

蚊虫的采集及实验室饲养技术*

闫振天, 陈 斌, 李廷景, 付凤洋, 付文博, 杨飞龙, 唐 尧

(重庆师范大学 昆虫与分子生物学研究所 重庆市动物生物学重点实验室, 重庆 401331)

摘要 蚊虫的研究需要广泛的野外调查和实验室饲养,完整且种类丰富的蚊虫标本是开展其生物学、生态学、形态分类学、分子生物学以及抗药性研究的基础。本文系统地介绍了一套经过多年实践和改进而总结出的较理想的蚊虫采集和饲养工具,并总结了蚊虫幼虫、蛹和成虫的采集环境及方法,蚊虫幼虫及蛹的单管饲养和实验室饲养技术,成蚊的单雌饲养技术,幼虫皮、蛹皮和成蚊的保存方法,幼虫、蛹和成蚊的运输方法。本文介绍的相关技术和方法对于在蚊虫野外调查中获得完整的标本和生物生态学信息具有重要指导意义。

关键词 蚊虫;采集;保存;饲养;运输

中图分类号: Q969.44⁺2.2; Q969.9

文献标志码: A

文章编号: 1672-6693(2012)06-0030-05

蚊虫属节肢动物门(Arthropoda)、昆虫纲(Insecta)、双翅目(Diptera)、蚊科(Culicidae),是最重要的医学昆虫。它是多种传染病如疟疾、乙型脑炎、丝虫病、登革热、基孔肯雅病等的传播媒介。目前从蚊类分离到的病毒多达265种,占登记虫媒病毒总数的50%。有关蚊虫的研究涉及昆虫学、寄生虫学、流行病学、卫生防疫等学科领域,因此它是昆虫纲中研究最广泛和最深入的昆虫类群之一^[1-2]。

国内有关蚊类的研究在1949年以前非常稀少。据陆宝麟等人^[3]报道,1828年Wiedemann记述了中国广州市的中华按蚊(*Anopheles sinensis* Wiedemann, 1828)和迷走库蚊(*Culex vagans* Wiedemann, 1828)。20世纪30年代中国的蚊虫研究才开始起步,因疟疾流行而建立了一些机构,做了一些相关调查和防治。此后,国内蚊虫学者对蚊科分类区系的研究逐渐增多,老一辈工作者为开创中国的蚊类研究做出了很多贡献。其中Feng^[4]对中国除台湾省外早期文献做出的评述是对上述时期中国大陆蚊类区系的总结。1930—1950年的20年间,冯兰洲教授又在区系调查和与疾病关系方面做了大量工作^[5]。新中国成立后,在疟疾和淋巴丝虫病等蚊媒病防治和卫生运动的推动下,有关蚊类研究的学科领域如生物

系统学、生态学、媒介蚊虫与疾病关系、蚊虫的综合防治等都蓬勃发展起来并取得了巨大进展^[6]。目前,随着在国内各个省、市、县级的疾控中心以及一些医学疾病防治中心的逐步建立和完善,其中涉及蚊虫的研究工作得到了进一步的发展。由于有关蚊虫媒介研究中的区系调查、形态学及分子分类、抗药性等研究工作都需要大量的蚊虫标本及活体材料,因此蚊虫的野外采集及实验室饲养工作逐步成为蚊虫研究体系中一个重要的基础部分。

最近10余年来关于蚊虫的采集及实验室饲养技术在国外如WHO、NIH等著名机构都有较多且完整文献介绍,而国内蚊虫研究的文献对此却相对缺乏。国内早期学者如陆宝麟、董学书等人^[7-10]在他们的专著中仅仅介绍了各种蚊种易于孳生的场所,为蚊虫的采集提供了采集地信息,从而便于有关蚊虫野外采集工作的进行,但是其中并没有介绍详细的采集方法。孙传红等人^[11]对中华按蚊、淡色库蚊(*Culex pipiens pallens* Coquillett, 1898)、白纹伊蚊(*Aedes albopictus* Skuse, 1894)等3种传播疾病的蚊虫进行了实验室饲养,并做了详细的饲养方法的介绍,然而该方法仅在实验室条件成熟的情况下才能进行。此外,康杨、许国君等人^[12]在实验室对嗜人按

