DOI:10.16016/j.1000-5404.1985.01.001

大劣按蚊实验室自然交配种群的建立

刘连珠 陈福珍 宋宗臣 冯崇英 黄复生

（寄生虫学教研室）

提 要

本文报导在实验条件下，以大小两种不同的蚊笼，驯化饲养大劣按蚊自然交配繁殖获得成功。大笼50×50×100cm目前已传至42代，自然交配受精率稳定在80%以上，最高者可达90.63%；小笼31×20×22cm从大笼15代转来而建立的自然交配种群，已连续传28代，其自然交配受精率14代已达68.96%，最高者可达80.36%。14代以后在夏季其受精率虽有所下降，但仍保持在较高的水平上。大笼饲养的蚊虫，23代以后再转入小笼，均可有较高的交配受精率。故无论从大笼15代转小笼而建立的连续传代种群，或再从大笼转入小笼而使其自然繁殖，均已圆满地完成了大劣按蚊在小型蚊笼的驯养任务。本文对大劣按蚊饲养成功的经验、转入小笼的时机和有利条件等进行了讨论。

大劣按蚊（Anopheles dirus Peyton et Harrison，1979）是我国及东南亚地区的重要传疟媒介，也是疟疾实验研究中常用的蚊媒[1-4]，因此，在实验室建立大劣按蚊自然交配繁殖的种群，对于疟疾防治药物的筛选、疟疾虫苗的研制、蚊虫生物防制、遗传基因的开展和疟疾流行病学的研究[3][5]，无疑将会有很大的推动作用。

1966年Esah & Scanlon在泰国以人工交配的方法，在实验室饲养巴拉巴按蚊（即大劣按蚊）获得成功[6]。但未能建立大劣按蚊自然交配种群。1981年潘家复等采用320cm的高蚊笼加上蓝光诱导的方法，能使大劣按蚊在高蚊笼内自然交配，但蚊笼毕竟过高，离实际使用尚有一段距离。作者等最近（1984）报导了我们在一米高的蚊笼（50×50×100cm）内饲养大劣按蚊，传至14代，其自然交配受精率已达68%，自第8代以后，各代均能收集较多的蚊卵，不仅可成功地连续传代，繁殖的蚊虫已可供本室实验研究之用。在这一基础上，转入小型蚊笼（31×20×22cm）内自然交配繁殖和传代已获成功，现报导如下。

材料和方法

实验室条件：蚊虫各期饲养于温度25°—28℃的恒温养虫室内，相对湿度保持在80%左右。室内留有35×35×35cm方形小高窗，白天可从窗外透进微弱自然光。此外每天上午8点至下午18点打开室内30W日光吊灯光照10小时。

蚊种来源：大劣按蚊（Anopheles dirus）过去称巴拉巴按蚊（A. balabacensis），1977年引自四川医学院，在该院生物学教研室人工交配传至14代，至1982年本室人工交配传至53代开始自然交配驯养工作。

饲料：成虫喂含4%的广柑汁和10%的蔗糖水，另含0.05%的对氨基苯甲酸（PABA）。雌蚊饲血以兔子或小白鼠为食料。幼虫饲料为脱脂猪肝粉1份，加酵母粉3份的混合粉剂。

蚊笼：分大、小两种，大蚊笼50×50×100cm，其结构已在前文报导[7]。

小蚊笼为31×20×22cm的木制纱蚊笼，底部木板，一端为袖口，和一般实验室使用

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

者同。

饲养方法：蚊虫饲养期间，每日早晨打开养蚊室 30W日光吊灯和大蚊笼上的20W日光灯，下午18时关闭两个日光灯，打开大蚊笼上悬挂的蓝色灯，直至次晨关闭。小蚊笼置大蚊笼对侧约一米距离的木架上，和大蚊笼顶部的蓝光灯在同一水平面上，故夜晚打开蓝灯时，小蚊笼亦可受到微弱的蓝光照射。

每代收集的蚊蛹放置蚊笼内，羽化后每天喂以混合糖水，5—7天后开始以兔子或小白鼠供蚊吸血，以完成其生殖营养周期。

卵的收集：在蚊虫饲血后3—4天收集蚊卵，供蚊产卵器为平皿，平皿底部放置脱脂棉，上盖滤纸一片，供蚊产卵。大蚊笼放直径15cm平皿，小蚊笼放 9—10cm 直径的平皿各一个，所产的卵每晨8时连同滤纸片由蚊笼取出，放置恒温养虫室或在室温条件下孵育48小时后保存备用。

