



Formosan Entomologist

Journal Homepage: entsocjournal.yabee.com.tw

【Research report】

荒川庫蠔實驗室繼代飼養【研究報告】

連日清、彭玄桂

*通訊作者E-mail:

Received: Accepted: 1989/03/15 Available online: 1989/09/01

Abstract

摘要

以前雖然有實驗室繼代飼育荒川庫蠔方法之報告，但這些方法大多不理想或模仿困難，因此另外發展新的方法。這個方法簡單易學，即使未曾受過良好訓練的人員亦可操作。首先培養土壤桿線蟲，作為庫蠔幼蟲之飼料，培養基的成份為：5%乾燥酵母粉，2%洋菜及水。培養基每2週換新接種一次。荒川庫蠔孵化後，放在0.6%洋菜的培養基中，每日加入少許線蟲餵食。線蟲及庫蠔幼蟲飼養盤置於自然室溫條件下飼養。每一蟲期所需時間如下：卵22天，幼蟲6-26天，死亡率5%，蛹2天，死亡率10%，蛹置於紙杯內緩慢打氣的水中，使其羽化。俟羽化後，成蟲須移入放有硬紙條之紙杯，使其停在紙片上，以防掙扎致死。雌雄在紙杯內自行交配。羽化後3-4天，使其吸取雞血，再經3—4天之後，將已懷卵之雌蠔移入放有一片濕紙片之小管瓶中，使其產卵。每代約需22天。繼代飼養十一個月時已達15子代。本技術已成功的轉移予國內幾位有關人員應用中。

Key words:

關鍵詞:

Full Text:  [PDF \(0.39 MB\)](#)

下載其它卷期全文 Browse all articles in archive: <http://entsocjournal.yabee.com.tw>

荒川庫蠓實驗室繼代飼養

連日清 彭玄桂

行政院衛生署預防醫學研究所及行政院農業委員會畜牧處

(接受日期: 1989年3月15日)

摘 要

以前雖然有實驗室繼代飼育荒川庫蠓方法之報告,但這些方法大多不理想或模仿困難,因此另外發展新的方法。這個方法簡單易學,即使未曾受過良好訓練的人員亦可操作。首先培養土壤桿線蟲,作為庫蠓幼蟲之飼料,培養基的成份為:5%乾燥酵母粉,2%洋菜及水。培養基每2週換新接種一次。荒川庫蠓孵化後,放在0.6%洋菜的培養基中,每日加入少許線蟲餵食。線蟲及庫蠓幼蟲飼養盤置於自然室溫條件下飼養。每一蟲期所需時間如下:卵2天,幼蟲6~26天,死亡率5%,蛹2天,死亡率10%,蛹置於紙杯內緩慢打氣的水中,使其羽化。俟羽化後,成蟲須移入放有硬紙條之紙杯,使其停在紙片上,以防掙扎致死。雌雄在紙杯內自行交配。羽化後3~4天,使其吸取鷄血,再經3~4天之後,將已懷卵之雌蠓移入放有一片濕紙片之小管瓶中,使其產卵。每代約需22天。繼代飼養十一個月時已達15子代。本技術已成功的轉移予國內幾位有關人員應用中。

緒 論

荒川庫蠓 (*Culicoides arakawae*, 即俗稱雞糠蚊), 經證實為鷄住血原蟲性白冠病唯一的病媒 (Akiba, 1960), 對臺灣, 日本及亞洲其他地區之養鷄業造成莫大損失。為防治本病, 日本首先使用一種抗瘧藥——比利美他敏 (pyrimethamin), 後來臺灣亦廣泛使用而曾引起鷄蛋中殘留藥物之困擾問題。農業委員會有鑑於此, 經整體規劃安排後, 自1985年7月起輔導成立數種計畫, 同時加強行政管理及試驗工作, 經積極推動後, 鷄蛋含藥陽性率及含藥量均顯著降低。在試驗研究方面, 包括白冠病抗病鷄新品系育種, 蛋鷄白冠病防治模式之建立等, 皆進行頗為順利, 且已預見其抗病特性及防治效果, 惟始終無法以更科學的方法證實之。究其原因, 係飼養庫蠓失敗, 缺乏強有力之病媒傳遞病原, 藉以精確測試其抗病力及藥效。

