

國立臺灣博物館一〇七年度研究計畫成果報告

大白斑蝶半合成人工飼料之改良

計畫主持人：歐陽盛芝

共同主持人：陳素瓊

國立臺灣博物館

中華民國一〇八年三月

大白斑蝶半合成人工飼料之改良

歐陽盛芝* 陳素瓊**

*國立臺灣博物館

**國立宜蘭大學 園藝學系

摘要

本試驗重點在改良研發大白斑蝶 (*Idea leuconoe clara* Butler) 的半合成人工飼料，因此以天然寄主植物爬森藤 (*Parsonia alboflavescens* (Dennst.) Mabb.) 葉片和半合成人工飼料分組飼養，比較對本種的生長發育影響，探討此人工飼料配方的實用性。本試驗在網室內採取大白斑蝶的含卵葉片，置於 $25\pm 1^{\circ}\text{C}$ ， $80\pm 5\%$ RH，光週期14L：10D條件的生長箱中，孵化後採用單隻飼育方式，分別以爬森藤葉片和半合成人工飼料飼養至羽化為成蝶。試驗結果得知，飼料組皆未能化蛹，且幼蟲期僅有6%存活率；葉片組從剛孵化的一齡幼蟲生長發育至羽化成蝶的存活率則有60%。整個幼蟲期的發育日數，葉片組和飼料組各為22.31日及32.00日，葉片組從一齡幼蟲生長發育至羽化為成蝶的發育日數為36.00日。兩組幼蟲的頭殼寬度和體長皆隨齡期增長呈等比增加，且幼蟲頭殼寬度和的常用對數與齡期間均呈迴歸直線關係，符合戴爾法則。由試驗可知，本次研發的半合成人工飼料尚無實用價值。

關鍵詞：大白斑蝶、半合成人工飼料、爬森藤、存活率。

前言

人工飼料對在實驗室中大量飼養植食性昆蟲很有用，並且發展含有較少乾燥葉片粉末的人工飼料，對於飼養因寄主植物種類稀少或幼

蟲消耗大量葉片時將是重要的 (Yoshio and Ishii, 1996)。雖然以活體寄主植物飼養蝴蝶很常見，但所耗費的時間和空間成本卻相對昂貴 (Holloway *et al.*, 1991)。有關商品化的蝴蝶人工飼料，目前已知紐西蘭的 Singh and Clare (1988) 發展出大樺斑蝶 (帝王斑蝶, *Danaus plexippus* (Linnaeus)) 人工飼料及飼養方法；後來 Leong (2001) 經研發成功在美國取得專利，因此市面上已可買到商業販售的帝王斑蝶幼蟲人工飼料，但國內目前仍無類似商品。

因此選擇臺灣產體型最大、飛行緩慢、適於觀賞和觀察的大白斑蝶 (*Idea leuconoe clara* Butler)，就以往半合成人工飼料的研發成果，嘗試改良其配方，期能解決以人工飼養繁殖時所面臨其寄主植物爬森藤 (*Parsonia alboflavescens* (Dennst.) Mabb.) 取得不易且難以購買的問題，進而改善本種的人工繁殖技術。

材料與方法

一、供試蟲源及飼養方法

自屏東縣內埔鄉國立屏東科技大學植物醫學系 (原名植物保護系) 取得大白斑蝶成蟲，攜回國立宜蘭大學園藝學系的網室 (8.5×7.2×3.85 m) 飼養，網室內栽種幼蟲食草爬森藤 (*Parsonia alboflavescens* (Dennst.) Mabb.) 及成蟲蜜源植物馬纓丹 (*Lantana camara* L.)、繁星花 (*Pentas lanceolata* (Forssk.) Deflers)、尖尾鳳 (馬利筋, *Asclepias curassavica* L.)、非洲鳳仙花 (*Impatiens wallerana* Hook. f.)、白玉蘭 (*Michelia alba* DC.)、長穗木 (*Stachytarpheta urticaefolia* (Salisb.) Sims.) 等植物，供成蝶吸蜜、求偶、交尾及遮陰避雨、雌蝶產卵和幼蟲取食等，在網室內經自然交配後繁殖三代以上，才開始成為本試驗供試蟲源。

二、供試用寄主植物

試驗前先在網室外栽種龍膽目 (Gentianales) 夾竹桃科 (Apocynaceae) 的寄主植物爬森藤 (*Parsonia alboflavescens* (Dennst.)

