

*Culicoides arakawae*의 실험실내 colonization

최상호 · 주후돈 · 위성환 · 김기석 · 박근식

농촌진흥청 가축위생연구소

(1993년 6월 16일 접수)

Experimental colonization of *Culicoides arakawae* in laboratory

sang-ho Choi, Hoo-don Joo, Sung-hwan Wee, Ki-seok Kim, Keun-sik Park

Veterinary Research Institute, RDA

(Received June 16, 1993)

Abstract : *Culicoides arakawae* is a kind of the main blood sucking insects of domestic fowls and serves as a vector of *Leucocytozoon caulleryi*, the causative protozoon of chicken leukocytozoonosis.

In this study, the complete life history of *C. arakawae* was cycled by laboratory colonization.

Adult midges were collected from various poultry farm by light trap. The laboratory colonization was performed under the conditions of constant temperature of $25 \pm 1^\circ\text{C}$ and relative humidity of 80% or above. The hatched larvae were cultured in larval medium consisted of rice field mud and activated charcoal powder. The surface of medium was continuously flowed with biologically conditioned water. The fine powder meal composed of pellet feed for mice and equal amount of yeast was supplied for feeding larvae at every 72 hours.

The life cycle completed at 25°C in 35~35 days ; the period of preoviposition, egg, larval and pupal stage was 2~3, 3~4, 28~30 and 3 days, respectively. The measurements of the eggs, the 1st instar larvae, the 4th instar larvae and pupae was $36.28 \mu\text{m} \pm 1.95$, $13.58 \mu\text{m} \pm 0.72$, $4000 \mu\text{m} \pm 1.47$ and $219.95 \mu\text{m} \pm 6.25$ in mean \pm S.D., respectively.

In order to confirm experimental colonization of *C. arakawae* in laboratory, the colonized adult midges were allowed to suck blood from chicken infected with *L. caulleryi*. The oocysts and sporozoites could be identified in midguts and salivary glands of engorged midges at 72 hours after blood sucking.

서 론

쌍시목(雙翅目)의 등애모기(*Ceratopogonidae*)과에 속하는 겨보기(*Culicoides*)는 체액 흡즙성 또는 흡혈성 곤충으로서 1,000여종이 있으며¹ 우리나라에서는 지금까지 31종이 보고되어 있다. 그중 *C. arakawae*, *C. circumscriptus*, *C. homotomus*, *C. japonicus*, *C. laticola*, *C. nipponensis*, *C. pulicaris*, *C. oxystoma*, *C. sigaensis*와 *C. sinanoensis* 등이 전국의 각 지역에 넓게 분포되어 있는 반면 *C. dubius*와 *C. an-*

*amiensis olmorii*는 중부지역에만 분포되어 있는 것으로 알려져 있다.² *Culicoides*속의 곤충들은 흡혈하는 과정에서 *Leucocytozoon*, Blutongue, Ibaraki, Akabane 등의 기생충이나 병원미생물을 매개하기 때문에 수의학적으로 매우 중요한 곤충이다.^{3~5} 그러나 이러한 곤충들이 계절에 따라 한시적으로 번식 성행하므로 매개 전염병에 대한 계속적인 연구를 수행하기 위해서는 이들을 실험실내에서 유지 사육하는 것이 필수적인 요건이 된다. 실험실내 유지사육은 자연상태와 동일한 환경을 갖추어

주어야하므로 사육실내의 온도, 습도, 광선, 물, 토양, 산소, 사료, 영양, 산란, 부화, 우화 및 숙주동물 등 여러가지 조건을 세밀하게 검토하지 않으면 정상적인 번식과 유지사육이 불가능하게 된다.^{6~10} 1957년 Jones 등^{11,12}은 Bluetogque 연구를 위하여 *C. varipennis somorensis*를 실험실내 colonization하여 대량생산기법을 보고한 바 있고, 1968년 Morii 등^{13~15}이 *C. arakawae*의 실험실내 colonization을 보고한 후 그 생태와 생활사를 구명하고 *L. caulleryi*의 생활환에 관하여 보고하였다.

닭의 *Leucocytozoon*병은 한국, 일본, 대만, 필리핀, 태국, 말레이시아, 인도네시아 등 동남아 및 동북아세아에 많이 발생하고 있는 주혈원충성 질병으로서 1909년 Mathis와 Leger¹⁶에 의하여 원인체가 *L. caulleryi*로 최초 보고된 이래 본 병을 매개하는 vector가 오리의 *L. simondi*, 칠면조의 *L. smithi*를 매개하는 *Simulium*속 black fly라는 주장도 있었으나 1960년 Akiba 등³이 *C. arakawae*가 *L. caulleryi*를 전파시키는 vector라는 것을 증명한 바 있다.