以前曾有學者 (Morii and Kitaoka, 1968; Sun, 1974), 建立荒川庫蠓繼代飼養之報告, 其方法前者模仿自然生態條件而建立, 因此相當複雜, 除非對該種生態有豐富經驗, 否則模仿不易。後者使用幼蟲飼料為琼脂血液培養基, 對幼蟲而言不很理想, 故幼蟲發育緩慢, 時間延長很多。近來學者 (Kettle *et al.*, 1975) 發現有一類庫蠓的幼蟲捕食線蟲, 其後 (Kitaoka, 1982a, b) 利用線蟲試養庫蠓幼蟲, 結果發現多種庫蠓的幼蟲嗜食線蟲, 且發育良好, 但尚無人嘗試以線蟲作繼代飼養庫蠓之用。本計畫即利用土壤桿線蟲建立荒川庫蠓繼代飼養模式, 並將線蟲及庫蠓之飼養技術傳授予相關單位應用。

材 料 與 方 法

本實驗所用之荒川庫蠓係 1987 年 9 月 17 日下午 6 點至 9 點在桃園縣大園鄉橫山村的一處養雞場，以一盞臺製捕蠓燈，使用 NEC FL6BL 紫外光燈管，高度一公尺半，所捕獲已吸血之荒川庫蠓約 2,000 隻為繼代飼養之原始材料。其後繼代飼養者皆係其子代。

庫蠓幼蟲飼料係一種土壤桿線蟲 *Rhabditis* sp.，分離自天竺鼠糞便浸液，再以酵母琼脂培養基繼代飼養，培養基成份為乾燥酵母粉 5 gm，琼脂粉 2 gm 與水 100 ml 混合加熱使其均勻溶解後，注入直徑 9 cm，高度 5 cm 之玻璃培養皿約 1 cm 厚度，再加蓋俟其冷卻後放進桿線蟲培養。每二星期配製培養基一次，並重新接種一次。培養期間每二三天洒下少許酵母粉以補充營養。為使採取線蟲供庫蠓幼蟲捕食時之方便，在每一培養皿內加進一個酵母錠使線蟲集中於酵母錠上。採取時以蚊蟲解剖針鈎一小塊供庫蠓幼蟲捕食。

庫蠓幼蟲培養基係琼脂粉（或市售食用洋菜粉）0.6 gm 與水 100 ml 加熱煮成後注入直徑 9 cm 玻璃製細菌培養皿約 1 cm 厚，俟其冷卻，將各隻雌蠓所產卵置於培養基上，同時加上線蟲於培養基上數處，並加蓋，以防水份蒸發損失，每天檢視一次如線蟲被吃掉減少時，再補充一些線蟲於培養基上。約一週後，蛹開始形成，此時將每培養皿所得之蛹，以蚊蟲解剖針小心鈎出，不可傷害蟲體，置入個別養蠓紙杯內（口徑 8 cm，高度 9.5 cm，底直徑 5 cm），換水沖洗後水中加打氣器。此打氣器係以養魚用打氣幫浦連接一小段橡皮管，其末端封閉，將頭皮針插入此小段，另一端空氣出口置入水中即可。如空氣流出過猛時，可將針部以鉗子稍斂扁，使氣泡緩慢逸出為宜。養蠓紙杯離底 2 cm 上方開一個 1.5 cm 方型洞，貼上 3 cm 方型薄橡皮膜二片，各片中央以刀片劃一長度 1.5 cm 之裂縫，以電氣用膠布將二片裂縫貼成十字型。打氣器可從此十字開口處插入。杯口套上一層細孔薄布或絲襪布以防成蠓羽化後飛走。當成蠓羽化時將成蠓以吸蚊管自十字開口處插入吸出後再吹入乾養蠓紙杯內，紙杯內先置 0.3 cm 寬 9 cm 長之牛皮紙條十數條，紙條縱方向對折一次加強硬度並產生 V 字型溝槽，以供成蠓停息之用。此時杯口上置一塊含 5% 糖水之棉花塊，並把紙杯置入濕潤木箱（寬 28.5 cm，長 37 cm，高 23.5 cm），箱內有容納 12 個紙杯之隔間，並有一紗網蓋套在隔間之上。濕潤布巾置於紗網上，以確保箱內高濕狀態，雄蠓在紙杯內活潑進行交配。羽化後 3 天，讓雌蠓吸血，先把鷄隻固定於吸血枱上，枱中間有一直徑 10 cm 圓孔，把貼在孔上的鷄腹部之羽毛去掉，使紙杯口能緊密貼上，紙杯自枱下插入。約 10~15 min 可飽食，但繼代開始吸血活動很差，故有時必須延長時間至半小時或一小時，吸血後 3 至 4 天把懷卵的雌蠓個別放入套有濕潤濾紙片的小管瓶內催其產卵。經過一夜雌蠓完成產卵後，將雌蠓吸出，移入紙杯，並將產卵的濾紙移入培養基，如此完成一生活環，也就是一代，吸出之雌蠓已虛弱故不再飼養。實際上此時已有下一代，前一代就此結束。上述飼養過程都在室溫下進行，除非在冬天及夏天室溫過低或過高時才移入 26 ± 2 C 的養蟲室飼養。每一代保持至少有 2,000 隻幼蟲，每培養皿平均容納 100 隻幼蟲，故必須備有 40 個培養皿才能達到此一目標。本報告中實驗過程亦如此，惟觀察記錄用的僅採用約全數之 4 分之 1。