* 收稿日期 2012-01-28 修回日期 2012-05-27 网络出版时间 2012-11-12 16:42:01

资助项目: 美国国立卫生研究院 NIH 项目(No. 1R01AI095184; No. R03 TW008237; No. U19 AI089672); 国家自然科学基金(No. 31071968)

作者简介: 闫振天,男,硕士研究生,研究方向为昆虫学,通讯作者,陈斌, E-mail: c_bin@hotmail.com

网络出版地址: http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20121112.1642.201206.30_007.html

蚊(*Anopheles anthropophagus* Xu and Feng, 1975)和中华按蚊进行了实验室同步驯化;王丕玉等人^[13]对云南不同地理株微小按蚊(*Anopheles minimus* Theobald, 1901)实验室饲养进行了观察;李凤文等人^[14]总结了中华按蚊的实验室饲养及其技术;朱淮民^[15]对蚊虫的采集和标本保存进行了系统介绍。但是上述研究对于在不同生境下野外采集蚊虫所需工具、保存方法、单管饲养蚊虫收集标本以及饱血雌蚊实验室的单雌饲养等均无详细的技术介绍。目前,重庆师范大学昆虫与分子生物学研究所陈斌教授实验室经过多年的采集实践,并得到伦敦自然博物馆的Ralph Harbach和Lora Cuverwell博士指导,已形成一套较完善的蚊虫采集和实验室饲养技术体系。本文就此技术进行阐述,供广大蚊虫研究者参考。

1 蚊虫的采集和饲养的工具

1.1 采集工具

蚊虫的野外采集是蚊虫研究的基础,但要采集到其不同生长阶段、生境、种类的标本,则需要不同的工具。本实验室根据自己的采集经验对采集蚊虫所需的工具进行整理,如表1所示。

表1 蚊虫采集工具

Tab. 1 Mosquito collecting tools

用途	工具名称	用途	工具名称
幼虫和蛹采集	平底舀	成蚊采集	电动吸蚊器
	伸缩杆		诱虫灯
	胶头吸管		一体式吸蚊管
	幼虫采集袋		便携式蚊笼
	整理箱		乙醚毒瓶
	纸杯		手电筒
	铅笔		捕虫网
	采集记录表		CO ₂ 诱蚊器
			紫外灯诱蚊器

1.2 饲养工具

蚊虫整个生活史的标本对形态分类至关重要,野外采集到的幼虫和蛹需要饲养至成虫从而获得各龄期的标本,饱血雌蚊单雌饲养可以获得一系列的标本。本实验室的蚊虫饲养所需的工具准备如表2所示。

表2 蚊虫饲养工具

Tab. 2 Mosquito rearing tools

用途	工具名称	用途	工具名称
幼虫和蛹的饲养	瓷盆	成蚊的单雌饲养	纸杯(250 mL)
	塑料碗		平底盆
	胶头吸管		瓷碗
	单个饲养管		塑料吸蚊管
	幼鱼饲料(粉末状)		滤纸
	记号笔		细纱漏网
	标签纸		纱网
	铅笔		脱脂棉
	蜡笔		葡萄糖(粉末)

2 蚊虫的野外采集

2.1 幼虫和蛹的采集

幼虫和蛹的采集除获得幼体和蛹体外,还有利于获得该蚊种的幼虫皮和蛹壳,为蚊虫形态分类学研究 and 鉴定提供标本,同时通过饲养可以解决稀有蚊种的成虫在野外不易采集到的困难。

2.1.1 采集环境 幼虫和蛹可以在野外,包括村庄附近的所有水域和积水中进行采集,长期积水的水池、水塘、水坑、道路上或者道路旁的积水是幼虫和蛹的重要孳生地,野外的树洞、竹筒、石缝等有积水的地方也可采集到蚊虫的幼虫和蛹。

