

Rhabditis線虫を餌とした8種のCulicoides又カカ幼虫の飼育

誌名	農林水産省家畜衛生試験場研究報告
ISSN	03882403
著者	北岡, 茂男
巻/号	83号
掲載ページ	p. 9-14
発行年月	1982年2月

農林水産省 農林水産技術会議事務局筑波産学連携支援センター
Tsukuba Business-Academia Cooperation Support Center, Agriculture, Forestry and Fisheries Research Council
Secretariat



Rhabditis 線虫を餌とした8種の *Culicoides* スカカ幼虫の飼育

北岡茂男¹

(昭和56年9月16日受付)

累代飼育のニワトリヌカカと、野外で採集した牛嗜好性のキモンヌカカ、ルンチヌカカ、マツザワヌカカ、ニッポンヌカカ、オオモリヌカカ、ホシヌカカ、シガヌカカなど8種のヌカカの飽血成虫から卵をえて、それらから孵化した幼虫の各齢期の発育日数などを観察した。25℃、恒暗条件下で寒天培地上で、培養した線虫 *Rhabditis elongata* を餌とし飼育したところ、それらは2～4週で蛹になった。I—IV 齢の各期の長さはほぼ等しいが、一般的にはIV 齢期が最も長かった。蛹化率は8～62%で種類により差があり、キモンヌカカとマツザワヌカカでは性比が1:1から著しく片寄って蛹化した。

ニワトリヌカカ *Culicoides arakawae* によって媒介される鶏のロイコチトゾーン症の寄生虫・宿主関係については、これまで種々の面からなされた実験と観察によって、多くの事実が明らかにされている。飛躍をもたらした引き金は、ニワトリヌカカの室内飼育法が確立されたことで、1年のうちの限られた期間のみ、それも流行予測が困難な状況で自然感染する本病を、飼育ヌカカを使用することで、いつでも思うままに定量的な感染実験が実施できるようになったためである。いっぽう、よく知られている牛の流行熱、イバラキ病、アカバネ病などがヌカカ媒介性のウイルス病である証拠が蓄積されつつある。¹³⁾したがって、わが国におけるそれらの媒介の候補者である牛嗜好性ヌカカの室内飼育系統を成立することができれば、上記の病気の研究においても、新局面を開きうるものと考えられる。

同じ吸血性の双翅目 (Diptera) の別の群である蚊においては、無数といえる系統が世界中で累代飼育されているが、いっぽう、ヌカカの飼育は著しく困難で、これまで数種が成功しているに過ぎない。わが国の *Culicoides* 属ヌカカの幼虫の形態学的観察は、Tokunaga¹⁴⁾ がイソヌカカ *C. circumscriptus* で行な

ってから、24年後にニワトリヌカカ¹⁵⁾が追加され、ごく最近に、著者が20種のヌカカの蛹の形態を報告した⁸⁾程度から進展がない。今回は卵から孵化し、蛹に達するまでの幼虫各齢期の発育日数などにつき8種のヌカカで観察することができた。

材料と方法

成虫の採集: ニワトリヌカカ *C. arakawae* (Arakawa, 1910) のみ累代飼育中の国分寺系統を用いた。そのほかの7種、キモンヌカカ *C. aterinervis* Tokunaga, 1937, ルンチヌカカ *C. lungchiensis* Chen et Tsai, 1962, マツザワヌカカ *C. matsuzawai* Tokunaga, 1950, ニッポンヌカカ *C. nipponensis* Tokunaga, 1958, オオモリヌカカ *C. ohmorii* Takahashi, 1958, ホシヌカカ *C. punctatus* (Meigen, 1804), シガヌカカ *C. sigaensis* Tokunaga, 1937 は野外で採集した材料から出発した。

採集場所は宮城、茨城、静岡、鹿児島県下の牛舎内にライトトラップを設置し、夕刻に点燈し、翌朝にトラップを回収、その中に入った吸血した雌成虫のみを吸血管で採集し、飼育用のガラス容器中に移し入れた。これを実験室内に持ち帰り、その後の飼育法はニワトリヌカカの飼育法¹²⁾に準じて行なった。