국내에서 *Leucocytozoon*병에 대한 연구는 1962년 부터 이 등^{17,18}과 광 등¹⁹에 의하여 수행된 바 있으나 주로 야외에서 자연감염 발생에 관한 보고가 있었을 뿐 vector를 이용한 체계적인 연구는 이루어 지지 않았다. *Leucocytozoon* 병에 감염되면 고도의 빈혈, 산란저하, 체중감소, 연란, 폐사 등으로 20~30%의 경제적인 피해를 초래하므로 이 질병에 대한 방제연구가 시급히 요청되고 있는 실정이다.

저자 등은 1988년부터 국내에 분포되어 있는 겨모기를 채집하여 *C. arakawae*를 분리동정하고 실험실내 colonization을 시도하여 생활환을 완성한 후 *L. caulleryi*의 감염을 확인하였기에 그 결과를 보고하고자 한다.

재료 및 방법

***C. arakawa* 분리동정 및 활동밀도 조사 :** *Leucocytozoon* 병의 발생이 확인된 양계장에 Fig 1과 같이 light trap를 설치하여 오후 8시부터 다음날 오전 7시까지 1시간 간격으로 계사내에 침입하는 겨모기를 채집한 다음 실험실 내에서 형태학적 특징과 날개의 시맥중 증맥의 분지 및 흰색반점의 모양과 위치를 확인하여 *C. arakawae*를 분리·동정하였고, 시간별로 채집된 숫자를 세어서 활동밀도를 조사하였다.

***C. arakawae*의 실험실내 colonization :** Morii 등¹³과 Jones 등^{11,12}의 방법을 수정하여 Fig 2과 같은 순서에 의하여 다음과 같이 수행하였다.

성충의 순수분리 및 사육조 : 수원근교 서울대학교 농과대학 부속농장 산란계사에 설치한 light trap으로 겨모기를 채집한 뒤 사육실로 운반하여 petri dish에 넣고 냉

각 마취시킨 다음 입체현미경 하에서 *C. arakawae*를 순수 분리 하였고, 이들을 carrier로 옮긴 후 사육실에서 보존하였다. 이때 사용한 carrier는 5.5×13.5cm(D×L)의 유리병을 만들어 콜크마개를 하였으며 이 마개에 세개의 유리관을 삽입하여 한 개는 공기주입용 또 한 개는 먹이공급용(5% dextrose를 솜에 묻혀 공급)나머지 한 개는 성충을 주입하는 목적으로 사용하였으며 carrier안에 멸균처리된 벧짚을 깔라 넣어 주었다(Fig 3-A).

이때 사육조건은 사육실 내부를 항상 어둡게 하였고 온도는 25±1℃로 유지하였으며 상대습도는 80% 이상을 유지하도록 하였다.

산란유도 : Carrier에 보존되고 있는 성충을 aspirator로 포획한 후 Fig 3(B)와 같이 양면을 나이론 스타킹으로 막은 흡혈케이지(5.5×1.5cm)에 넣고 SPF 닭의 흉부 깃털을 제거한 후에 부착하여 20~30분간 흡혈시킨 다음 aspirator로 회수하여 약 5~10분간 교미를 유도하고 carrier로 옮겼다. 이때 산란장소를 제공하기 위하여 1.7×0.5cm(D×H)의 작은 산란용 petri dish에 증류수를 적신 탈지면을 깔고 larvar medium을 바른 여과지를 덮은 다음, carrier에 넣어 계속 유지하면서 매일 산란유무를 입체현미경으로 관찰하였다.

부화유도 : 산란된 알을 부화시키기 위하여 petri dish에 0.2μm Acrodisc(Gelman)로 여과한 biologically conditioned water(BCW)를 채운 다음, 산란된 여과지를 침적하고난 뒤 계속 보존하면서 부화유무를 관찰하였다(Fig 3-C).

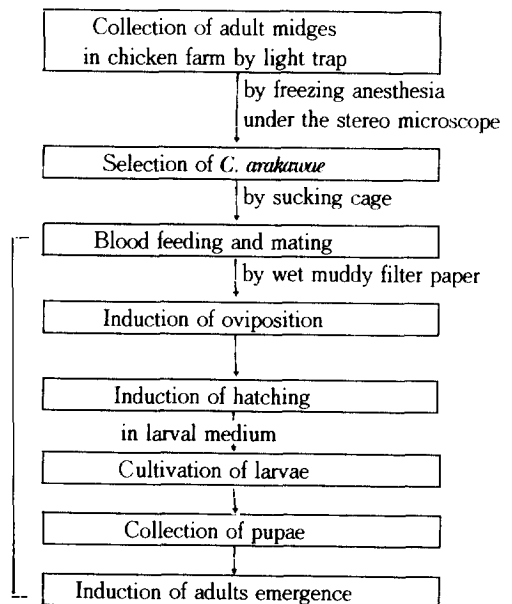


Fig 2. Experimental design for laboratory colonization of *C. arakawae*.