結 果

1987 年 9 月 20 日開始進行繼代飼養以來至 1988 年 8 月 18 日計 333 天，約 11 個月中完成 15 代繼代飼養，每代平均為 22.2 天，每隻雌蠓初次產卵數平均 122 個（範圍 96 至 145 個），孵化率平均 77%（範圍 44 至 92%），蛹化率平均 50%（範圍 33 至 90%），至蛹時存活率平均 38%（範圍 18 至 78%），羽化率平均 90%（範圍 44 至 98%），至成蟲時存活率為 33%（範圍 11 至 76%）（表一）。

各蟲期所需時間（表二）：卵期 2 天，但有時只需 1 天，有時需 3 天才孵化；幼蟲期最短時只需

表一 荒川庫蠓繼代飼養成果記錄

日期	代數	使用親蠓數	產卵數	孵化幼蟲數	孵化率	蛹化數	蛹化率	羽化數	♀比率	羽化率
9/20~10/14	第1代	10	1,123	588	52	279	47	264	51	95
10/18~11/12	2	10	1,164	820	70	520	63	491	55	94
11/16~11/30	3	7	707	612	87	552	90	536	50	97
12/ 1~12/24	4	10	1,402	1,201	86	797	66	—	—	—
12/24~ 1/20	5	10	1,226	1,034	84	534	51	—	—	—
1/14~ 2/16	6	10	1,152	1,063	92	381	36	—	—	—
2/ 8~ 3/10	7	10	1,223	964	79	662	69	—	—	—
3/ 4~ 3/27	8	10	1,453	1,284	88	510	40	499	43	98
3/26~ 4/17	9	10	1,313	1,032	79	403	39	395	46	98
4/16~ 5/ 7	10	10	1,402	1,253	89	623	50	596	46	96
5/ 6~ 5/27	11	10	1,287	1,127	88	510	45	442	47	86
5/27~ 6/15	12	10	1,354	1,024	76	341	33	335	49	98
6/15~ 7/ 5	13	12	1,390	824	59	280	34	—	—	—
7/ 5~ 7/29	14	10	1,010	445	44	183	41	114	46	62
7/29~ 8/18	15	8	767	544	70	325	60	142	48	44
333 天		147	17,973	13,815	77	6,900	50	3,814	48	90

6至10天，最長時14至26天，平均 11.6 ± 2.6 天；蛹期一般需2天，有時需3天。成蟲在紙杯內能生存約二星期。雌蠓成蟲在繼代飼養剛開始時吸血情況不佳（第一代9%，第二代12%），第三代時在日間時段（上午十時至下午四時半）449隻當中只有81隻吸血（18%），至第四代時稍提高，233隻中84隻吸血（36%），在第五代大幅提高，55隻中39隻吸血（71%），至第十代時尚維持同樣水平，210隻中144隻吸血（69%）。吸血3至4天放入管瓶內產卵情形尚稱順利，除少數粘死在瓶壁上，大致都會產卵。

討 論

繼代飼養過程所遇到的種種問題：

卵期：產卵時必須個別分開放入管瓶才能使其順利產卵，如多數放入同一較大容器時往往拒絕產卵，將來可採用麻醉切翅的方法使其集體產卵。卵期一般需要2天，很少1天或3天，但Sun (1974) 報稱4~5天。孵化率第一代只有52%孵化。孵化率低的原因可能是在於不自然的情況下過度緊張致使排卵過快，尚未受精就排出，或室溫過高所致。第二代至第十一代孵化率逐漸提高，顯示該族羣逐漸馴化所致。至第十三代孵化率又開始下降，原因可能時值夏季室溫異常提高所致。