Mabb.) 盆栽，每日澆水照護，約一至二星期就以花寶施肥一次，待其生長至高約 100 cm，含約 40 片葉片時即可用於試驗。

三、半合成人工飼料的組成及調製方法

本試驗所用大白斑蝶半合成人工飼料的組成，是參考 Chen *et al.* (2013) 的配方改良調製而成，先採取爬森藤葉片洗淨並經冷凍乾燥處理後，以磨粉機磨成粉末，置放冰箱冷藏備用。配製時將花豆以磨粉機磨成粉狀，混合爬森藤葉粉、小麥胚芽、酵母粉、酪蛋白、洋菜粉、對羥基苯甲酸甲酯 (methyl paraben)、己二烯酸 (山梨酸, sorbic acid)、威氏鹽 (Wesson salt mix)、氯化膽鹼 (choline chloride)、蔗糖、葡萄糖、亞麻仁油、蒸餾水、維他命、抗壞血酸 (維生素 C, ascorbic acid)、四環黴素 (tetracycline)、福馬林等，依附錄 1 以不同成份比例加熱配製成人工飼料，在室溫下冷卻及凝固，儲存在冰箱中備用。

附錄 1. 大白斑蝶半合成人工飼料配方

Appendix 1. Composition of the semi-synthetic artificial diet for *Idea leuconoe clara*

Ingredients	Quantity	Ingredients	Quantity
Common bean meal	40.00 g	Sorbic acid	0.50 g
Dried vine leaf powder	35.00 g	Vitamin	1.00 g
Wheat germ	14.00 g	Wesson salt mix	2.00 g
Yeast	10.00 g	Choline chloride	1.00 g
Casein	10.00 g	Linseed oil	4.00 ml
Gelcarin	35.00 g	Methyl paraben	0.50 g
Sucrose	10.00 g	Formaldehyde	2.00 ml
Glucose	10.00 g	Tetracycline	0.01 g
Ascorbic acid	2.00 g	Distilled water	825.00 ml

四、爬森藤葉片與半合成人工飼料的飼育

參考 Chen *et al.* (2013) 的方法，試驗當日先將兩盆檢視過不含蟲卵、幼蟲或其他生物的爬森藤盆栽 (株高約 100 cm，含約 40 片葉片)

搬入網室內，供雌性大白斑蝶產卵，隔天採下大白斑蝶含卵葉片攜回實驗室，將葉柄以棉花裹住，加水保鮮，然後放入長方形塑膠盒（20.0×18.5×9.0 cm）中，移至 25±1℃，80±5 % RH，光週期 14L：10D 條件的生長箱中，每日觀察至卵孵化時，取 100 隻剛孵化幼蟲分為兩組，一組以寄主植物爬森藤葉片單隻飼養於圓形透明塑膠盒（杯口直徑 9.2 cm、底部直徑 8 cm、高 5.8 cm、容量約 300 ml）中；另一組以半合成人工飼料單隻飼養於小型圓形透明塑膠盒（杯口直徑 4 cm、底部直徑 3 cm、高 2.5 cm、容量約 20 ml）中，每日均清理飼養容器並在盒內放入足夠新鮮葉片或飼料供幼蟲取食，飼養至第三齡後，飼育盒換成較大的圓形不透明塑膠盒（杯口直徑 11 cm、底部直徑 9 cm、高 8 cm、容量約 500 ml），盒蓋中央挖洞覆蓋 2×2 cm 紗網（36×36 mesh），使空氣流動。俟供試幼蟲化蛹後即在圓形透明塑膠盒內懸掛較粗糙之衛生紙條，以利其羽化。

