DOI:10.16016/j.1000-5404.1984.01.003

大劣按蚊的实验室饲养研究*

陈福珍. 刘连珠 宋宗臣 冯崇英 黄复生

（寄生虫学教研室）

提 要

大劣按蚊是我国及东南亚地区的重要传疟媒介，建立大劣按蚊的实验室品系，实为疟疾实验研究中急需解决的问题之一。我们在实验条件下，养虫室室内温度为25—28℃，相对湿度80%左右。将原来以人工交配传代饲养的大劣按蚊，养殖于一米高的蚊笼（50×50×100厘米），在蚊笼内模拟良好的生态环境，成虫喂以Ⅰ号饲料和长时间的兰光照射，使大劣按蚊能在实验室连续传代，第14代的自然交配率到达68%，繁殖的后代，已可供疟疾实验研究之用。

大劣按蚊（Anopheles dirus Peyton et Harrison, 1979）在许多地区是疟疾的重要传播媒介，其自然感染率在0.45%至8.7%之间，是人体恶性疟、间日疟以及多种猴疟的敏感蚊种，因此建立大劣按蚊在实验室自然交配繁殖品系、研究它的生态习性，已成为国内外疟疾研究工作者所瞩目的问题。

早在1966年，Esah和Scanlon首先以人工交配的方法，在实验室饲养大劣按蚊获得成功。Esah等也曾试图建立自然交配的品系，但未能成功，仅有一次，在一立方米的蚊笼放置700只雌蚊及相等的雄蚊，以豚鼠饲血，传到了三代，但数目渐少，未能获得第四代。1976年卫生部成都生物制品研究所及四川医学院将我国海南岛的大劣按蚊引进实验室饲养，但必须以人工交配方法，才能传代繁殖。近来潘家复等报告在实验室采用320厘米的高笼和兰光诱导交配的方法饲养大劣按蚊，他们经过较长的时间，能使大劣按蚊在320厘米的高笼内繁殖，其自然交配率在22代为24%，44代达56%。但蚊笼毕竟过高，给实验室饲养繁殖带来不便。1977年我室自四川医学院生物教研组引进了大劣按蚊品系，最初仍以人工交配方法繁殖，至1982年5月已传至53代。从53代以后，我们除继续保存人工交配传代的蚊种外，另建立了大劣按蚊自然交配的品系。在饲养过程中模拟自然界生态环境、改变成蚊饲料成份、注意蚊笼大小并加以长时间的兰光照射，促使大劣按蚊在实验室逐步提高其自然交配率，仅用一年的时间传至14代，其自然交配率已达68%。目前自然交配繁殖的大劣按蚊，不仅能连续传代，已可供疟疾实验研究之用，现将第一阶段的饲养工作报告如下：

实验室条件及饲养方法

大劣按蚊：系1976年四川医学院等采自海南岛白沙而建立的实验室品系，1977年本室引进，人工交配传至53代，作为此次研究之材料。实验室保持25—28℃的恒温，相对湿度80%左右。

* 本文由刘连珠总结

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

饲料：成蚊正常喂含4%广柑汁的10%的蔗糖水（称混合糖水Ⅰ号饲料）；实验用混合糖水内并附加其他饲料成份（称Ⅱ号饲料）。幼虫喂酵母粉加脱脂猪肝粉（比例为3:1）配制而成的饲料粉。

饲养方法：成蚊在人工交配阶段饲养于31×20×22厘米的木制纱蚊笼内，连续人工交配传代至52代（这阶段的成虫饲料为混合糖水Ⅰ号饲料），饲养过程中先后3次企图使其自然交配，偶有产卵，但未获满意的结果。

1982年5月29日人工交配传53代的成蚊，喂以Ⅱ号饲料(31×20×22厘米蚊笼)，以小白鼠及兔子相间饲血，该批蚊羽化后第15天产卵约400只，卵的孵化率达90%以上，以后逐日观察至22天，每天均有卵产出，日产卵最少者6只，最多者556只，该笼蚊共产卵4003只，平均日产卵181.9只，该批卵羽化的成虫即列为本研究的第一代成蚊。