採卵の方法: スカカ成虫の入った容器は25℃、恒暗

Larval rearing of 8 species of *Culicoides* given cultured nematodes, *Rhabditis elongata*

1 Shigeo KITAOKA: 農林水産省家畜衛生試験場研究第1部, 〒305 茨城県筑波郡谷田部町観音台3丁目1番1号

条件の恒温器中に置き、10%蜂蜜溶液のみを餌とし飼育し、3～4日後に生存個体のみを回収した。成虫は吸虫管内へクロロホルムを吸入して麻酔させた。それらを、小シャーレ内にしいた湿った濾紙上に置き、実体顕微鏡下で覚醒し始めた時、小型メスで頭部を胸部から切り離した。このような断頭処理によって、多くの個体は自発的に産卵を開始した。翌日、産卵し終えた雌から卵のみを分離し、種類別に卵は2%寒天培地上に移し入れた。この培地の入ったシャーレは、底に水を満たしたデシケータ内に置き、25℃恒温器中に保った。2～3日で幼虫が孵化した時、初齢幼虫数をもって飼育虫数とした。

採集場所、時期が異なると採集されるヌカカの種類、個体数は全く相違し、ひいては成虫の生存率、産卵率産卵数、卵の孵化率、幼虫の発育率も千差万別であった。ごく少数の蛹しか生育しなかった例は除き、比較的に多数の蛹まで発育した場合のみの結果をここに示す。

幼虫の餌：室内で人工培養した土壌線虫の1種 *Rhabditis elongata* を幼虫の餌とした。線虫は酵母寒天培地で1週ごとに継代し、次の方法で線虫を純粋に分離した。径8cmガラスロートの下端に長さ約10cmのゴム管をはめ、その下端をピンチコックで止めたものが分離器である。ロートの上縁を20メッシュ真鍮網の10×10cm片で被い、網の中央を窪め、その上に薄手の和紙片を敷き、上まで水を満たし、培地上の線虫をピペットで和紙上に移し入れる。線虫は紙の繊維間をぬけ、下端部分に沈下してくる。ピンチコックを開け、試験管に入れ、静置し、上清を捨てると線虫のみが収集される。

幼虫の観察：4cmシャーレに2%純寒天液1.8mlを入れたものが幼虫飼育容器である。観察時以外は、25℃、100%相対湿度、恒暗下に置き、分離した線虫を毎日1回、十分に餌として与えた。初齢期のみ水田の泥を少量追加した。

ニワトリヌカカでは、別の容器中で孵化した一定数の幼虫を寒天上に移し入れたが、野外材料では寒天上で卵から孵化した幼虫個体数をもって飼育幼虫数とした。毎日、実体顕微鏡下で、シャーレ内で生育している一定数の幼虫を無作為的に選び、とくに頭部の大きさを観察し、各齢期の幼虫の比率を求めた。日数が経過すると、餌の残査や幼虫の活動により寒天は白濁し、糊状となって、幼虫の観察が次第に困難になった。その際は、幼虫を全部回収し、齢期を判定した後

に、新しい培地に移し入れた。幼虫が蛹に変態した際に、培地内から取り出し、雌雄別を観察した。全幼虫が蛹化した時点で観察を中止した。大部分の個体が蛹化し終えても、幼虫状態を続ける場合、さらに1週間の観察を続けた。

別の飼育例の幼虫は70%アルコールで固定し、一部はプレパラート標本として、頭長、幅、口環部の幅などを計測した。

結 果

観察結果は種類別に、毎日シャーレ内の幼虫個体群の各齢期構成百分率と、蛹化の累積百分率によって経時的な発育状況を図1～10に示した。写真1は、シャーレ内におけるシガヌカカの飼育状態である。

ニワトリヌカカ (図1)

250匹のI齢幼虫はII、III、IV齢を経て、18日目から蛹となり、26日目に蛹化を終えた。I齢期の死亡率が高く、わずかに20匹のみが蛹となり、蛹化率は8%で低率であった。26日後にIV齢幼虫状態を続けるものは蛹になることなく次第に死亡した。図1において、齢構成率の経日変化を示している3曲線のそれぞれの傾斜の程度は、各齢の幼虫の発育日数の変異幅の大小に相応し、50%となる点がほぼ平均日数と見なすことができる。明らかに、老齢のものほど、発育日数は長くなっていた。