2.1.2 采集方法 大面积水域或积水较多的环境,可以用平底舀固定在伸缩杆上舀取该水域的水,然后用胶头吸管吸取采集到的幼虫或蛹并移入至幼虫采集袋中,同时做好采集记录。采集袋袋口要封紧,并在采集袋上注明采集编号。

有的蚊虫将卵产在树洞或者竹筒石缝等有少量积水的地方,可以直接用胶头吸管吸取积水来采集幼虫和蛹,并用采集袋收集带回实验室饲养获取其不同生长阶段的标本。此法适合采集树洞或竹筒等积水较少地方的幼虫和蛹。

幼虫和蛹在运输的过程中,须将采集袋口封好放入加有适量冷水的整理箱中,整理箱中的水以淹没采集袋为宜,以免在长期运输过程中发生剧烈碰撞使幼虫和蛹死亡。

2.2 成虫的采集

2.2.1 采集环境 成蚊一般喜欢栖息在阴暗潮湿而无风的地方。在人房内栖息的蚊虫经常出现在天花板、墙角、家具背面、床板下及悬挂的衣物上。其它

如地下室、牛栏、马厩、猪圈、地窖、土洞、石洞、桥洞、树洞和防空洞等均为蚊虫喜欢栖息的地方^[15]。在户外栖息的蚊虫,有的白天喜欢停留在遮荫较暗的地方,如植物叶子的下面、草丛或者灌木中,特别是在靠近幼虫孳生地的附近。

2.2.2 采集方法 在人房、猪圈、牛棚或者石洞内可以采用电动吸蚊器和吸蚊管采集,吸蚊器或吸蚊管采集成蚊时每次吸取成虫的数量控制在20只以下,并及时放入蚊笼中再单只采集,以免蚊虫过多发生碰撞造成成蚊死亡及标本的损坏。

扫网法是利用捕虫网在野外或者蚊虫大量存在而无停歇的状态下,挥动捕虫网进行扫网采集,扫网后迅速收网并将每次采集到的成蚊用吸蚊管吸出,放入蚊笼内。每次扫网应小心迅速,以免损伤成蚊标本。

在人房附近或者野外,采集成虫可以利用灯诱或者CO₂诱蚊器来采集成蚊。于21:00~00:00在人房或者大量滋生蚊虫的水域、树林附近距地面高2m的高度悬挂100W白炽灯,并在白炽灯下悬挂2m×2m的白布来诱使蚊虫停歇,然后进行采集。同时也可以将紫外诱蚊灯或CO₂诱蚊器于22:00~6:00放置在需要采集成蚊的野外,凌晨可以收集诱捕的成虫,但此法会造成采集的蚊虫在收集网中碰撞死亡较多或损坏严重,适合于地方性蚊虫密度的调查,作为形态学分类鉴定的标本采集应尽量避免采用此法。

人诱法^[15]则可以在白天采集树林中的少数蚊虫,在灌木丛或者树林中,裸露四肢诱使蚊虫叮咬,待成蚊停歇或叮咬后,用捕蚊器或者吸蚊管采集成虫,获得蚊虫标本。

3 蚊虫的实验室饲养

野外采集蚊虫的幼虫、蛹、饱血雌蚊带回实验室进行人工饲养,不仅可以得到蚊虫的幼虫皮和蛹皮的标本,同时进行实验室的蚊虫单雌饲养驯化,扩大实验室蚊虫种群的规模,为更进一步的蚊虫研究提供材料。

3.1 蚊虫幼虫及蛹的单管饲养

幼虫和蛹的单管饲养是获得的蚊虫幼虫皮、蛹皮及成虫整套形态学分类鉴定标本的简易途径,本实验室在野外采集的过程中采集了大量的幼虫和蛹,并通过蚊虫的单管饲养获得了大量蚊虫的完整