每日觀察及記錄各個蟲期的形態變化及生長發育情形，並測量體長及幼蟲頭殼寬度等。幼蟲頭殼寬度是測量剛蛻皮時蛻下的頭殼寬度，其中一齡幼蟲的頭殼寬度是用解剖顯微鏡目鏡中所附的微尺測量，其餘各齡幼蟲的頭殼寬度皆以數位式游標卡尺測量；體長則是以數位式游標卡尺測量剛孵化之一齡幼蟲和剛蛻皮之各齡幼蟲；蛹重和成蟲重是以電動天平測定，翅長和翅寬是以數位式游標卡尺測定羽化後成蝶的展翅長及寬度。

結果與討論

一、存活率

大白斑蝶在 25±1℃，80±5 % RH，光週期 14L：10D 的恆定條件下，以爬森藤葉片和半合成人工飼料分組飼養的各蟲期存活率如表 1。由結果可知，葉片組的幼蟲期存活率只有 72.00%（n=36），蛹期的存活率是 83.33%（n=30），由剛孵化一齡幼蟲生長發育至羽化成蝶的存活率為 60.00%（n=30）。雖然配製的人工飼料中含有爬森藤葉片粉末，

但幼蟲期的存活率相當低僅有 6% (n=3)，且皆未能化蛹，因而未發育任何蛹成蝶，和葉片組比較，只是葉片組的 10%。

Chen *et al.* (2013) 的幼蟲期存活率，葉片組和飼料組分別為 88.3% 及 72.4%，均較本試驗的兩組高，本種剛孵化一齡幼蟲生長發育至羽化成蝶的存活率，Chen *et al.* (2013) 的葉片組和飼料組各是 78.3% 及 58.3%，亦明顯高於本試驗結果，雖然本試驗所用人工飼料配方已提高寄主植物爬森藤葉粉比例，但存活率卻偏低，其原因不明仍待研究。

表 1. 爬森藤葉片與半合成人工飼料飼育的大白斑蝶存活率

Table 1. The survival rate (%) of various development stage of *Idea leuconoe clara* reared with *Parsonia alboflavescens* leaves and semi-synthetic artificial diet

Life stage	Survival rate (%) (n) ¹⁾	
	<i>Parsonia alboflavescens</i> leaves	Artificial diet
1st instar larva	100 (50)	100 (50)
2nd instar larva	98.00 (49)	54.00 (27)
3rd instar larva	89.80 (44)	59.26 (16)
4th instar larva	86.36 (38)	37.50 (6)
5th instar larva	94.74 (36)	50.00 (3)
Larval	72.00 (36)	6.00 (3)
Pupa	83.33 (30)	—
Larva to Pupa	60.00 (30)	—

1) n in parentheses is the number of observed.

二、發育日數

以爬森藤葉片和半合成人工飼料飼養的本種各蟲期發育日數如表 2。第一齡至第五齡幼蟲的發育日數，葉片組分別為 3.64、3.98、4.70、

4.03、7.83 日；飼料組則各為 6.90、5.69、9.69、9.33、9.67 日，即飼料組的各齡期幼蟲發育日數都比葉片組長，並且整個幼蟲期的發育日數，葉片組是 22.31 日，比飼料組的 32.00 日短約 10 日。至於葉片組的蛹期為 14.73 日，從一齡幼蟲生長發育至羽化為成蝶的發育日數為 36.00 日。

本試驗的整個幼蟲期發育日數葉片組較 Chen *et al.* (2013) 所得的 20.87 日長約 1.5 日，飼料組卻較其 31.38 日結果短約 0.6 日。而本試驗葉片組的蛹期較 Chen *et al.* (2013) 的 15.83 日短約 1 日，從一齡幼蟲生長發育至羽化為成蝶的發育日數則與 Chen *et al.* (2013) 的 36.40 日相近。

表 2. 爬森藤葉片與半合成人工飼料飼育的大白斑蝶發育日數

Table 2. The developmental periods of various development stage of *Idea leuconoe clara* reared with *Parsonia alboflavescens* leaves and semi-synthetic artificial diet

Life stage	Developmental period (Mean±SE, days) (n) ¹⁾	
	<i>Parsonia alboflavescens</i> leaves	Artificial diet
1st instar larva	3.64±0.56 (50)	6.90±1.19 (50)
2nd instar larva	3.98±1.28 (49)	5.69±1.30 (27)
3rd instar larva	4.70±1.83 (44)	9.69±2.52 (16)
4th instar larva	4.03±1.00 (38)	9.33±2.58 (6)
5th instar larva	7.83±1.14 (36)	9.67±2.36 (3)
Larval	22.31±3.03 (36)	32.00±2.78 (3)
Pupa	14.73±0.60 (30)	—
Larva to Pupa	36.00±2.16 (30)	—

1) n in parentheses is the number of observed.