キモンヌカカ (図2)

宮城県加美郡小野田町にある日本獣医畜産大学附属



写真1 寒天培地で飼育中のシガヌカカ幼虫

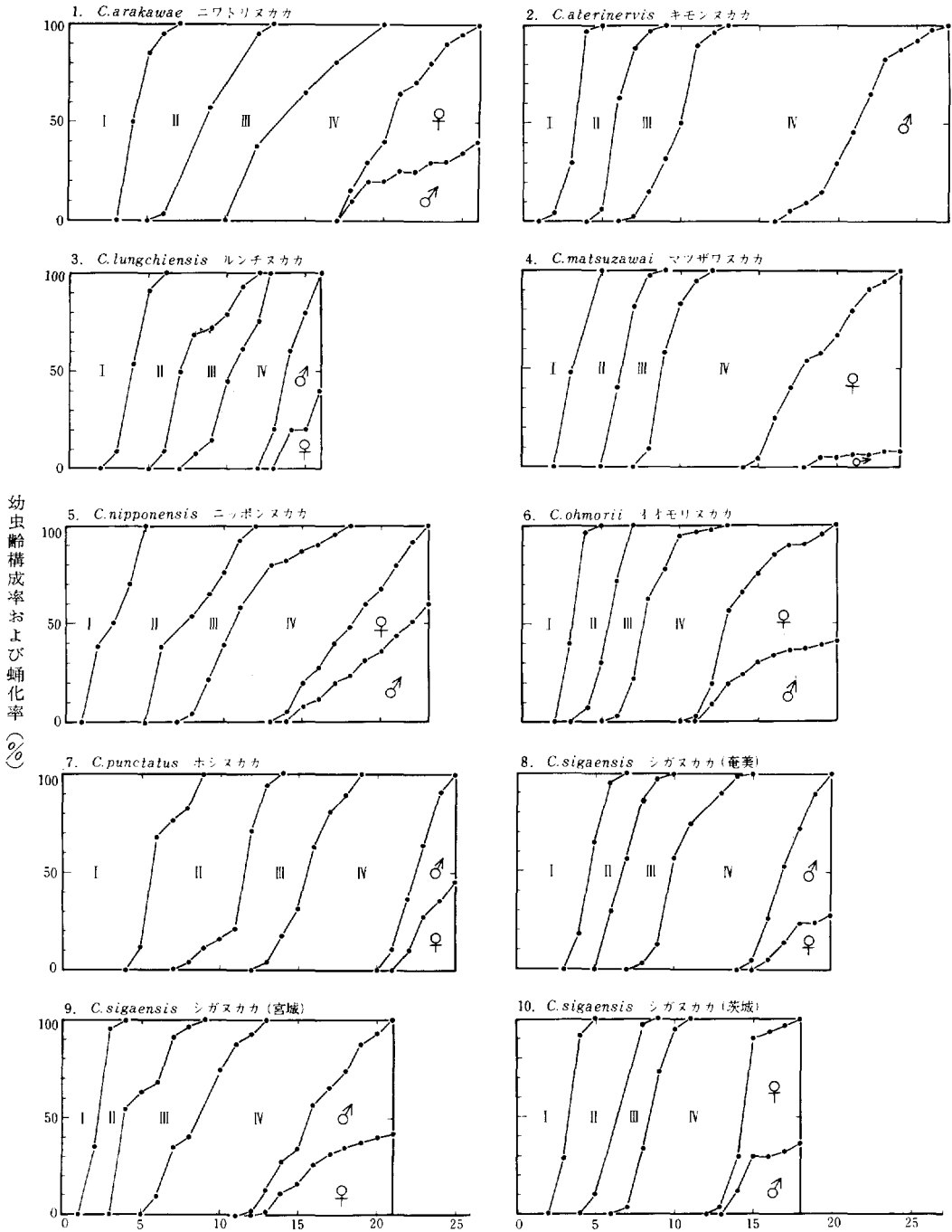


図1~10 各種ヌカカ幼虫I~IV齢構成率と累積蛹化率の経日変化(25℃)