自第二代起改为较大蚊笼(50×50×100厘米）饲养。蚊笼结构见图一。饲养成蚊时

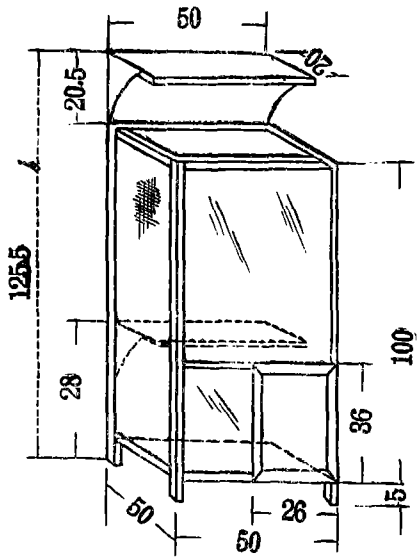


图1　大劣按蚊饲养蚊笼(50×50×100厘米)

木隔板之上放置一特制之小假山，蚊笼底部置一花瓶，瓶中插一束新鲜清洁的茭竹桃枝、其高度和假山约相当。蚊虫饲养期间每晨8时开养蚊室内30w日光吊灯及蚊笼上的20w日光灯，每天下午约在18时关闭两个日光灯并打开蚊笼上悬挂的15w兰光灯，直至次晨8时关闭。每代羽化后的成蚊3—5天后开始以兔或小白鼠供蚊吸血以完成其生殖营养周期。吸血后3—4天蚊笼内置一直径15厘米的平皿，平皿底部放湿脱脂棉，上盖滤纸一张，供蚊产卵。每代完成后清理蚊笼并更换花瓶内的茭竹桃枝叶。

卵：蚊卵每日连同滤纸片由蚊笼内取出后放置恒温室或室内孵育48小时保存备用。

幼虫：幼虫饲养于30×18×5厘米长方形的搪瓷盘内，每盘盛约2000cc贮存24小时以上的自来水。幼虫孵出后第一天先在瓷盘的底部加脱脂猪肝粉糊状饲料一次，二龄幼虫每天在水层表面撒饲料粉2次，三龄以上幼虫每天加饲料粉4—5次。

蛹：幼虫化蛹后，用吸管每天吸取一次，并转置于蚊笼内羽化。每代蚊蛹抽样检查其性别，以确定该代成蚊的性比例。

大劣按蚊自然交配率的效果判断：基本上每代抽样检查所得蚊卵的孵化情况，以确定幼虫孵出率；成虫羽化后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。

结　果

1．大劣按蚊历代自然交配及繁殖情况：自1982年5月在31×20×22厘米的小蚊笼内获得自然交配的蚊卵后，将23/6—5/7收集的1185只蛹（♀♂各半）放置50×50×100厘米的大笼内饲养，共产卵5013只，其产卵指数为8.46只，卵的孵化率在60.95%与79.79%之间，是为第二代成虫，传至第三代，羽化的成蚊死亡较多，且时值盛夏，我们以人工交配的方法传第三代及第四代。第四代人工交配获得的蚊蛹，仍入大笼，让

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

其自然交配繁殖，第五代成蚊所产之卵，孵出率较好，共检查5批，其孵出率在77.46%及95%之间，平均为85.70%。第六代放入蚊蛹5254只，雌雄比例为1:1.09，13天内就收集卵19200只，产卵指数至少为8（因产卵仍在进行），卵的孵化率高达93.66%（85—97%之间）。第七代6979只蛹，雌雄比例为1:1.34，该代幼虫孵化率虽略低（65.68%），但经解剖100只雌蚊，其受精率已达8%。以后各代每笼放置6000—7000只蛹，直至十四代各代雄蛹均略高于雌，各代产卵数逐渐加多，且密集成堆或团块，蚊卵已不便计数，除传代繁殖外，多余的卵，已可供本室疟疾实验研究之用。从几次雌蚊受精囊的解剖检查结果来看，其交配率迅速提高，在不到一年的时间，已传至十四代，其交配率已达68%，从而建立了能自然交配连续传代的大劣按蚊品系。表1、图2。