三、頭殼寬度

以爬森藤葉片和半合成人工飼料飼養的大白斑蝶各齡期幼蟲頭殼寬度如表 3。兩組幼蟲的頭殼寬度皆隨齡期增長而增大，且增大趨勢類似。葉片組第一齡至第五齡幼蟲頭殼寬度分別為 0.74、1.21、1.89、2.89、4.10 mm、但飼料組缺乏第五齡幼蟲的數據，從第一齡至第四齡幼蟲頭殼寬度各為 0.82、1.25、1.68、2.80 mm；由此可知，葉片組的第一齡和第二齡幼蟲頭殼寬度較飼料組較窄，而第三齡和第四齡幼蟲的頭殼寬度則相反。

大白斑蝶第五齡幼蟲通常為進入蛹期前的末齡幼蟲，但其頭殼寬度若低於化蛹閾值時，幼蟲就不化蛹而會反覆蛻皮增加齡期，以達到此閾值。由本試驗結果可知，葉片組幼蟲頭殼寬度得超過 4.10 mm，而飼料組因末齡幼蟲皆未化蛹而未知。此結果與 Chen *et al.* (2013) 所得兩組化蛹閾值均為 4.11 mm 相近。

表 3. 爬森藤葉片與半合成人工飼料飼育的大白斑蝶各齡期幼蟲頭殼寬度
Table 3. The head capsule width of each instar larva of *Idea leuconoe clara* reared with *Parsonia alboflavescens* leaves and semi-synthetic artificial diet

Larval stage	Head capsule width (Mean±SE, mm) (n) ¹⁾	
	<i>Parsonia alboflavescens</i> leaves	Artificial diet
1st instar larva	0.74±0.05 (50)	0.82±0.03 (27)
2nd instar larva	1.21±0.07 (44)	1.25±0.06 (17)
3rd instar larva	1.89±0.09 (38)	1.68±0.11 (8)
4th instar larva	2.89±0.11 (36)	2.80±0.12 (3)
5th instar larva	4.10±0.20 (35)	—

1) n in parentheses is the number of observed.

將本種各齡期幼蟲連續齡期的次一齡期與前一齡期平均頭殼寬度相除，可得到表 4。其中葉片組幼蟲頭殼寬度隨齡期以 1.42-1.64 倍增

長，平均為 1.54 ± 0.05 倍，而飼料組則以 1.34-1.67 倍增長，平均為 1.51 ± 0.08 倍，即兩組幼蟲的頭殼寬度皆隨齡期增長以平均約 1.5 倍呈等比增加，符合戴爾法則。此結果與 Chen *et al.* (2013) 所得葉片組和飼料組平均各為 1.50 ± 0.05 和 1.53 ± 0.09 的比值近似。

表 4. 爬森藤葉片與半合成人工飼料飼育的大白斑蝶各齡期幼蟲次一齡期和前一齡期之平均頭殼寬度比

Table 4. The average ratio of head capsule width of the subsequent divided by this instar larva of *Idea leuconoe clara* reared with *Parsonia alboflavescens* leaves and semi-synthetic artificial diet

Larval stage	Average ratio of head capsule width of next instar divided by this instar	
	<i>Parsonia alboflavescens</i> leaves	Artificial diet
2nd / 1st instar	1.64	1.52
3rd / 2nd instar	1.56	1.34
4th / 3rd instar	1.53	1.67
5th / 4th instar	1.42	—
Average	1.54 ± 0.05	1.51 ± 0.08