幼虫：幼虫饲养于 30×18×5 cm 的长方形搪瓷盘内，每盘盛约 2000ml 贮存 24 小时以上的去氯自来水。各龄幼虫依情况每天撒饲料粉若干次。

蛹：幼虫化蛹后，每天用吸管吸取一次，如蛹的数量过多，用尼龙网捞取，放冷水中（冬季自来水即可），幼虫沉于底部，吸取幼虫而获得蚊蛹，计数并转置于蚊笼内羽化。每代蚊蛹分批抽样检查其性别，以确定该代成蚊的雌雄性比例。

大劣按蚊自然交配受精率的效果判断：每代成虫羽化后一般在8—10天抽样解剖雌蚊受精囊，检查有无精子，以判断其交配率。小蚊笼的蚊虫数量较少，多平行饲养两笼，取其中之一解剖检查受精率，以保证另一笼的正常交配、产卵和传代。

结　果

一、大劣按蚊在大蚊笼内的繁殖和传代

1982年5月，人工交配53代的成蚊，饲养于31×20×22cm 的蚊笼内，该批蚊已感染约氏鼠疟(Plasmodium yoelii yoelii By 265)，每天喂以含PABA的混合糖水。该笼蚊曾以小白鼠及兔子相间喂血，并于羽化后第15天产出第一批蚊卵 402 只，卵的孵化率为92.28%，以后逐日连续观察 22天，每天均有卵产出，日产卵量最少者 6 只，最多者556只，该小笼共产卵 4003 只，平均日产卵量为181.95只。该批卵孵出而羽化的成蚊，即为本研究的第一代。第二代改即为大笼50×50×100cm饲养。第 2 代收蛹1,185只，产卵5,013只，其产卵指数为 8.46只。第 3 代、第 4 代羽化后成蚊死亡过多，不能继续繁殖传代，均以人工交配繁殖。第 5 代以后，饲养繁殖较好，雌蚊交配受精率逐步提高，及至14代，其自然交配受精率已达68%。15代以后，时值夏季，养虫室温度不易控制及其它因素，受精率明显下降（一般均在20%以下），但其卵的孵出率在60.39%和77.53%之间。及至第21代，受精率开始回升，至24代已达67.31%，目前已传至 42代，其自然交配受精率已稳定在80%以上。其中最高者如28代的另一笼（表 1 未列），在羽化后第22天解剖64只雌蚊，58只阳性，交配受精率已达90.63%。

二、大劣按蚊在小蚊笼内的繁殖和传代

大劣按蚊，虽然可在 50×50×100cm的大蚊笼内连续繁殖和传代，但蚊笼毕竟偏大，在实验室仍感不便，为了驯化更切合实际应用的大劣按蚊种群，我们自大笼第 6 代起，即抽取704只蛹(♀311，♂393 = 1:1.26)转入小笼，让其自然交配繁殖，第 8 天解剖检查受精囊，100 只中虽有一只阳性，该批蚊也能产卵、化蛹，并羽化为下代成蚊，但未能继续传代。第 8 代作了类似的尝试，得出相似的结果。第10代的蛹分两小笼，每笼各1,500只，雌雄比例均为1:1.02，第一笼产卵10批，共收集卵 646只，产卵数较差。第二笼羽化后于 3 、 8 、17天分别解剖雌蚊

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

表1 大劣按蚊大笼（50×50×100cm）饲养历代自然交配受精率*

代数	入笼时间	蚊虫数	雌雄比例	受精囊检查结果		
				蚊虫日龄	阳性数/解剖数	受精率%
15	6—7/5,83	6500	1:0.93	8	14/115	12.17
16	31/5—3/6	8500	1:0.94	8	1/100	1.00
17	21—25/6	7500	1:1.04	8	11/102	10.78
18	14—16/7	8200	1:1.66	9	18/104	17.30
19	5—7/8	9500	1:1.30	8	17/101	16.83
20	27—30/8	8500	1:1.38	8	18/102	17.64
21	20—23/9	8000	1:1.18	6,14	34/139	24.46
22	12—14/10	8000	1:1.32	7,10,14	57/215	26.51
23	5—8/11	8900	1:1.07	7	19/75	25.33
24	1—4/12	8600	1:1.35	8	70/104	67.31
25	25—26/12	8000	1:1.34	10	45/60	75.00
27	14—15/2,84	8830	1:1.62	8	64/75	85.33
28	7—9/3	8800	1:1.72	10	58/66	87.88
31	15—17/5	8500	1:1.58	7	99/121	81.82
33	4/7	8500	…	6	127/151	84.11