Larvae 사육 : 알에서 부화된 1st instar larvae를 petri dish에서 larval medium으로 옮기고 72시간 간격으로 larval feed를 급여하면서 pupation할 때까지 사육을 계속 하였다. 이때 진흙표면의 경화방지과 통기를 위하여 표면을 가볍게 scraping 해주었다.

Larval medium은 60×40×18cm 크기의 아크릴 상자를 제작한 후 상자 밑면에 멸균한 자갈과 모래를 각각 3cm 정도 증층하고 벼논에서 채취한 진흙을 정제, 고압 멸균한 다음, activated charcoal(Sigma)과 50 : 50(V/V)으로 증류수에 혼합하여 모래위에 3cm이상 증층하여 사용하였다(Fig. 4-A). Medium의 표면이 건조되지 않도록 순환수가 유입되는 면을 높게하고 유출되는 면은 낮게하여 물이 항상 흐르게 하였으며 낮은면 끝에는 물이 항상 고여있게 하였다. 또한 사육조의 좌우양면에 2개의 구멍을 내어 호스로 연결해서 물의 유입과 배출시 사용하였다. 최초 작성한 medium은 수조에서 항상 aeration되고 있는 물을 수중펌프를 이용하여 계속 순환시키면서 2개월 정도 유지하여 biological condition을 갖춘 다음, 실험에 제공하였다. 사육조를 통과한 물은 1, 2차 침전 여과조를 통과시켜 정화한 후 수조에 받아 재순환에 사용하였다(Fig 4-B, C).

Larval feed는 마우스 pellet 사료를 곱게 마쇄하여 100mesh의 동망으로 걸른 다음, 이를 Yeast extract(Ebi-ose)와 1 : 1로 균등하게 혼합한 것을 사용하였다.

Pupae의 채집과 우화유도 : 사육조에서 4th instar로 성숙한 larvae가 pupation하면 medium에 물을 채우고 배출구로 물을 넘치게 하여 수면에 떠오른 pupae를 회수하거나 pippete으로 채집하였다. 우화를 유도하기 위하여 Petri dish에 스폰지를 깔고 충분한 습기가 유지되도록 증류수를 보충하면서 그 위에 회수한 pupae를 올려 놓고 우화를 유도하거나 또는 petri dish에 증류수를 넘지 않을 정도로 가득 부어 그 위에 pupae를 부유시킨 다음, 우화를 유도하였으며 성충의 탈출을 방지하기 위하여 플라스틱으로 만든 상자를 덮어주었고 상자내면에는 벼짚을 붙여 주었다(Fig. 3-D).

L. caulleryi 감염 : *L. caulleryi*에 감염된 닭의 혈구중 gametocyte가 처음 출현하는 시기에 실험실에서 발생한 *C. arakawae*의 성충을 흡혈시키고 72시간후에 증장과 타액 선을 분리, 도말하여 Giemsa 염색한 후 원충의 감염여부를 관찰하였다.

결 과

***C. arakawae*의 분리동정 및 활동밀도** : 국내에서 분리한 *C. arakawae*의 형태학적 특징은 두부에 한쌍의 복안과 14절로된 한쌍의 촉각 및 5절로 된 한쌍의 촉수가 있었

고 흉부에는 양옆에 humeral pit와 한쌍의 날개 및 3쌍의 다리가 있으며 복부는 방추형이고 생식기와 항문이 있었다. 날개에는 원형의 흰색반점과 시맥의 분지가 특징적으로 나타나 있는 것을 볼 수 있었다(Fig 5, 6, 7).

*Leucocytozoon*병이 발생하고 있는 여러지역의 양계장에서 조사한 *C. arakawae*의 시간별 활동밀도는 Fig 8에서와 같이 지역별로는 차이가 있었으나 23시 전·후와 4~5시 사이에 가장 높았다.

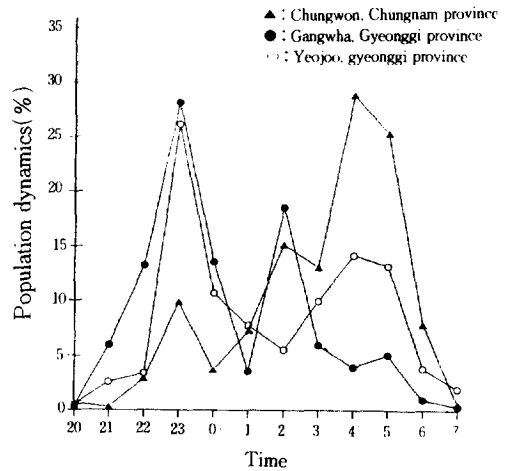


Fig 8. Hourly population dynamics of *C. arakawae* form poultry farms .