表1　大劣按蚊自然交配历代受精囊解剖结果

饲养代数	实验时间	蚊虫总数及♀♂性比例	蚊虫日龄	阳性数/解剖数	受精率%
I*	20/12　82	6644	1:1.27	8	2/116	1.72
Ⅶ	27/10	6979	1:1.33	7	8/100	8
X	4/元　83	6693	1:1.04	8	18/114	15.78
XⅢ	28/3	7000	1:1.26	10	43/100	43
XIV**	12/4	6900	1:1.40	9,22	68/100	68
XV	16/5	6500	1:093	8	14/115	12.17

* 人工交配60代补做实验数据

** 先后两批蚊蛹

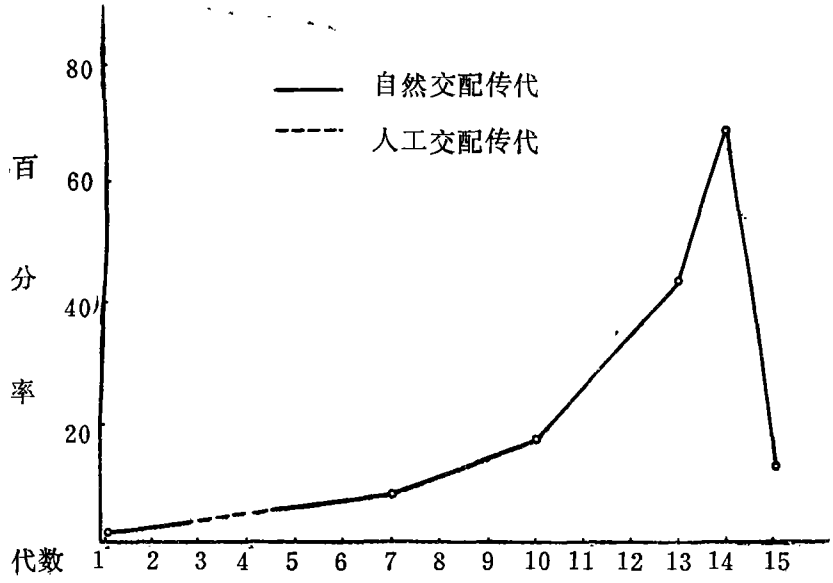


图 2　大劣按蚊自然交配曲线

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved.　http://www.cnki.net

2. Ⅱ号饲料对大劣按蚊交配的影响：

由于发现了第一代自然交配的成蚊产出大量的卵是喂过Ⅱ号饲料混合糖水的，为了探索大劣按蚊自然交配与饲料中附加成份的关系，我们用人工交配传代的蚊虫进行了初步的试验。成虫饲料中采用每天喂Ⅱ号饲料（甲组）；Ⅱ号饲料于成虫羽化后连喂3天间隔三天(乙组)以及食料为普通糖水的对照组（丙组）。结果为人工交配55代每天喂Ⅱ号饲料的甲组或每间隔三天喂Ⅱ号饲料的乙组，大劣按蚊的自然交配率分别为3.63%及3.70%，而混合糖水对照组的自然交配率为0。人工交配59代者甲、乙两组其自然交配率均为1%，而糖水对照组为0。上述材料按统计学方法经泊松（Poisson）分布处理。55代：甲组与丙组比较，$P=0.0245$，乙组与丙组比较，$P=0.0229$，均小于0.05，相差显著；甲组与乙组比较，$P=0.5522$，大于0.05，相差不显著。59代：各组之间相差不均显著。表2。

表2 Ⅱ号饲料对大劣按蚊自然交配的影响（31×20×22厘米蚊笼）

	蚊组	实验日期	♀♂蚊数	成蚊饲养条件	雌蚊受精囊检查结果		
					解剖时间	阳性数/解剖数	阳性率%
人工交配55代	甲	15/7 82	260:520	每天喂Ⅱ号饲料	7—9	4/110	3.63
	乙	15/7	260:520	每间隔三天喂Ⅱ号饲材	7—9	4/108	3.70
	丙	15/7	260:520	混合糖水对照	7—9	0/102	0
人工交配59代	甲	23/10 82	250:500	每天喂Ⅱ号饲料	8	1/100	1
	乙	23/10	250:500	每间隔三天喂Ⅱ号饲料	8	1/100	1
	丙	23/10	250:500	混合糖水对照	8	0	0