标本,为蚊虫的形态学分类鉴定研究奠定了基础。

3.1.1 幼虫的单管饲养 将野外采集的幼虫和蛹从采集袋中转移到盛有蒸馏水或纯净水的碗中(最好采用从采集地带来的水饲养),幼虫可以选取IV龄幼虫到单个饲养管中,在幼虫未化蛹之前,单个饲养管的盖子可以不用,如果IV龄幼虫较少,也可以选取III龄幼虫进行饲养,但要在饲养过程中喂食少量的幼虫饲料,并且为了避免幼虫因饲料过多死亡,应先取少量的饲料加水稀释后再用吸管加少量的稀释饲料到单个饲养管中,单个饲养管中加水不宜超过管高的1/2,并在管壁上注明采集编号。待到幼虫化蛹,再把单个饲养管的盖子加上,以免羽化后成蚊飞走。

3.1.2 蛹的单管饲养 将蛹分别用吸管单个放入饲养管中,盖上盖子,待其羽化24h后收集蛹皮和成蚊并保存。

3.2 饱血蚊虫的单雌饲养

蚊虫的单雌饲养不仅可以进行该蚊种在实验室的传代,获得该种的大量标本,同时也可以为分类学、流行病学、杀虫剂敏感性测定等提供重要研究材料^[15]。

3.2.1 野外采集饱血成蚊的保存及运输 在野外(人房、猪圈、牛棚等)采集到的饱血雌蚊,如果采集点距蚊虫饲养室较近,则可以将饱血雌蚊放入蚊笼内带回实验室直接进行单个饲养。否则,需将采集的饱血雌蚊单个分装到100mL规格的纸杯中,纸杯底部垫上浸水的滤纸,并用清水浸湿的厚纱布封住纸杯口,并在纱布上滴加少量的10%的葡萄糖溶液饲喂雌蚊。在运输过程中,每天早晚应在纱布上加水及葡萄糖溶液两次,应尽量避免纸杯剧烈震荡、倒置,并保持滤纸和纱布的湿润。

3.2.2 饲养方法 养蚊室的条件设置为:1)封闭式恒温室(恒温24~26℃),需压机和热机辅助控温;2)闭合式的空气循环系统及空气净化设备,保持室内空气无菌状态;3)感应式湿度调节器(室内湿度保持75%~80%),可以随时感应室内湿度变化对室内的加湿器进行调控。

饲养步骤为:1)野外采集饱血按蚊并进行单个纸杯(100mL规格)分装。2)在纸杯底围放1cm高的滤纸条并加蒸馏水,水高为0.5~0.8cm,在每个纸杯的纱网上放置10%的葡萄糖溶液棉球,棉球每天早晚滴加葡萄糖溶液保持湿润。3)单个饲养

的饱血雌蚊一般在吸血后3 d即产卵,产卵后将产在滤纸上的卵用蒸馏水冲洗到瓷碗中,并加入少量的清水(卵未孵化前加水少许即可)。将母本保存作为标本,卵孵化后,开始在水面撒施幼鱼饲料,每天早晚各一次。根据每碗幼虫的虫龄及数量多少控制撒食的量,如I、II、III龄幼虫撒食应少量多次,而IV龄幼虫则撒食量要适当加大,并减少次数;同时根据幼虫的多少及虫龄改变其饲养容器,如瓷碗可以换成平底盆。幼虫在饲养过程中应注意其中水质的变化。本实验室经过饲养总结,蚊虫的幼虫饲养用水来自该幼虫生长环境的水源最为适宜,如无法满足,用纯净水或蒸馏水饲养成活率也比较高,一般每天根据水质变化用塑料管将幼虫饲养容器中的水吸出 $1/2 \sim 2/3$,主要吸出盆底的食物残渣及蜕皮皮渣,并加入新鲜的水,然后再撒食饲料。4) F_1 代幼虫全部羽化后在同一纸杯中喂食葡萄糖棉球,一般规格为500 mL的纸杯可以饲养成蚊200~500只,规格为2.5 L的大纸杯可以饲养800~1 000只,每个饲养杯中也尽量保证雌雄数量的平衡以利于自由交配,待其自由交配3天后开始喂血。5)喂血时将小白鼠翻身固定在固定板上作为血源。喂血前需将小白鼠肚皮上毛剃光。每天将雌蚊单独挑出,首先饥饿10~12 h,然后放入笼中喂血2 h左右,待雌蚊吸血后将雌蚊继续用10%的葡萄糖棉球饲养2 d后放入纸杯产卵;未吸血的雌蚊可以换一只小白鼠继续喂血。如果不需要进一步喂血,可在蚊笼内放置一个加少量水的小碗,并将滤纸折成漏斗状浸湿覆盖小碗,将成蚊放入蚊笼内,成蚊即会将卵产于滤纸上,此法便于卵的收集。以此不断进行蚊虫的单雌传代。