Preoviposition과 oviposition period : Preoviposition과 oviposition period를 측정한 결과 Table 1에서와 같이 흡혈 후 3~4일 후부터 산란하기 시작하여 약 3~4일간 산란을 계속하였다.

Hatching period : 산란된 알은 약 3~4일 후부터 부화되기 시작하여 6~7일까지 계속되었고 주로 산란 후 3~4일째에 가장 많이 부화되는 것을 관찰할 수 있었다 (Table 2).

Larval period : 부화된 후 1st instar larvae로부터 pupae로 성장하는데 소요되는 기간은 약 18~44일이었으며 Fig 9에서와 같이 28~30일 사이에 가장 많은 수의 pupae가 관찰되어 평균 larval period는 부화 후부터 약 28~30일이었다.

Pupal period : Pupae가 우화하는데 소요되는 기간은 Table 3에서와같이 약 3일이 소요되었고 성충의 발생은 3~5일간 계속되었다.

***C. arakawae*의 발육단계별 형태학적 특징** : 산란된 알은 바나나모양의 흑갈색으로 산란직후에는 투명한 흰색이었으나 수분후에는 흑갈색으로 변했으며 크기는 36.38 $\mu\text{m} \pm 1.95$ 였다(Fig 10).

Table 1. Preoviposition and oviposition period of *C. arakawae*

Sucking group	Days after sucking								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
I	□	□	□	+	+	+	+	-	-
II	□	□	□	+	+	+	+	-	-
III	□	□	□	+	+	+	+	+	-
IV	□	□	□	□	+	+	-	-	-

□ : Preoviposition, + : Oviposition, - : Negative

Table 2. Egg and hatching period of *C. arakawae*

Egg group	Days after oviposition								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
I	□	□	□	+	+	+	+	+	-
II	□	□	□	+	+	+	+	-	-
III	□	□	□	+	+	+	+	-	-
IV	□	□	□	□	+	+	+	-	-
V	□	□	□	+	+	+	+	-	-
VI	□	□	□	□	+	+	-	-	-
VII	□	□	□	□	+	+	+	-	-

□ : Egg period, + : Larvae emergence, - : Negative

Table 3. Pupal period and adult emergence of *C. arakawae*

Pupae group	Days after pupation								
	0	1	2	3	4	5	6	7	8
I	□	□	□	+	+	+	-	-	-
II	□	□	□	+	+	+	+	-	-
III	□	□	□	+	+	+	-	-	-
IV	□	□	□	+	+	+	-	-	-
V	□	□	□	+	+	+	-	-	-

□ : Pupal period, + : Adult emergence, - : Negative

Table 4. Measurement of the each stages of *C. arakawae*

Stage	Egg	Larvae		Pupae
		1st	4th	
Size (μm)	36.28 ± 1.95	13.58 ± 0.72	4,000 ± 1.47	219.95 ± 6.25
				25

Larvae는 9~12체절의 선충형으로 백색이며 크기는 제1기와 제2기유충이 각각 13.58 ± 0.72 μm 와 4,000 μm ± 1.47 (mean ± S. D.) 였고, 빠른 속도로 S자형 직진운동을 하였다(Fig 11). 사육조에서 4th instar로 성장한 1-larvae는 medium의 표면에서 pupation하였으며 pupae의 크기는 219.95 μm ± 6.25이었고, 방추형으로 머리에 한쌍의 air trumpet이 관찰되었고, pupation 직후에는 백색이었으나 수분후 흑갈색으로 변화하였다(Fig 12, Table 4).

*L. caulleryi*의 감염 : Gametocyte가 출현하는 감염계의

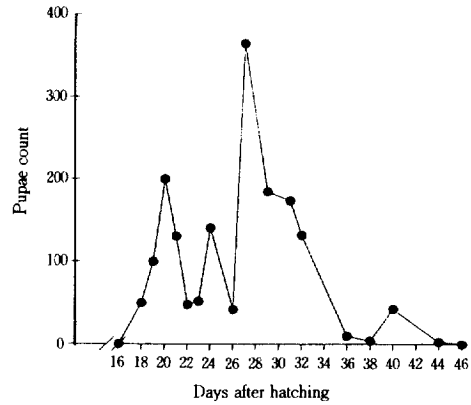


Fig 9. Laval period and pupae emergence of *C. arakawae*.