I, II, III, IV: それぞれI, II, III, IV齢幼虫

♀: 雌の蛹

♂: 雄の蛹

農場内の牛舎に、1976年8月24日にトラップを設置し、採集した雌を使用した。結果は図2に示した。Ⅰ～Ⅲ齢の各期の長さや比べ、Ⅳ齢の長さが著しく長いことが特徴的であった。139匹の幼虫は77匹が蛹化、すなわち蛹化率55.5%、羽化成虫は雄のみであった。

ルンチヌカカ (図3)

茨城県真壁郡明野町で、1980年9月6日に設置したトラップで飽血雌をえた。46匹の幼虫は10匹の蛹まで育成した。Ⅰ齢期間が比較的長く、Ⅱ～Ⅳ齢期は短かく、8種中では全幼虫期間が最も短かった。

マツザワヌカカ (図4)

宮城県小野田町で1976年8月24日設置のトラップで図2のキモンヌカカと同時に採集した。81匹の幼虫は50匹の蛹まで育成した。キモンヌカカにおける各齢期の長さの傾向と類似しⅣ齢期が著しく長く、Ⅰ～Ⅲ期の幼虫期間とほぼ等しかった。蛹化率は61.7%で高かったにもかかわらず、雌の出現率が92%で著しく性比に差があった。

ニッポンヌカカ (図5)

茨城県明野町で図3のルンチヌカカと同じ牛舎内で1980年9月24日設置のトラップで採集した。本種はルンチヌカカと形態学的にきわめて類似する種であるが、幼虫期はかなり長く、顕著な差が認められた。

オオモリヌカカ (図6)

静岡県田方郡修善寺町で、ブユ成虫採集のため牛舎内に設置した別のタイプのライトトラップで雌成虫を捕獲した。各齢期の中でⅣ齢期が最も長く、全幼虫期の長さはルンチヌカカに次いで短かった。

ホシヌカカ (図7)

茨城県明野町で図3、5と同じ牛舎で、1980年9月20日にトラップを操作した。各齢期の長さは均等して長く、全期間はキモンヌカカ(図2)に次いで長かった。蛹化率が12%と低かったのは、ニワトリヌカカにおけると同様にⅣ齢幼虫期に多くの蛹化不能の個体があったためである。

シガヌカカ (図8, 9, 10)

地理的位置を異にする3地点で採集した3個体群につき観察した。すなわち、鹿児島県大島郡瀬戸内町で1976年3月26日(図8)、宮城県小野田町で1976年8月26日(図9)、茨城県明野町で1980年10月21日(図10)にそれぞれトラップ採集を実施して雌個体をえた。

3例の全幼虫期間はほぼ近似するものであったが、各齢期の長さにかかなりの差が認められた。しかしⅣ齢期が特に長い点は共通していた。

考 察

Kettle ら⁷⁾が報告した寒天培地上で培養線虫を餌にしてヌカカ幼虫を飼育する方法は、今回の8種のヌカカの幼虫の発育経過を観察する目的できわめて有用であった。この方法は幼虫の行動の詳細な観察が容易であるとともに、幼虫と蛹の脱皮がらを完全に、またきれいな状態で回収しうる利点があり、形態学的特徴を観察するための良い標本がえられる。寒天内での幼虫の運動は活発であるため、個体数が多くなると各齢期別の計数はほとんど不可能であり、抽出した個体のみの観察によらざるを得ない。したがって、培地の交換時のみに全個体につき個別観察した。わが国の *Culicoides* 幼虫の形態は、イソヌカカ¹⁴⁾ とニワトリヌカカ¹⁵⁾ のわずか2種についてある程度の記載があるに過ぎず、別報で既知種に関する報告をする予定である。