將頭殼寬度的常用對數 (Y) 與齡期 (X) 之關係以直線迴歸分析結果如圖 1。葉片組和飼料組的直線迴歸方程式及迴歸係數 R^2 各為 $Y = -0.2991 + 0.1865 X$ ($R^2 = 0.9963^{**}$) 及 $Y = -0.2613 + 0.1728 X$ ($R^2 = 0.9902^{**}$)，迴歸係數經 t 測驗分析得知，均存在極顯著之正相關關係 ($p < 0.01$)，表示此兩條迴歸直線皆存在，意即本種無論以爬森藤葉片或半合成人工飼料飼養所得幼蟲之頭殼寬度常用對數確隨齡期增加而呈直線關係增加。

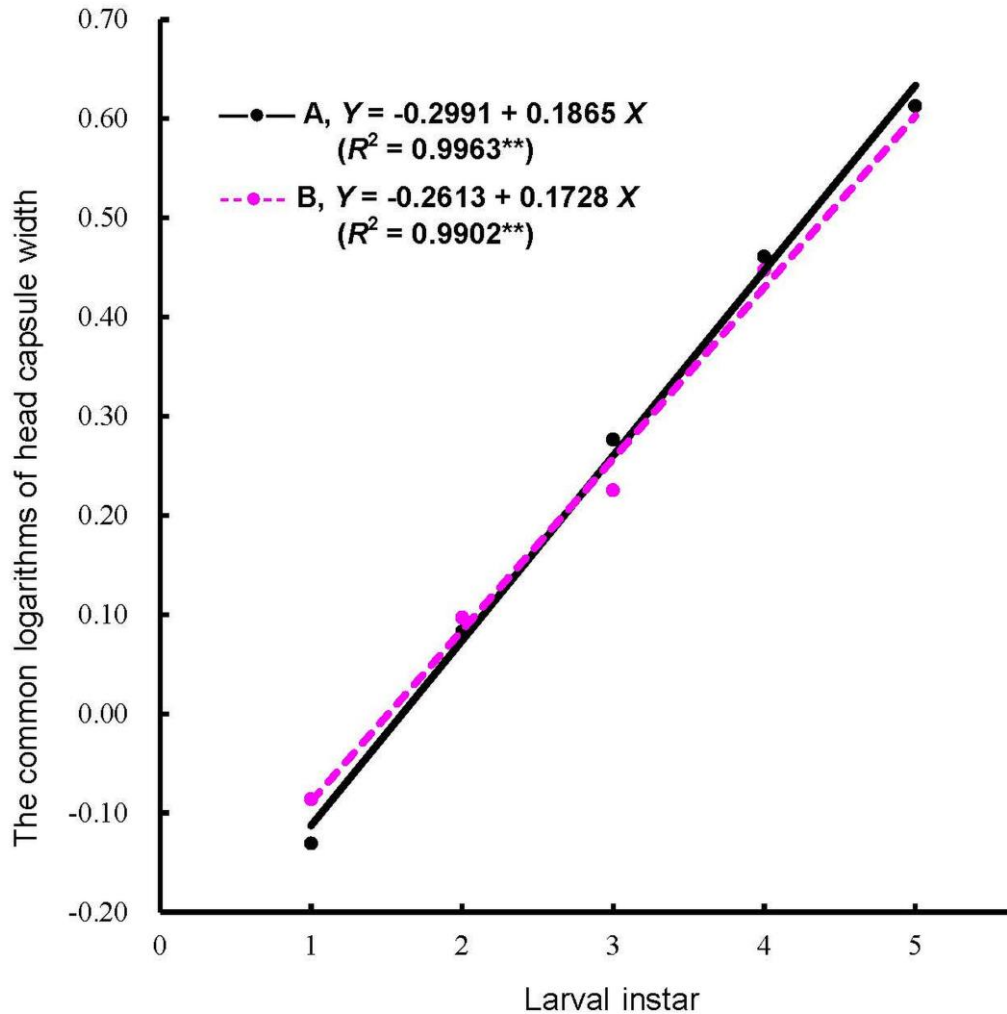


圖 1. 爬森藤葉片 (A) 與半合成人工飼料 (B) 飼育的大白斑蝶各齡期幼蟲頭殼寬度常用對數 (Y) 和齡期 (X) 之關係。

Fig. 1. The relationship between the common logarithms of head capsule width of larval stage and each instar of *Idea leuconoe clara* reared with *Parsonia alboflavescens* leaves (A) and semi-synthetic artificial diet (B).