혈액을 흡혈한 *C. arakawae*의 증장과 타액선에서 성숙한 oocyst와 sporozoite를 확인할 수 있었다.

고 찰

닭의 *Leucocytozoon*병 매개체인 *C. arakawae*를 분리동정하기 위하여 임상적으로 *Leucocytozoon*병이 발생하는 양계장에 light trap을 설치하여 계사주위의 곤충을 유인 채집하고 날개의 시맥과 흰색반점 및 암컷의 수정낭을 확인하여 *C. arakawae*를 동정하였다. 이들의 형태학적 특징은 Kitaoka 등²⁾이 보고한 것과 일치하여 국내에 분포하고 있는 *C. arakawae*는 일본에 분포하는 것과 동일종으로 생각되었다.

*C. arakawae*의 시간별 활동밀도를 조사한 결과 22시와 24시 사이에 가장 왕성하게 활동하였고, 04시와 05시 사이에도 활동밀도가 높았다. 이것은 여름철 계사주위에 쉬고 있던 *C. arakawae*가 계사의 소동과 함께 대량 흡혈을 위한 활동을 시작하고 점등하기전 새벽에 다시 흡혈을 위한 활동이라 생각된다. Akiba³⁾는 21~22시와 00~02시 사이에 활동밀도가 가장 높았으며 21~22시 사이에 포획한 암컷이 가장 많았다고 보고하여 저자 등의 성적과 약간의 차이를 보였는데 이는 닭의 사육방법과 기후 등의 차이에서 기인하는 것으로 생각되었다.

*C. arakawae*의 실험실내 colonization을 시도하여 전체 생활환을 완성할 수 있었으며 생활환에 소요되는 기간은 약 35~45일이었다. 발육단계별로는 preoviposition과 egg period가 3~4일, laval period가 28~30일 그리고 pupal period가 3일이 소요되었다. Morii 등¹³⁾은 사육온도가 높을수록 생활환은 빨라지며 25°C에서 전체 생활환에 소요되는 기간은 5~6주이며 preoviposition과 egg period는 3~5일, larval period는 24~46일 그리고 pupal period는 2~3일이 소요된다고 보고하여 저자들의 성적

과 일치하였다. 그러나 Jones 등^{11,12}은 *C. varipennis*의 경우 23.5°C에서 전체 생활환에 30일이 소요되며 preoviposition, egg, larval 그리고 pupal period에 각각 3, 2, 23, 2일이 소요된다고 보고하여 *C. arakawa*보다 짧게 소요되는 것으로 생각된다.

Morii 등¹³은 논 의 표층에서 증식중인 Larvae를 수집하여 Larval medium에서 pupation 한 후 우화를 유도, 순수분리하여 colonization한데 반해 저자 등은 성충을 순수분리하여 colonization을 완성하였으며 토양에서 larvae를 분리동정하는 것이 무척 어렵다는 점을 감안하면 저자들의 방법이 더 효율적인 방법으로 생각된다.

성충으로부터 알을 얻기위하여 작은 산란용 petri dish에 BCW를 적신 여과지를 넣고 그위에 larval medium을 발라 주었는데 이것은 Kitaoka 등⁶이 이들의 습성이 주로 rice field에 산란한다고 보고한 것에 착안 하였으며 더 많은 산란을 유도하는데 유리할 것으로 판단되었다. Jones 등¹³은 *C. varipennis*의 경우 산란하는데 1회 이상의 흡혈을 필요로 한다고 보고하였으나 본 연구에서는 1회의 충분한 흡혈만으로도 산란되는 것을 확인할 수 있었다.

사육조건으로서 온도는 25°C를 유지하였는데 이는 Morii 등¹⁵이 30°C이상으로 유지하게 되면 *L. caulleryi*의 sporozoite가 감염력을 상실하며 25°C에서 감염력이 강하고 가장 많은 수의 sporozoite를 얻을 수 있다고 보고에 근거한 것이다.

Morii 등¹³은 colonization에서 가장 중요한 요소는 mating의 성공여부에 있다고 하였으며 다행히 *C. arakawa*는 좁은 흡혈케이지내에서 충분한 mating이 이루어진다고 하였는데 저자들의 실험에서도 흡혈케이지나 aspirator내에서 활발하게 mating이 이루어 지는 것을 관찰할 수 있었다. 또한 *C. arakawa*는 동물의 배설물에서 증식할 수 있는 *C. tuberculosis*, *C. varipennis*와는 달리 산소

가 풍부한 깨끗한 물의 진흙에서 증식하며 물이 정체된 곳에서는 자랄수 없다고 보고한 것¹³은 이 곤충의 가장 중요한 습성이므로 실험실내 사육조와 medium을 제작할 때 반드시 반영되어야할 사항으로 생각한다. 저자들은 *C. arakawa*의 laval period에 충분한 양의 산소를 공급하기 위하여 계속 aeration시킨 순환수를 medium에 점적하여 흐르게 하였으며 72시간마다 scraping을 하여 통기성을 향상시키는 방법을 이용하였다.