讨论与小结

在实验室培育自然交配传代的蚊类，除蚊种的决定基因外，往往受多方面因素的影响，如蚊笼的空间大小、蚊虫的密度、雌雄性比例及各种光照刺激等，由于各作者培育的蚊种不同，其实验条件亦不完全一致，目前很难说何者为主要因素。大劣按蚊，是众所周知的一种野栖蚊种，实验室饲养确较困难。Esah及成都生物制品研究所均认为开始饲养大劣按蚊，在实验室不叮刺动物，甚至不吸人血。我们引进该蚊种后，也是经过长期驯育才逐步适应吸食动物血的。培育诱导大劣按蚊在实验室蚊笼内自然交配繁殖，自Esah以后，国内外学者曾采取多种措施均未能成功。最近潘[illegible]导以三种不同高度的蚊笼加用每天[illegible]导自然交配的方法培育大劣按蚊。他们认为只有将大劣按蚊置于3.2米高的蚊笼中，其自然交配才有成功的可能。他们自18代起以高笼加兰光诱导的方法，其交配率由18代的4%，直至44代达56%，前后历时三年以上，获得了可喜的成功。我们培育大劣按蚊自然交配，起步较晚，在不到一年的时间里，其交配率由第一代的1.72%，至14代即达68%。自第8代以后，各代均获得大量的蚊卵，可成功地连续传代并满足疟疾实验研究之用。我们

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

的体会：

1．模拟良好的生态环境：大劣按蚊是山区丛林地带的野栖蚊种，白天很难在室内找到它。据Colless氏在沙巴（Sabah）的调查，在橡胶园边缘附近盖有椰子叶的灌木林中间，人工小时可捕得大劣按蚊5只；在住屋附近沼泽边缘稠密的次生林，人工小时可捕捉2—3只。这些栖息处的共同特点是蔽荫、潮湿，仅有微弱的光线透入。一般栖息于离地一尺的植物枝叶上，雌雄均有。我们在养蚊笼中，模拟一个荫蔽、潮湿、微光的生态环境。如设置假山，花瓶插荚竹桃，在蚊笼内36厘米高处置20厘米宽的木隔板。在饲养过程中观察，无论冬、夏，白天约有80—90%的按蚊均集中在假山的孔隙、荚竹桃枝叶及木隔板以下荫湿处栖息，在不受惊扰的情况下，它们很少飞动。看来模拟的环境，是大劣按蚊良好的栖止场所，对延长蚊虫寿命，促进其生理机能状态可能起到较好的作用。

2．蚊笼应有一定的高度：蚊虫在自然界群舞交配，在实验室培育蚊虫自然交配，蚊笼就必须有足够的空间。Ainsley饲养库态按蚊（A.culicifacies）、叶奕英等养殖微小按蚊（A.minimus）的成功均证明了这一点。Russell Rao（1942）最初饲养库态按蚊在户外设置大蚊笼，Esah等在驯养大劣按蚊时也曾注意到用不同高度的蚊笼。潘家复等在饲养开始阶段就以60×60×40厘米、60×60×200厘米及60×60×320厘米三种不同高度的蚊笼饲养大劣按蚊，每天日光灯照13小时，每天晚上9:30—10:30用兰光诱导自然交配养育17代，高度200厘米以下的蚊笼，其成蚊交配率仍低于1%，且其幼虫及蛹的死亡率高达40%左右。他们认为只有将大劣按蚊置于320厘米的高蚊笼中，其自然交配才有获得成功的可能性。我们体会，一定的蚊笼高度是应该注意的，我们第一代虽在31×20×22厘米的小蚊笼内，即发生自然交配，其幼虫孵化率达90%以上，未见幼虫及蛹的大批死亡。考虑到蚊虫交配要有一定的空间，我们改用50×50×100厘米的大笼，居然能在饲养14代时候，其自然交配率达到或超过潘家复的320厘米的高笼效果，因此我们认为除蚊笼高度外，其他还有更重要的因素，值得探讨。