四、體長

以爬森藤葉片和半合成人工飼料飼養的本種各齡期幼蟲體長如表 5。兩組幼蟲的體長皆隨齡期增加而增長，且增長趨勢類似。葉片組第一齡至第五齡幼蟲體長分別為 4.08、9.16、14.11、22.15、34.93 mm、飼料組依序各為 3.29、8.25、13.13、18.79、29.99 mm，由此可知，葉片組的各齡期幼蟲體長均長於飼料組。但本試驗第五齡幼蟲體長與 Chen *et al.* (2013) 所得葉片組和飼料組平均各為 31.16 ± 0.28 和 $32.48 \pm$

0.41 mm 的飼料組體長較長之結果相反。

表 5. 爬森藤葉片與半合成人工飼料飼育的大白斑蝶各齡期幼蟲體長

Table 5. The body length of each instar larva of *Papilio protenor amaura* reared with *Parsonia alboflavescens* leaves and semi-synthetic artificial diet

Life Stage	Body length (Mean±SE, mm) (n) ¹⁾	
	<i>Parsonia alboflavescens</i> leaves	Artificial diet
1st instar larva	4.08±0.41 (50)	3.29±0.11 (50)
2nd instar larva	9.16±0.63 (50)	8.25±0.65 (27)
3rd instar larva	14.11±0.81 (44)	13.13±0.80 (17)
4th instar larva	22.15±1.96 (38)	18.79±1.17 (8)
5th instar larva	34.93±2.12 (36)	29.99±1.50 (3)

1) n in parentheses is the number of observed.

表 6. 爬森藤葉片與半合成人工飼料飼育的大白斑蝶各齡期幼蟲次一齡期和前一齡期之平均體長比

Table 6. The average ratio of body length of the subsequent divided by this instar larva of *Idea leuconoe clara* reared with *Parsonia alboflavescens* leaves and semi-synthetic artificial diet

Larval stage	Average ratio of body length of next instar divided by this instar	
	<i>Parsonia alboflavescens</i> leaves	Artificial diet
2nd / 1st instar	2.25	2.51
3rd / 2nd instar	1.54	1.59
4th / 3rd instat	1.57	1.43
5th / 4th instar	1.58	1.60
Average	1.73±0.17	1.78±0.25

將本種各齡期幼蟲連續齡期的次一齡期與前一齡期平均體長相除，可得到表 6。其中葉片組幼蟲體長隨齡期以 1.54-2.25 倍增長，平均為 1.73 ± 0.17 倍，而飼料組則以 1.43-2.51 倍增長，平均為 1.78 ± 0.25 倍，即兩組幼蟲的體長皆隨齡期增長以平均約 1.7 倍呈等比增加，符合戴爾法則。