실험실에서 colonization된 *C. arakawa*에 *L. caulleryi*를 감염시킨 후 oocyst와 sporozoite를 확인함으로써 본 원충의 실험실내 유지가 가능하다고 판단하였다.

결 론

닭 *Leucocytozoon*병의 원인체인 *L. caulleryi*를 실험실에서 유지할 수 있도록 하기위하여 중간숙주인 *C. arakawa*의 colonization을 시도한 결과는 다음과 같다.

1. 국내에 분포하는 *C. arakawa*의 형태학적 특징은 두부에 한쌍의 복안과 14절로 된 한쌍의 촉각 및 5절로 된 한쌍의 촉수가 있었고, 흉부 양옆에 humeral pit와 한쌍의 날개, 3쌍의 다리가 있었다. 날개에는 원형의 흰색반점과 시맥의 분지가 특징적으로 나타나 있는 것을 볼 수 있었다.

2. 여러지역의 양계장에서 조사한 *C. arakawa*의 시간별 활동밀도는 22~24시와 4~5시 사이에 가장 활발하게 흡혈하는 것을 관찰할 수 있었다.

3. *C. arakawa*의 생활환에 소요되는 기간은 약 35~45일이었고 발육 단계별로는 preoviposition과 egg period가 3~4일, laval period가 28~30일 그리고 pupal period가 3일이 소요되며 실험실내 colonization을 완성할 수 있었다.

4. *C. arakawa*의 발육단계별 형태학적 특징은 egg는 흑갈색의 바나나모양으로 크기는 36.28 $\mu\text{m} \pm 1.95$ (mean

Legends for figures

Fig 1. Light trap installed at poultry farm for trapping the adult midges of *Culicoides*.

Fig 3. The some apparatuses for colonization of *C. arakawa*. (A). Carrier with cork stopper. (B). Sucking cage of which both openings were covered with cloth of nylon stocking. (C). Egg laid on filter paper placed in small petri dish for hatching. (D). Cage for emergence of adults.

Fig 4. The culturing system for larvae. (A). Larval pan with inlet and outlet holes for water circulation. (B). Two sedimentation pans for clearing water and (C). water reservoir with continuous aeration.

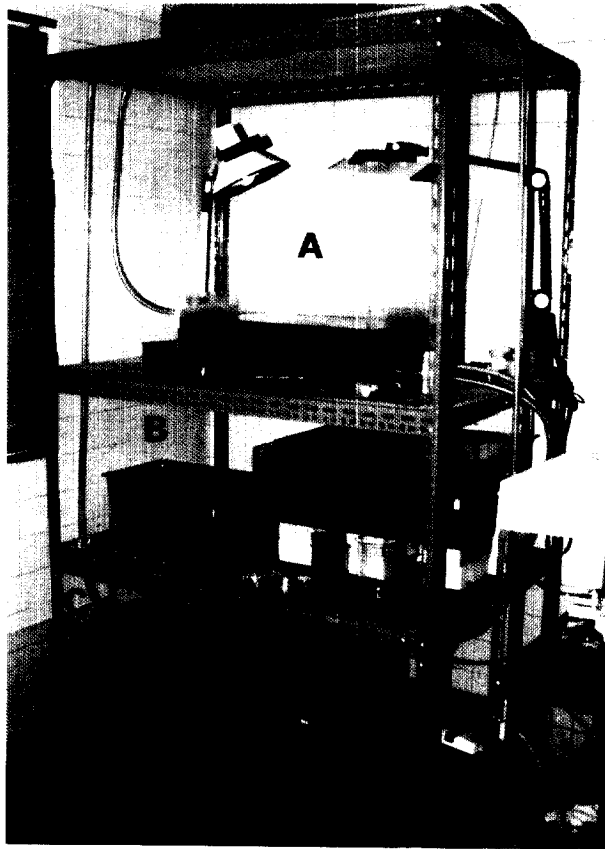
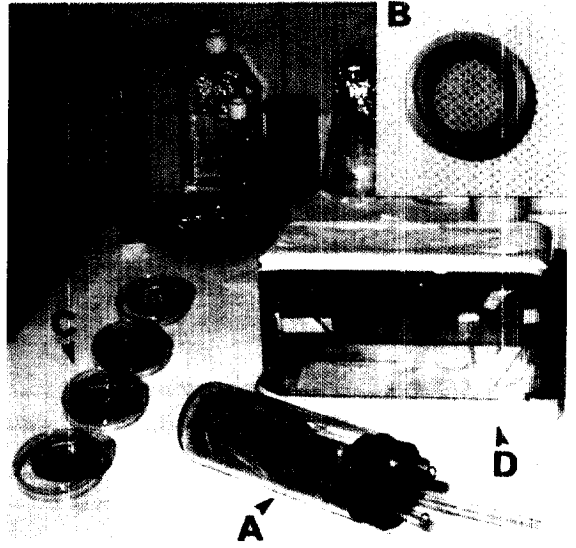
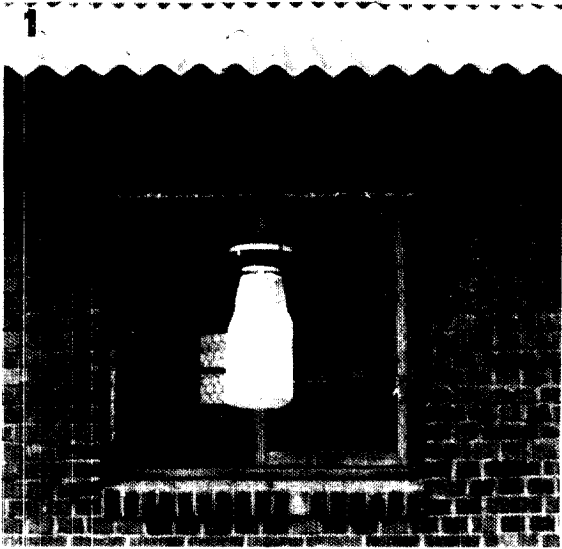
Fig 5 and 6. Adult *C. arakawa* showing wings of pale brown color with extensive pale spots.