幼蟲期：幼蟲的死亡可由蛹化率之降低而察之，平均有50%之損失，依 Kettle *et al.* (1975) 報告有些庫蠓幼蟲有捕食性，而在本報告飼養過程中亦常見荒川庫蠓幼蟲捕食線蟲，故餵食線蟲數不足時可能有互相殘殺之現象。本方法所養幼蟲發育迅速，最短6天就會蛹化，可見線蟲的營養值的確很高，學者 (Morii and Kitaoka, 1968; Sun, 1974) 報告所使用的飼料為酵母粉或酵母粉加血液，而幼蟲發育均非常緩慢，前者需18~26天，後者不詳，全程生活環報告為24至28天。第六

表二 荒川庫蠔平均產卵數、各蟲期所需天數、累積生存率及吸血率

日期	代數	溫度 (C)	濕度 (%)	每隻雌蠔 平均 產卵數	各蟲期所需天數			至各蟲期累積 生存率 (%)			吸血率	
					卵	幼 蟲	蛹	幼蟲	蛹	成蟲	隻數	%
9/20~10/14	第 1 代	*	*	112	2	(11.6±2.1) 8~16	2	52	25	24	57/610	9
10/18~11/12	2	*	*	116	2	(13.3±2.1) 8~18	2	70	45	42	77/619	12
11/ 6~11/30	3	*	*	101	2	(11±1.5) 8~18	2	87	78	76	81/449	18
12/ 1~12/24	4	*	*	140	2~3	(12.2±1.6) 8~18	*	86	57	*	84/233	36
12/24~ 1/20	5	*	*	123	2~3	(10.6±2.4) 7~21	*	84	44	*	39/55	71
1/14~ 2/16	6	21~18	78~72	115	2~3	(15±3.5) 10~26	*	92	33	*	*	*
2/ 8~ 3/10	7	24~15	82~66	122	2	(12.7±1.6) 10~20	*	79	54	*	*	*
3/ 4~ 3/27	8	28~15	82~64	145	2	(12.2±2.8) 10~21	2	88	35	34	*	*
3/26~ 4/17	9	25~19	81~59	131	2	(11.3±2.0) 8~17	2	79	31	30	*	*
4/16~ 5/ 7	10	32~18	80~55	140	2	(11.9±2.2) 8~18	3	89	44	43	144/210	69
5/ 6~ 5/27	11	33~27	81~68	129	2	(9.7±2.3) 7~18	2	88	40	34	*	*
5/27~ 6/15	12	36~29	75~62	135	2	(8.8±1.6) 6~14	2	76	25	25	*	*
6/15~ 7/ 5	13	36~29	75~67	139	2	(10.4±2.5) 6~16	*	59	20	*	*	*
7/ 5~ 7/29	14	37~32	74~65	101	1~2	(10.1±2.4) 7~20	2	44	18	11	*	*
7/29~ 8/18	15	36~32	74~66	96	2	(10.3±2.2) 7~18	2	70	42	19	*	*
333 天	每代	37~15	82~55	122	1~3	(11.6±2.6) 6~26	2~3	77	38	33	482/1966	25

備註：括弧內為平均值與標準差，* 表示缺記錄

代時值氣溫低發育緩慢有的拖延至 26 天。第十二代時值氣溫高發育迅速 6 天就蛹化（參照表三）。

蛹期：本方法唯一不便的地方就是蛹化時必須把蛹一一自培養基內鉤出，放入水中，故不熟練者費時且容易傷害蛹體。為補救此缺點可淹水迫使蛹自動逸出培養基，此時可能亦有些幼蟲逸出。蛹期很短一般需 2 天，很少 1 天或 3 天。蛹均紙杯中經打氣時，羽化率很高，過半超過 95%。

成蟲期：紙杯內如不提供任何東西，供停息用，一般來說成蟲都企圖逃逸而集中在布蓋處，極易消耗體力，造成死亡。日本學者使用乾稻草於玻璃瓶內供成蟲停息之用。本報告不使用乾稻草原因之一仍是怕稻草有農藥之殘留，二是稻草可能藏有微小蟎類，使用吸管吸取成蟲時可能造成工作者呼吸道之過敏。本研究中紙杯內使用寬 0.3 cm，長 9 cm 之紙條，供停息之用，效果甚佳。庫蠔體型微小，故不耐乾燥，經常必須保持在濕潤箱內。每代雌蠔比率 43 至 55%，平均為 48%。在紙杯內雌蠔交配活動活躍，故雌蠔產下的卵孵化情形良好。