4 蚊虫标本的保存

4.1 幼虫皮和蛹皮的保存

幼虫化蛹之后会留下种皮,蛹羽化后会留下蛹皮。幼虫皮和蛹皮都是蚊虫形态分类研究和鉴定的重要依据。单管饲养的幼虫或蛹,在化蛹和羽化后,用小木棍轻轻挑取幼虫皮和蛹皮放入规格为200 μL 小管中,并加入80%乙醇,封口保存。其间最好用封口胶封口以避免在运输过程中酒精泄露。待其成蚊羽化24 h后,用毒管杀死,干燥后同其幼虫皮和蛹皮放入同一个自封袋中,并注明采集编号。

4.2 成蚊标本的保存

采集到的成虫首先放入蚊笼中,并做好记录,不需要进行单雌饲养的蚊虫则需要尽快杀死^[15],以免大量成蚊在蚊笼中飞舞发生碰撞而损坏标本。将乙醚毒管放入蚊笼并将蚊笼封闭10 min后即可将成蚊麻醉致死,然后将每一只蚊虫用Beem小管分装,并做好采集记录。若需要长期保存标本,则需将小管盖子扎一小孔,并在装小管的自封袋中加入硅胶密封干燥保存。如果条件允许,也可以将蚊笼放入 $-20\text{ }^\circ\text{C}$ 的冰箱中3~5 min即可将成蚊冻死,再进行标本的保存。此法保存的标本不仅可以长久保存,关键是保证了标本的完整性。

5 讨论

陈斌教授带领的研究团队长期以来一直从事蚊虫采集和饲养工作,特别是在2010—2011年间,伦敦自然博物馆的Ralph Harbach和Lora Cuverwell博士指导该团队进行了较长时间的蚊虫野外采集和实验室饲养工作。研究团队在此过程中在参考他人方法的同时,结合本实验室自己的方法,开展了不同生境的蚊虫采集,获得了大量的蚊虫标本,并通过单管饲养获得了蚊虫的幼虫皮、蛹皮的标本。同时本实验室建立了自己的养蚊室,饲养从野外采集的饱血蚊虫并成功传代。

本文详细介绍了蚊虫从幼虫、蛹到成虫的野外采集所需要的便于携带的工具及采集方法、实验室饲养所需要的环境以及工具;同时以往文献中很少提到的关于幼虫皮、蛹皮等成套标本获得的方法在本文中也做了详尽的介绍。在野外采集常常会遇到长途运输损坏标本的问题,采取本实验室的方法可以避免或者减少此类情况的发生。而有关幼虫、蛹以及成虫的运输和保存问题,本实验室经过探索后发现,用采集袋运输幼虫、蛹死亡率低,在蚊笼外包裹浸湿的纱布运输成蚊死亡率则会大大降低。从野外采集的成蚊在实验室饲养可以传代,但是饲养过程中交配及吸血都是影响其大量传代的重要因素,因此实验室饲养技术还要在这两个方面上来进行改进。

总之,本文所介绍的方法不仅总结了以往蚊虫野外采集方法,同时也补充和完善了相关知识,在蚊虫野外调查中获得完整的标本和生物生态学信息方面具有重要指导意义,并为蚊虫采集及饲养技术广泛开展提供了有力借鉴。