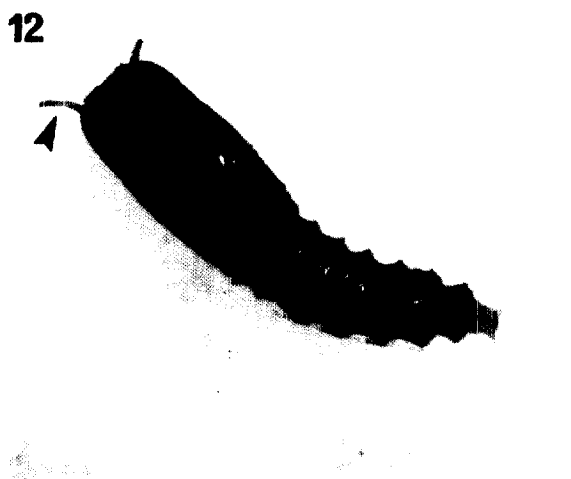
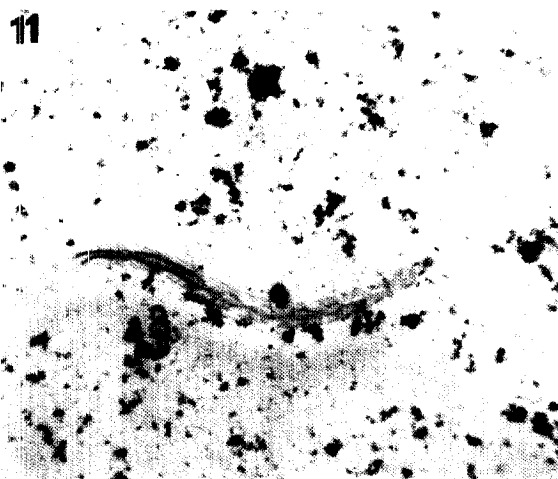
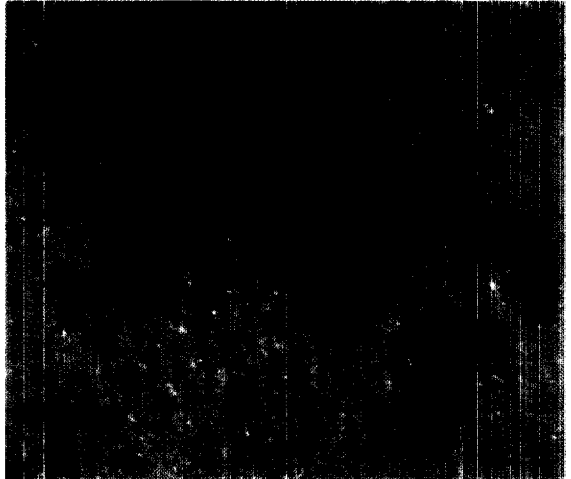
Fig 7. Mating of engorged female and male.

Fig 10. Viable eggs showing dark brown color and banana-shape.

Fig 11. Larva swimming in the medium.

Fig 12. Mature pupa showing 1 pair of air trumpet.