表三 1978 年臺北氣溫與相對濕度

月份	溫度 (C)			平均濕度相對 %
	平均	最高	最低	
1	14.9	26	6.8	76
2	15.5	28.1	4.8	76
3	17.6	27.4	10.2	87
4	21.5	32.2	13.4	81
5	23.9	32.0	18.1	81
6	27.9	36.4	22.2	77
7	29.5	36.2	24.0	72
8	29.4	36.6	22.4	70
9	27.6	35.4	23.0	74
10	23.0	32.5	14.0	80
11	19.9	30.2	11.8	79
12	17.5	28.2	10.2	76
全年	22.4	36.6	4.8	77

技術轉移：本方法學習容易，即使未曾受過良好訓練的人員亦可操作。本研究進行中，臺北、淡水、臺中、屏東等地相關研究單位曾派員到本實驗室觀摩學習，並經常與本實驗室連繫，目前都已能自行建立繼代飼養品系，供其本身研究之需。

誌 謝

本研究進行中庫蠓之繼代飼養，經常由研究助理林文發先生負責執行，偶而由呂良振先生與陳琇琿小姐代為照顧，又本項研究承蒙行政院農業委員會專題研究計畫 (77 農建 7.1-牧-66) 經費補助，得以完成，特此一併誌謝。

參 考 文 獻

- 連日清 1987 臺灣之鷄棘蚊 (荒川庫蠓) 臺灣省畜牧獸醫學會暨中日住血原蟲性白冠病研討會 (76 年 12 月 5 日至 6 日於臺中國立中興大學弘道樓) 論文摘要: 7。
- Akiba, S. 1960. Studies on the *Leucocytozoon* found in the chicken in Japan. II. On the transmission of *L. caulleryi* by *Culicoides arakawae*. Jap. Vet. Sci. 22: 309-317.
- Kettle, D. S., C. H. Wild and M. M. Elson. 1975. A new technique for rearing individual *Culicoides* larvae (Diptera: Ceratopogonidae). J. Med. Ent. 12(2): 263-264.
- Kitaoka, S. 1982a. Larval rearing of 8 species of *Culicoides* given cultured nematodes, *Rhabditis elongata*. Bull. Natl. Inst. Anim. Health No. 83: 9-14. (in Japa-

- nese).
- Kitaoka, S. 1982b. Effects of rearing temperature on length of larval period and size of adults in *Culicoides arakawae* and *Culicoides maculatus* (Diptera: Ceratopogonidae). Natl. Inst. Anim. Health Q. (Jpn.) 22:259-162.
- Morii, T. and S. Kitaoka. 1968. The laboratory colonization of *Culicoides arakawae* (Diptera: Ceratopogonidae). Natl. Inst. Anim. Health Q. (Jpn.) 8: 26-30.
- Sun, W. K. C. 1974. Laboratory colonization of biting midges (Diptera: Ceratopogonidae). J. Med. Ent. 11(1): 71-73.

LABORATORY COLONIZATION OF *CULICOIDES ARAKAWAE*

Jih-Ching Lien and Hsuan-Kuei Peng

*National Institute of Preventive Medicine, Taipei and
Council of Agriculture, Executive Yuan, Taipei*

Leucocytozoonosis of chicken causes a serious loss to farmers in Taiwan and elsewhere in Asia. To carry out studies on the disease and methods of control, it is indispensable to have a healthy laboratory colony of the disease vector. Although methods for colonization of *Culicoides arakawae* are available, the methods are either less ideal or difficult to follow. Therefore a new method was developed. It is easily followed even by less trained persons. As larval food a soil nematode, *Rhabditis* sp. is cultured and maintained on a medium containing 5% dried yeast powder, 2% agar and water. The culture is renewed once every two weeks. A 0.6% agar medium is used to accommodate the larvae of *Culicoides arakawae*. A small pinch of the nematode is added daily to the medium. The colonies of both *Rhabditis* sp. and *C. arakawae* are kept in natural room temperature of 15-37C. Duration of each stage is as follows: egg 2 days, larva 6-26 days with 50% mortality, pupa 2 days with 10% mortality. The pupae are kept in slowly aerated water for emergence, and the adults are kept in paper cups containing narrow strips of hard paper for clinging. Copulation takes place in the cups. The female midges are allowed to feed on chicken 3-4 days after emergence. Three to four days later, the gravid females are confined individually in small vials with a piece of wet paper inside for oviposition. Each generation takes about 22 days. Fifteen generations have been successfully maintained in 11 months. This technique has been successfully transferred to several relevant workers in Taiwan.