* 14代以前已见前文报告，目前已传至42代。

表2 大劣按蚊小笼（31×20×22cm）饲养历代自然交配受精率**

代数	入笼时间	蚊虫数	雌雄比例	受精囊检查结果		
				蚊虫日龄	阳性数/解剖数	受精率%
15—1	20/5,83	1500	1:1.06	3,8,17	5/192	2.60*
15—4	2—5/8	1001	1:1.12	7	3/58	5.17
15—6	5—7/9	410	1:0.72	28	1/23	4.34
15—7	7—11/10	664	1:1.27	9	6/62	9.67
15—8	25—26/10	1430	1:1.17	10	5/65	7.69
15—9	14/11	1080	1:1.52	8	16/104	15.38
15—10	6—7/12	1402	1:1.42	8	26/125	20.80
15—11	28/12	940	1:1.33	7	18/52	34.62
15—13	14/2,84	823	1:1.27	9	47/94	50.00
15—14	7/3	850	1:2.38	10	40/58	68.96
15—16	21—22/4	1100	1:2.23	9	18/49	36.73
15—17	15—16/5	1000	1:1.66	8	36/79	45.57
15—26	11/12	1000	…	14	60/75	80.00

*大笼10代转小笼之结果代替　　** 目前已传至28代

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

受精囊40、85及67个，其结果为1、0及4只阳性，总受精率为2.60%，仍不能在小笼中传代繁殖。第13代曾改为中号蚊笼40×40×40cm，每笼放置500只蛹，雌雄比例为1:1.40，该笼蚊产卵较好，卵的孵化率在71.65%和86.08%之间，平均为78.75%，第8天解剖检查其受精率为6%，但仍未能在中型笼传代。

小型蚊笼自然交配种群的建立：1983年5月20日大笼15代的蛹1,500只（♀♂比例为1:1.06）再次入小笼，顺利产卵、孵化，并羽化为成蚊，从此建立了小笼第一代，称15—1。15—2于5月底6月初集蛹760只入笼，其幼虫孵出率为95.23%。虽经7、8月份盛夏季节，小笼传代均以自然交配方式繁殖，其产卵量日渐增加，幼虫孵出率均在70%以上，受精率稳步提高，传至15—10代，其自然交配受精率超过20%。15—13代达50%，而15—14代大劣按蚊在小型蚊笼的自然交配受精率已达68.96%。以后虽略有下降，但仍保持较高水平的交配受精率（表2）。值得提出的是饲养后期大笼再转小笼均比较容易，而且受精率较高。如大笼23代转入小笼者共有9笼，均于羽化后第8天检查受精囊，每笼解剖100只以上，其受精率最低者为30.36%，最高为62.02%。9笼的总受精率平均为44.02%，而23—2代的受精率为47.06%。大笼27代的受精率为85.33%，同代小笼的自然交配受精率为61.84%。28代大笼的受精率为87.88%，同代小笼亦达80.36%，两者已比较接近。由此看来，无论自15代建立的连续传代自然交配种群，亦或再从大笼转入小笼而使其自然交配繁殖，均已圆满地完成了大劣按蚊在小型蚊笼的驯化任务。

讨　论

前文已经提出，我们在一米高的蚊笼内，驯化大劣按蚊，迅速取得了满意的结果，成功的经验是：模拟良好的生态环境，使饲养的蚊虫有一个阴蔽、潮湿、微光的场所，便于蚊虫停栖，这对于延长蚊虫寿命，促进其生理机能状态，都将起很好的作用；蚊笼应有一定的高度，特别是开始驯养阶段看来是必需的。大劣按蚊驯化成功的第三点表明，似与成蚊饲料中加喂PABA有关。已知PABA是合成叶酸的前体物质，是微生物和疟原虫生长所必须的维生素类，至于蚊类食用，是否能促进其生长、交配，尚有待进一步研究。

大劣按蚊的驯化成功，还在于我们在饲养过程中采取了相应的应急措施。如大笼自然交配3代，成虫羽化后大批死亡，以致传代中断，幸好我们以同代另一批成蚊，进行人工强迫交配，始得继续传代，第4代也是采取同样的措施，至第5代情况开始好转，后来能一直继续传代。回顾国内外学者饲养大劣按蚊时，有的也传至2—3代，多遇到了类似的情况而中断[6]，致使自然交配养殖未能最后成功。

大笼饲养传至13、14代，受精率突然上升为43%及68%，但未能稳定下来，上升的原因前者可能由于雄蚊比例偏高（♀:♂=1:2.26）而使雌蚊受精率相对增加，后者可能由于蚊蛹入笼后第13天增添了3,000只蛹，检查受精囊时第一批蛹已羽化22天而第二批亦已羽化9天，根据作者的观察，大劣按蚊随着蚊龄的增长，其交配受精率亦相应的增加。至于15代特别是16代受精率偏低，是否如潘家复等提出的5、6月以后实验室开动空调机降温，由于空调机发出的噪音，影响了大劣按蚊的自然交配[8]（这时我们实验室也开动了空调机）。当然15、16代雄蚊比例偏低，也许是交配受精率下降原因之一。