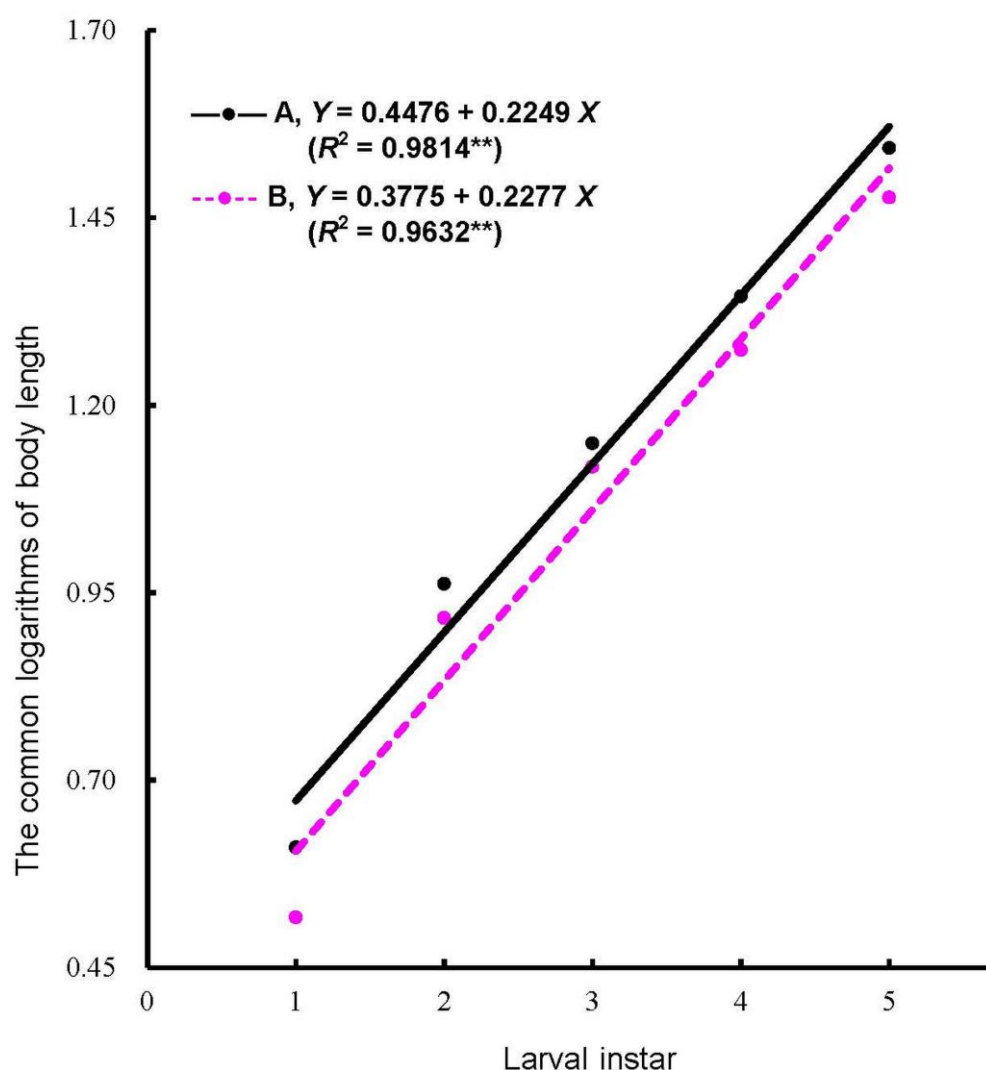


圖 2. 爬森藤葉片 (A) 與半合成人工飼料 (B) 飼育的大白斑蝶各齡期幼蟲體長常用對數 (Y) 和齡期 (X) 之關係。

Fig. 2. The relationship between the common logarithms of body length of larval stage and each instar of *Idea leuconoe clara* reared with *Parsonia laevigata* leaves (A) and semi-synthetic artificial diet (B).

將體長的常用對數 (Y) 與齡期 (X) 之關係以直線迴歸分析結果如圖 2。葉片組和飼料組的直線迴歸方程式及迴歸係數 R^2 各為 $Y=0.4476+0.2249 X$ ($R^2=0.9814^{**}$) 及 $Y=0.3775+0.2277 X$ ($R^2=0.9632^{**}$)，迴歸係數經 t 測驗分析得知，均存在極顯著之正相關關係 ($p<0.01$)，表示此兩條迴歸直線皆存在，意即本種無論以爬森藤葉片或半合成人工飼料飼養所得幼蟲之體長常用對數確隨齡期增加而呈直線關係增加。

五、蛹重、成蝶重、翅長、翅寬及性比

表 7. 爬森藤葉片飼育的大白斑蝶蛹重、成蝶重、翅長、翅寬、雌雄蝶數及性比
Table 7. The pupal weight, adult weight, wing length, wing width, number of male and female, and sex ratio of *Idea leuconoe clara* reared with *Parsonia alboflavescens* leaves

Measure item (unit)	Weight, length, or width (Mean±SE, mm) (n) ¹⁾	
Pupal weight (g)	1.74±0.10 (30)	
Adult weight (g)	0.57±0.06 (30)	
Wing length (mm)	63.59±1.87 (29)	
Wing width (mm)	42.69±1.62 (29)	
No. of male	No. of female	Sex ratio ²⁾
14	16	1:1

1) n in parentheses is the number of observed.

2) The sex ratio was calculated by Chi-Square Test for Goodness of Fit.

