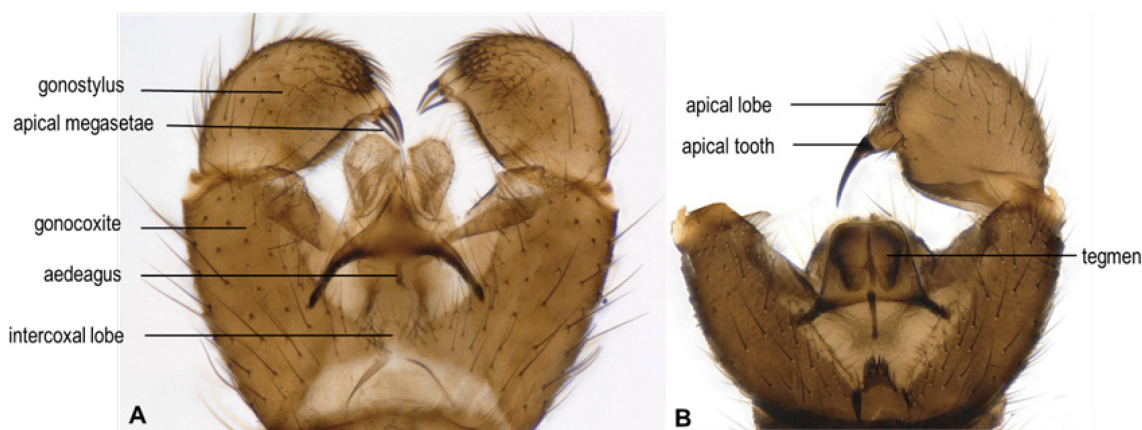


图 11. 雄性外生殖器 (A) 首眼蕈蚊 *Prosciara* sp.; (B) 摩眼蕈蚊 *Mohrigia* sp.。

## 致谢

感谢国家自然科学基金项目的资助 (31872270)。

## 参考文献

1. 黄俊浩, 杨学, 施凯, 吴鸿. (2020). 眼蕈蚊科. In: 杨定等 (主编). In: *中国生物物种名录. 第二卷 动物 昆虫(V) 双翅目(1) 长角亚目*. 科学出版社. 北京.
2. 杨集昆, 张学敏. (1987). [木耳狭腹眼蕈蚊新种记述 \(双翅目: 眼蕈蚊科\)](#). *昆虫分类学报* 02: 97-99.
3. Folmer, O., Black, M., Hoeh, W., Lutz, R. and Vrijenhoek, R. (1994). [DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates](#). *Mol Mar Biol Biotechnol* 3(5): 294-299.
4. Hebert, P. D. N., Penton, E. H., Burns J. M., Janzen, D. H. and Hallwachs, W. (2004). [Ten species in one: DNA barcoding reveals cryptic species in the neotropical skipper butterfly \*Astraptes fulgerator\*](#). *PNAS* 41(101): 14812-14817.
5. Hebert, P. D. N., Ratnasingham, S., Zakharov, E. V., Angela, C. T., Levesque-Beaudin, V., Milton, M. A., Pedersen, S., Jannetta, P. and deWaard J. R. (2016). [Counting animal species with DNA barcodes: Canadian insects](#). *Philos Trans R Soc Lond B Biol* 371(1702): 1-10.
6. Ji, Y., Ashton, L., Pedley, S. M., Edwards, D. P., Tang, Y., Nakamura, A., Kitching, R., Dolman, P. M., Woodcock, P., Edwards, F. A., Larsen, T. H., Hsu, W. W., Benedick S., Hamer, K. C., Wilcove, D. S., Bruce C., Wang, X., Levi T., Lott M.,

- Emerson, B. C. and Yu D. W. (2013). [Reliable, verifiable and efficient monitoring of biodiversity via metabarcoding](#). *Ecol Lett* 16: 1245-1257.
7. Menzel, F. and Mohrig, W. (2000). [Revision der paläarktischen Trauermücken \(Diptera: Sciaridae\)](#). *Studia dipterologica* 6(1999): 1-761.
  8. Menzel, F. and Smith, J. E. (2017). Manual of Afrotropical Diptera (Sciaridae) (Black Fungus Gnats). *Suricata* 5(2): 131-154.
  9. Miao, X., Huang, J., Menzel, F., Wang, Q., Wei, Q., Lin, X. L. and Wu, H. (2020). [Five mitochondrial genomes of black fungus gnats \(Sciaridae\) and their phylogenetic implications](#). *Int J Biol Macromol* 150: 200-205.
  10. Moriniere, J., Balke, M., Doczkal, D., Geiger, M. F., Hardulak, L. A., Haszprunar, G., Hausmann, A., Hendrich, L., Regalado, L., Rulik, B., Wägele, J. W. and Hebert P. D. N. (2019). [A DNA barcode library for 5,200 German flies and midges \(Insecta: Diptera\) and its implications for metabarcoding-based biomonitoring](#). *Mol Ecol Resour* 19(4): 900-928.
  11. Pentinsaari, M., Blagoev, G. A., Hogg, I. D., Levesque-Beaudin, V., Perez, K., Sobel C. N., Vandenbrink, B. and Borisenko, A. (2020). [A DNA barcoding survey of an arctic arthropod community: implications for future monitoring](#). *Insects* 11(46): 1-18.
  12. Phillips, R. D., Scaccabarozzi, D., Retter B. A., Hayes, C., Brown, G. R., Dixon, K. W. and Peakall, R. (2014). [Caught in the act: pollination of sexually deceptive trap-flowers by fungus gnats in \*Pterostylis\* \(Orchidaceae\)](#). *Ann Bot* 113(4): 629-641.
  13. Shin, S., Jung, S., Menzel, F., Heller, K., Lee, H. and Lee, S. (2013). [Molecular phylogeny of black fungus gnats \(Diptera: Sciaroidea: Sciaridae\) and the evolution of larval habitats](#). *Mol Phy Evol* 66: 833-846.
  14. Yang, X., Shi, K., Heller, K., Menzel, F., Huang, J. and Wu, H. (2019). [Morphology and DNA barcodes of two species of \*Bradysia\* Winnertz from China \(Diptera, Sciaridae\), with the description of \*Bradysia minorlobus\* Yang, Shi & Huang sp. n.](#) *Zootaxa* 4612(1): 085-094.