大劣按蚊在大蚊笼饲养自然交配的成功，为转入小笼提供了基础，但何时转笼？在什么条件下转笼才易获得成功？这就存在

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

着转笼的时机问题。我们曾在大笼6、8、10、13代四次试图做转入小笼的工作，均未能成功，时间为9月底至次年4月之间，在这段时间大笼繁殖是顺利的，理应易获成功。未能成功的原因可能还是由于蚊虫驯化成熟的程度不够有关。本试验小型蚊笼转代成功在5月，而5—8月大笼的受精率是偏低的，所幸小笼蚊虫顺利地渡过了夏季而连续传代，受精率稳步提高。当然如果在大笼饲养23代以后再转入小笼，那会很顺利的，大笼23代的蚊蛹转9个小笼，其受精率在30.36%—62.02%之间，各笼相加总受精率为44.02%，其第二代小笼雌蚊的受精率为47.06%，大笼28代转入小笼蚊虫的自然交配受精率已达80.36%。当然这时再继续在小笼传代是会很快取得成功的。除了掌握驯化程度、较高的交配受精率和有利时机外，雌雄比例亦应注意，我们曾以雌雄蚊比例1:1；1:1.5；1:2三组作实验对比，以1:5者受精率较高而稳定[9]，故在转小笼时如能注意配好两性比例，也会收到较好的效果的。

参考文献

1. 王菊生等：巴拉巴按蚊实验室发育繁殖规律。贵阳医学院学报 1980；5(2):29—34

2. 何登贤等：微小按蚊和大劣按蚊对间日疟原虫和恶性疟原虫易感性的实验研究。寄生虫学与寄生虫病杂志 1983；1(2):83—88

3. Hil JLK:Involvement of the X-Chromosome in Hybrid male Sterility form crosses between species A and B of the Taxon Anopheles dirus. Mosq News 1984；44(2):192—196

4. Klein TA,et al:Detrimental effects of Plasmodium cynomolgi infection on the longevity of Anopheles dirus. Mosq News 1982；42(2):265—271

5. Rosenbery R: Forest malaria in Bangladesh Ⅲ.Breeding habits of A. dirus. Am J Trop Med Hyg 1982；31(2):192—201

6. Esah S & Scanlon JE: Note on a Laboratory colony of Anopheles balabacensis balabacensis Baisas, 1936. Mosquito News 1966；26(4):509—511

7. 陈福珍等：大劣按蚊的实验室饲养研究。第三军医大学学报 1984；6(1):9—14

8. 潘家复等：巴拉巴按蚊实验室饲养。昆虫学集刊 1981；(2):279—282

9. 刘连珠等：大劣按蚊在实验条件下交配习性的观察。待发表

Method of Natural Mating of Anopheles dirus in Laboratory

Liu Lianzhu et al

(Department of Parasitology, Third Military Medical College)

Anopheles dirus Peyton et Harrison 1979 is an important vector of malaria in Southeast Asia and China especially in the hilly forest regions. It is an urgent problem to establish a natural mating colony of this species in a laboratory condition for malaria research. This article is to report the experience of raising A. dirus in our laboratory.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

The larvae were fed with a mixture of dry powdered pig liver and yeast in a ratio of 1:3. The adult mosquitoes were fed with 10% glucose solution containing 4% orange juice and 0.05% para-amino benzoic acid. Two types of cages were used as the insectary for adult mosquitoes; the large cage was 50×50×100 cm in size while the small cage 31×20×22 cm. The insectary was maintained under a temperature of 25—28° C and a relative humidity of 80%.It was illuminated with a 30 w fluorescent light in the day time and a 15 w blue light in the night to induce mating. In the large cage, rockery and vegetations were furnished for the resting of mosquitoes.

In the large cage, the mosquito colony has been propagated to the 42nd generation and the natural mating rate was stablized around 80% with a highest rate of 90.63%. In the small cage, a colony was set up by transferring the 15th generation mosquitoes from the large cage and has been propagated to the 28th generation. The natural mating rate in the small cage reached 68.96% with a highest rate of 80.36% at the 14th generation. Though it dropped slightly after the 14th generation during the summer season, it was still maintained at a satisfactory level.

In addition, the optimal time and conditions to induce natural mating and to transfer mosquitoes from the large to the small cage were discussed.

?1994-2016 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net