3．饲料配方及光照刺激对大劣按蚊交配率的影响：改变饲养蚊虫的饲料成份及以不同颜色的光照刺激，往往被认为是能否诱导按蚊自然交配的重要措施之一。我室在已往的饲养过程中，也曾在成虫饲料中加过维生素及激素之类，但未奏效，一次偶然的机会，在成虫喂过Ⅱ号饲料的小蚊笼内，产出大量的卵，这些卵的孵化率在90%以上，其幼虫及蛹均发育良好。人工交配54代的蛹仍入小笼并喂Ⅱ号饲料，连续观察两笼，三周内每笼收集卵各为3455及4534只，其雌蚊产卵指数为9.87及12.95个，这就启示我们大劣按蚊产卵较好似与成蚊加喂Ⅱ号饲料有关。在人工交配55代及59代我们在成蚊饲料中加喂Ⅱ号饲料的甲、乙组，及普通糖水对照组，从解剖雌蚊受精囊的结果来看，加喂Ⅱ号饲料的两组比正常对照组其交配率有显著性差异。我们饲养大劣按蚊其自然交配率发展较快，除上面已谈及的模拟良好的生态环境和适当的蚊笼高度外，初步认为还与我们在成蚊饲料中加喂某些成份有一定的关系。至于光照刺激诱导自然交配，我们采用兰灯通宵照射，比其他作者的光照时间为长。我们曾观察到在白天突然关闭白色日光灯，改用兰光，数分钟后，即可见大劣按蚊的群[illegible]增加，长时间的兰光照射，是否能[illegible]其交配率，尚有待进一步观察。

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net

参 考 文 献

1. Service MW: A guide to medical entomology. Macmillian Hong Kong, 1980

2. 中国科学院寄生虫病研究所：实用疟疾学 人民卫生出版社，1978

3. Esah S & Scanlon JE: Note on a laboratory colong of Anopheles balabacensis Baisas. 1936. Mosq. News 1966,26(4):509—511

4. Ainsley RW: Laboratory colonization of the malaria victor, Anopheles culicifacies. Mosq News 1976, 36(3):256—258

5. 潘家复、俞天荣、朱法侃：巴拉巴按蚊实验室饲养。昆虫学某刊1981,(2):279—282

6. 钱会霖：巴拉巴的生态习性、传疟作用和防制。寄生虫学分册1977,(4):157—164

7. 叶奕英、许政拱、何登贤、赵邦权：微小按蚊实验室养殖的研究。昆虫学报1982, 25(1):117—120

A Study on Laboratory Rearing of Anopheles dirus

Chen Fuzhen, Liu Lianzhu, Song Zongchen, Feng Chongying, Huang Fusheng

(Department of Parasitology, Third Military Medical College)

Anopheles dirus Peyton et Harrison, 1979 is an important malaria vector in Southeast Asia and China particularly in forested hilly zones. To establisha a laboratory mating colony for this mosquito is one of the subjects to be solved urgently in malaria research.

This paper is to report our experience on breeding this mosquito. Ecological environment is created to simulate the natural conditions. The room-temperature of the insectary is 25°－28℃ and its relative humidity is around 80%.Mosquitoes are kept in cages with the size of 50×50×100cm. The larvae are fed with a mixture of de-fatted pig liver powder and yeast with a ratio of 1:3. The adults are fed with a mixture syrup containing 4% of orange juice, 10% of sucrose and other materials. The insectary is illuminated with a 3o w fluorescent light in the day time and a 15 w blue light in the night continuously to induce mating.

The mating rate of the fourteenth generation reached 68% and the descendants bred can be used in research work now.

?1994-2015 China Academic Journal Electronic Publishing House. All rights reserved. http://www.cnki.net