生息環境からの材料を用いた室温下での幼虫の発育経過に関する報告を集めることはそれほど困難ではない。しかし相互に結果を比較しうるような一定条件下の観察例はごく少ない。例えば米国において最も重要な牛吸血種である *C. variipennis* は24～26℃で10日目から蛹化し、ピークは12～14日にあり、ヨーロッパ産の *C. riethi* は23～24℃で14～18日に蛹化が始まり、ピークは18～21日である。¹⁾ 中国の *C. riethi* では27±1℃において、Ⅰ齢期間が6～8日、Ⅱが5～10日、Ⅲが6～9日、Ⅳが5～11日であった。⁵⁾ これらは、わが国の8種の幼虫期間とほぼ似た値であるといえる。従来、自然環境下における幼虫期間は1～2か月で比較的長いと考えられていたが、^{4,6,10)} 好適な条件下ではより速く発育し、2～4週の範囲に入るものが多いのではないかと考えられる。一般に、昆虫は地理的な分布を異にするものでは、同種でも異なった温度反応を示すものであるが、シガヌカカの個体群間における発育日数の差につき考察するにはさらに例数が必要である。

上述の温度条件とともに、餌が幼虫の発育に大きな影響を及ぼすことは強調するまでもない。しかし自然環境下で、幼虫のとり餌の種類に関する知識はごく限られるが、細菌、原生動物、線虫、他の昆虫など生、死物を含め雑多なものを対象としている。^{4,6,10)} したがって幼虫の生息環境が異なれば、とり餌の種類が全く異なることが想定される。わが国の家畜害虫として重要なニワトリヌカカ、ニッポンヌカカなどでは水田

が主要な発生源^{8,11,15)}で、別の数種もそこを生息地とする可能性が大きい。しかしシガスカカなど *Avaritia* 亜属の種類は、幼虫は遊泳性が少なく、蛹は水中で浮遊性を欠くので、滞水環境での生存は不可能である。同亜属のナミスカカ *C. obsoletus* の発生源は落葉堆積⁶⁾、オーストラリアスカカ *C. brevitarsis* では牛糞²⁾である。シガスカカを上記とほぼ同様の環境にある材料から検出することには成功していないが、ランチスカカ³⁾とともに牛糞中に初齢幼虫を入れた時、成虫として羽化するものがあつた(北岡・藤崎:第92回日本獣医学会口演,昭和56年9月13日)。鶏舎内に多く飛来するニワトリスカカの鶏糞からの発生は否定された⁸⁾が、牛を嗜好するわが国のスカカの一部分には牛糞を発生源とするものがありうる。

今回の8種のスカカ幼虫に *R. elongata* を餌として与え飼育したところ、十分に成虫期まで発育し、さらに10種以上の別の種類も同様に飼育することができた。⁹⁾ これらのスカカはいずれも積極的に線虫に対する摂食行動を示し、また牛糞中にも類似の線虫の存在を認めることができる。線虫にはスカカ幼虫と同じ程度の大きさのものがあつた、初齢幼虫にとっては捕食が困難である可能性があるため、初齢幼虫の高い死亡の原因となつたかもしれない。

老齢幼虫では、十分に餌が存在し、捕食の困難性がないはずなのに蛹化することなく、次第に死亡する例が少なくなつた。昆虫の変態時には、蛹化ホルモンが分泌され、その分泌には光週期条件が影響することが知られている。今回の飼育は観察の時以外は恒暗下で行なつたので、別にニワトリスカカ幼虫を各種の明暗条件下で飼育し、その影響を調べたが、全個体が蛹化しうる条件を決定的に知ることができなかつた(未発表, 1981)。

幼虫の発育率に影響を与える要因として、培地内に蓄積される老廃物を考えることができる。*C. guttipennis* の幼虫培地の中にパーミキュライトを加えた場合における蛹化率の増加の理由として、発育阻害物質の吸着が推定されている。¹⁰⁾ 今回の飼育条件下でも、高い蛹化率を示す種類が存在したことは、有機質の含有量に対する感受性の差があるためと想像される。例えば動物の糞に生息可能な種類は高有機質に抵抗性を有し、流水や滞水生息性のものはその影響に対し鋭敏であると考えられる。

8種のスカカのうち6種の性比はほぼ1:1であつたが、キモンスカカでは雄のみ、マツザワスカカでは家畜衛試研究報告 第83号, 9-14(昭和57年2月)

雌が96%をしめた。もし伴性致死因子が存在したら蛹化率は50%以下となるはずであるが、両種ともに60%を超えるので、遺伝的な致死因子による説明は困難であり、片寄つた性比の出現は興味ある現象として追究に値する。