±S.D.)였고, larvae는 백색의 선충형으로 S자형 직진운동을 하였으며 1st instar larvae와 4th instar larvae의 크기는 각각 $13.58 \mu\text{m} \pm 0.72$ 와 $4,000 \mu\text{m} \pm 1.47$ 이었다. pupae는 흑갈색의 방추형으로 머리에 한쌍의 air trumpet이 관찰되었고 크기는 $219.5 \mu\text{m} \pm 6.25$ 였다.

5. 실험실에서 colonization된 *C arakawae*를 류코싸이토준병 감염계에 흡혈시킨 결과 72시간 후에 중장과 타액선에서 oocyst와 sporozoite가 관찰되어 *L. caulleryi*의 감염을 확인할 수 있었다.

참 고 문 헌

1. 北岡茂男. わが國のスカカ科 *Culicoides*屬の 種類とその檢索表 I. II. 家畜衛試研究報告. 1984 : 87 : 73 ~ 108.
2. Kang CH. Studies on bioecology of the genus *Culicoides*(Diptera: *Ceratopogonidae*) and seasonal abundance by the use of black light tyaps. The degree of master of science. The graduate school of Seoul National University. 1990.
3. Akiba K. Studies on the *Leucocytozoon* found in the chicken in Japan. II. On the transmission of *L. caulleryi* by *Culicoides arakawae*. *Jpn J Vet Sci* 1960 ; 22 : 309~317.
4. 大森常良, 安藤敬太郎 等, 牛病學. 近代出版. 1980 ; 255~319
5. Soulsby E.J.L. Helminths, Athropods, and Protozoa of Domesticated Animals. *Lea & Febiger Philadelphia* 1982 ; 392~393.
6. Kitaoka S, Morii T. Observation on the breeding habitats of some biting midges and seasonal population dynamics in the life cycle of *culicoides arakawae* in Tokyo and its vicinity. *Nat Inst Anim Hlth Quart* 1963 ; 3(4) : 198~208.
7. Kitaoka S, Morii T. Hourly flying and biting activities of *Culicoides arakawae* and *Culicoides oxibilis* attracted to light traps in chicken house. *Bull Nat Inst Anim Hlth* 1964 ; 49 : 16~21.
8. 山田直樹, 丹木 理, 平松榮藏. 晩秋における 鶏口イコチトゾーン病の 發生. 鶏病研究會報 1979 : 20-3~205.
9. 秋葉和温. 鶏ロイコチトゾーン病の 年度別 流行の特徴と 衛生對策の現狀からみた同症の防疫限界. 畜産の研究 1981 ; 35(5) : 23~30.
10. Kitaoka S. Effects of rearing temperature on length of larval period and size of adults in *Culicoides arakawae* and *Culicoides maculatus*(Diptera : *Ceratopogonidae*). *Nat Inst Anim Hlth Quart* 1982 ; 22 : 159~162.
11. Jones RH. The laboratory colonization of *Culicoides varripennis* (coq). *J Econ Entomol* 1957 ; 50 : 107 ~ 108.
12. Jones RH. Mass-production method for the colonization of *Culicoides varripennis sonnensis*. *J Econ Entom.* 1960 ; 53 : 731~735.
13. Morii T, Kitaoka S. The laboratory colonization of *Culicoides arakawae*. *Nat Inst Anim Hlth Quart* 1968 ; 8 : 26~30.
14. Morii T, Kitaoka S. Relationship between the course of gametocyte appearance of *Akiba caulleryi* in the chicken and sporozoite production in *Culicoides arakawae*. *Nat Inst Anim Hlth Quart.* 1968 ; 8 : 204~209.
15. Morii T, Kitaoka S. Influence of temperature on the sporogony of *Akiba caulleryi* three *culicoides* species. *Nat Inst Anim Hlth Quart* 1968 ; 8 : 210~216.
16. Mathis C, Leger M. *Leucocytozoon* de la poul. *C R Soc Biol.* Paris. 1909 ; 67 : 470~472.
17. 李起豊. 닭의 住血原蟲病(綜說) 獸醫界 1963 : 7(2) : 20~30.
18. 李俊燮. 닭의 *Leucocytozoon* 病의 發生. 大韓獸醫學會誌 1974 ; 14(2) : 269~271.
19. 郭守東, 鄭宗植. 닭의 *Leucocytozoon*病의 集團發生과 病理學的 觀察. 大韓獸醫學會誌 1983 ; 23(23) : 183 ~186.
20. Kitaoka S. Six new species and males of some species of Japanese *Culicoides* (Dipteria : *Ceratopogonidae*). *Nat Inst Anim Hlth Quart* 1980 ; 20 : 11~22.