参考文献:

- [1] 陆宝麟, 陈汉彬, 苏龙, 等. 中国动物志, 昆虫纲, 第八卷, 双翅目, 蚊科(上) [M]. 北京: 科学出版社, 1997.
- [2] 陆宝麟, 赵彤言. 50 年来我国的蚊类研究 [J]. 昆虫学报, 2000, 43(5): 1-7.
- [3] 陆宝麟, 陈汉彬, 瞿逢伊, 等. 中国动物志, 昆虫纲, 第 8 卷, 双翅目, 蚊科(上卷) [M]. 北京: 科学出版社, 1997: 1-884.
- [4] Feng L Z. A critical review of literature regarding the records of mosquito in China. Part I. Subfamily Culicinae, tribe Anophelini; Part II. Subfamily Culicinae, tribe Megarhinni and Culicini [J]. PekNat His Bull, 1938, 12: 169-181, 285-318.
- [5] 周钦贤. 中国蚊类及蚊媒病早期研究的综述 [J]. 中国热带医学, 2003, 3(1): 19-23.
- [6] 张菊仙, 龚正达. 中国蚊类研究概况 [J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2008, 19(6): 595-599.
- [7] 陆宝麟, 陈汉彬, 苏龙, 等. 中国动物志, 昆虫纲, 第八卷, 双翅目, 蚊科(上) [M]. 北京: 科学出版社, 1997.
- [8] 陆宝麟, 许锦江, 余渊, 等. 中国动物志, 昆虫纲, 第九卷, 双翅目, 蚊科(下) [M]. 北京: 科学出版社, 1997.
- [9] 董学书. 云南蚊虫志(上卷) [M]. 昆明: 云南科技出版社, 2009.
- [10] 董学书. 云南蚊虫志(下卷) [M]. 昆明: 云南科技出版社, 2009.
- [11] 孙传, 王怀位, 李怀菊, 等. 三种蚊虫饲养方法的比较研究 [J]. 医学动物防制, 2002, 18(10): 528-529.
- [12] 康杨, 许国君, 魏红雨, 等. 嗜人按蚊和中华按蚊实验室同步驯化实验 [J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2001, 12(1): 67-68.
- [13] 王丕玉, 王学忠. 云南不同地理株微小按蚊实验室饲养观察 [J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 1998, 9(6): 417-420.
- [14] 李凤文, 王槐芳. 中华按蚊实验室养殖技术 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 1999, 17(6): 400.
- [15] 朱淮民. 蚊虫采集、保存及标本制作 [J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2006, 24(B12): 73-75.

Animal Sciences

Techniques of Mosquitoes Collecting and Laboratory Rearing

YAN Zhen-tian, CHEN Bin, LI Ting-jing, FU Feng-yang, FU Wen-bo, YANG Fei-long, TANG Yao

(Institute of Entomology and Molecular Biology, Chongqing Key Laboratory of Animal Biology, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

Abstract: The field collecting and laboratory rearing of mosquitoes is essential for mosquito research. The mosquito specimens with perfect completeness and species richness are the foundation for extensive study on their biology, ecology, morphological taxonomy, molecular biology and insecticide resistance; however, the techniques for field collecting and laboratory rearing are still to be further improved and perfected. With many years of practice and improvement, the present paper introduces the ideal and operable tools of field collecting and laboratory rearing. Most importantly, here it summarizes in detail the collecting environment and method of mosquito larvae, pupae and adults, the techniques of the individual (with single-tube) and laboratory rearing of larvae and pupae and the progeny rearing of adults, the preservation method of larval and pupal exuviae and adults, and the field transportation method of all stages of mosquitoes. These technologies and methods are of instructive significance for mosquito field investigation and the acquirement of body-completed specimens and biological-ecological information.

Key words: mosquito; collecting; preservation; rearing; transportation

(责任编辑 方兴)