以爬森藤葉片飼養的大白斑蝶蛹重、成蝶重、翅長、翅寬、雌雄蝶數及性比結果列於表 7。其中蛹重為 1.74±0.10 g，成蝶重為 0.57±0.06 g，在羽化的成蝶中，有 1 隻雌蝶的翅膀皺縮，本試驗僅測量正常成蝶的翅長及翅寬，故計算時扣除 1 隻，結果成蝶翅長為 63.59±1.87 mm，翅寬為 42.69±1.62 mm。這些數據均等於或略小於 Chen *et al.* (2013) 所

得葉片組蛹重 1.74 ± 0.03 g、成蟲重 0.59 ± 0.01 g、翅長 64.57 ± 0.34 mm、翅寬 43.97 ± 0.30 mm 的結果。成蝶中有 14 隻雄蝶和 16 隻雌蝶，以卡方 (X^2) 適合性測驗分析結果有顯著性差異 ($p < 0.05$)，這兩組的成蝶性比均符合 1:1。

就整體結果來看，本試驗以半合成人工飼料飼養，雖然存活率僅 6%，且只發育至幼蟲期，根本無法化蛹和羽化成蝶，且幼蟲期發育日數較葉片組長約 10 日，飼料組的第四齡或第五齡幼蟲的頭殼寬度和體長（體型）也較葉片組小，故得知本次使用的人工飼料並無實用價值，必須再研究改良。

本試驗使用的人工飼料配方（附錄 1）是以 Chen *et al.* (2013) 的配方改良，因該試驗所得成蝶的翅膀皺縮比例較高，故參考 Holloway *et al.* (1991) 報導以人工飼料飼養 *Bicyclus* 屬蝴蝶的成蟲翅膀普遍殘缺，經添加亞麻仁油（linseed oil）至該次試驗飼料中而解決，並成功地飼養三種 *Bicyclus* 屬（*B. anynana*, *B. safitza*, and *B. ena*）蝴蝶的成果；在本次配方中增加亞麻仁油；另因 Morton (1979(81)) 指出大部分植食性昆蟲需要誘食劑去引起取食行為，通常可由添加 1.5-2.0% 的乾燥寄主葉片來當作誘食劑，但有些報告會添加超過 40% 的植物材料（Morton, 1979(81)），因此本試驗亦提高該配方僅含 2.57% 乾燥的寄主植物爬藤葉粉比例，並相對調整配方中其中成分的比例而成。

然而原本 Chen *et al.* (2013) 的幼蟲期存活率，葉片組和飼料組分別為 88.3% 及 72.4%，且兩組皆能飼養出成蝶，本次改良之配方效果反而較差，飼料組僅能生長至幼蟲期，無法完成後續發育階段，其原因不明，仍待後續研究改善，以期配製出能達到與寄主植物效果相當的半合成人工飼料。

參考文獻

- Chen S. C., S. C. Ou-Yang, C. W. Chien, F. S. Chen, and M. H. Ji. 2013. Preliminary study of semi-synthetic artificial diet for the *Idea leuconoe*

clara (Butler) (Lepidoptera: Nymphalidae). Ilan University Journal of Bioresources, 9: 59-75.

Holloway, G. J., P. M. Brakefield, S. Kofman, and J. J. Windig. 1991. An artificial diet for butterflies, including *Bicyclus* species, and its effect on development period, weight and wing pattern. J. Res. Lepid., 30(1-2): 121-128.

Leong, K. L. H. 2001. Semi-artificial monarch butterfly larval diet. FreePatentsOnline.com, United States Patent, US 6,180,147 B1. (Filing Date: 12/17/1998).

Morton, A. C. 1979(81). Rearing butterflies on artificial diet. J. Res. Lepid., 18(4): 221-227.

Singh, P. and G. K. Clare. 1988. A note on rearing of the monarch butterfly, *Danaus plexippus* (L.) on an artificial diet. New Zealand Entomologist, 11: 73- 75.

Yoshio, M. and M. Ishii. 1996. Rearing larvae of the Great Mormon butterfly, *Papilio memnon* L. (Lepidoptera: Papilionidae), on artificial diet. Jpn. J. Ent., 64(1): 30-34.