引用文献

- 1) Boorman, J. : The maintenance of laboratory colonies of *Culicoides variipennis* (Coq.), *C. nubeculosus* (Mg.) and *C. riethi* Kieff. (Diptera, Ceratopogonidae). *Bull. Entomol. Res.* **64**, 371-377 (1974).
- 2) Campbell, M. M. & Kettle, D. S. : Number of adult *Culicoides brevitarsis* Kieffer (Diptera: Ceratopogonidae) emerging in the field. *Aust. J. Zool.* **24**, 75-85 (1976).
- 3) Chen, K. C. & Tsai, L. L. : The blood sucking midges (Ceratopogonidae) of Fukien. *Acta Entomol. Sinica* **11**, 349-400 (1962). [本文中国文, 英文抄録]
- 4) Glukhova, V. M. : Licinki mokretsov podsemejstov Palpomiinae i Ceratopogoninae fauny SSSR (Diptera, Ceratopogonidae = Heleidae). 1-230 Nauka, Leningrad (1979). [In Russian]
- 5) Jeu, M. H. & Rong, Y. L. : An investigation of the life history of *Culicoides riethi* Kieffer (Diptera: Ceratopogonidae). *Acta Entomol. Sinica* **17**, 413-420 (1974). [本文中国文, 英文抄録]
- 6) Kettle, D. S. : Biology and bionomics of bloodsucking ceratopogonids. *Ann. Rev. Entomol.* **22**, 33-51 (1977).
- 7) Kettle, D. S., Wild, C. H. & Elson, M. M. : A new technique for rearing individual *Culicoides* larvae (Diptera: Ceratopogonidae). *J. Med. Entomol.* **12**, 263-264 (1975).
- 8) 北岡茂男, 森井勤 : スカカ類の発生源とニワトリスカカ各期個体群の動態. *Natl. Inst. Anim. Health Q. (Jpn.)* **3**, 198-208 (1963) [本文英文, 和文抄録: 家畜衛試研究報告 第48号, 55-56 (1964).]
- 9) 北岡茂男 : *Culicoides* 属スカカの未成熟期の室内飼育とその形態. *衛生動物* **28**, 14 (1977).
- 10) Kwan, W. E. & Morrison, F. O. : A summary for published information for field and laboratory studies for biting midges *Culicoides* species (Diptera: Ceratopogonidae). *Ann. Soc. Entomol.* **19**, 127-137 (1974).
- 11) 丸山勝己, 高木正洋 : 三重県多気郡明和町におけるニッポンスカカ *Culicoides nipponensis* Tokunaga, 1955 の生態学的調査結果. *衛生動物* **28**, 367-371 (1977).

- 12) 森井勤, 北岡茂男 : ニワトリヌカカの実験室内累代飼育法. *Natl. Inst. Anim. Health Q. (Jpn.)* 8, 26-30 (1968). [本文英文. 和文抄録: 家畜衛試研究報告 第57号, 27 (1968).]
- 13) Sellers, R. F. : Weather, host and vector-their interplay in the spread of insect-borne animal diseases. *J. Hyg.* 85, 65-102 (1980).
- 14) Tokunaga, M. : Sand flies (Ceratopogonidae, Diptera) from Japan. *Tenthredo* 1, 233-338 (1937).
- 15) Tokunaga, M. et al. : Early stages and breeding places of *Culicoides arakawae* (Diptera : Ceratopogonidae). *Sci. Rep. Kyoto Pref. Univ. Agric.* 13, 53-59 (1961).
- 16) Williams, R. E. & Turner, E. C., Jr. : An improved laboratory larval medium for *Culicoides guttipennis* (Coq.) (Diptera : Ceratopogonidae). *J. Med. Entomol.* 13, 157-161 (1976).

追記 シガヌカカ *C. sigaensis* と台湾の *C. maculatus* の同異に関し, 各研究者の見解は一致していない。Kitaoka (1977), 和田, 北岡 (1977) では前者を後者のシノニムとした。Dyce (1982) の未発表の研究で, 前者は後者のシノニムとすることがほぼ決定的となった。