



УДК: 632.771

## Методика изготовления микропрепаратов кровососущих комаров и мошек (Diptera: Culicidae: Simuliidae)

А.В. Халин\* и С.В. Айбулатов

Зоологический институт Российской академии наук, Университетская наб. 1, 199034 Санкт-Петербург, Россия; e-mails: alexei.khalin@zin.ru, hallisimo@yandex.ru, sergei.aibulato@zin.ru, s.v.aibulato@gmail.com

Представлена 30 января 2023; после доработки 12 июня 2023; принята 31 августа 2023.

### РЕЗЮМЕ

Приведены практические рекомендации по изготовлению временных и постоянных микропрепаратов кровососущих комаров и мошек (Diptera: Culicidae: Simuliidae). Рассмотрены приемы препарирования, которые позволяют в дальнейшем наиболее полно исследовать диагностические признаки сем. Culicidae и Simuliidae и корректно определять экземпляры. Данные методики мы считаем наиболее рациональными и используем в течение многих лет с целью изучения морфологии кровососущих комаров и мошек. После изложения начальных этапов работы с препариремым объектом приводятся особенности изготовления постоянных и временных микропрепаратов (с использованием глицерина, канадского бальзама и эушарала). Подробно описаны приемы препарирования личинок и имаго (самцов и самок) кровососущих комаров и мошек, а также куколок сем. Simuliidae. Данные процедуры существенно различаются в каждом семействе и в каждой фазе жизненного цикла. Дополнительно приводится методика работы с поврежденным материалом (например, в результате высыхания фиксирующей жидкости). Впервые детально рассмотрена процедура фиксации диагностических признаков, которые утрачиваются при препарировании экземпляров мошек. Перечислены структуры личинок, куколок и имаго сем. Simuliidae, признаки которых необходимо охарактеризовать до изготовления постоянных микропрепаратов. Показано, что некоторые структуры (например, гениталии самцов сем. Culicidae и Simuliidae) необходимо предварительно исследовать на временных микропрепаратах, после чего изготавливать постоянные препараты.

**Ключевые слова:** имаго, кровососущие комары, куколка, личинка, методика, микропрепараты, мошки, Culicidae, Diptera, Simuliidae

## Preparation techniques for the mosquitoes and the blackflies (Diptera: Culicidae: Simuliidae)

A.V. Khalin\* and S.V. Aibulato

Zoological Institute of the Russian Academy of Sciences, Universitetskaya Emb. 1, 199034 Saint Petersburg, Russia; e-mails: alexei.khalin@zin.ru, hallisimo@yandex.ru, sergei.aibulato@zin.ru, s.v.aibulato@gmail.com

Submitted January, 30, 2023; revised June, 12, 2023; accepted August, 31, 2023.

### ABSTRACT

Preparation techniques are given for making permanent or nonpermanent microscope slides of the mosquitoes and the blackflies (Diptera: Culicidae: Simuliidae). We mention here only those that we have personally found to

\* Автор-корреспондент / Corresponding author

be most satisfactory in the order to further study the morphology of dipterans. These techniques are required for a detailed examination of the diagnostic characters of mosquitoes and blackflies, as a result, to correctly identify the specimens. First, the general stages of processing specimens are considered, then the specifics for making permanent or nonpermanent microscope slides are given (in glycerin, Canadian balsam and euparal). Preparation techniques of larvae and adults (males and females) of mosquitoes and blackflies, as well as blackfly pupae, are discussed in detail, because these processes differ in each group and in each stage of the life cycle. Moreover, we give the technique for damaged material (i.e., as a result of loss of fixing fluid). For the first time, the description of diagnostic characters that are lost during the preparation is considered in detail. We have specified the structures of blackfly larvae, pupae and adults, whose characters must be described before making permanent microscope slides. We consider that some structures (i.e., the male genitalia of fam. Culicidae and Simuliidae) should be pre-examined on nonpermanent microscope slides, and then permanent slides can be made.

**Key words:** adult, mosquitoes, pupa, larva, preparation technique, microscope slides, blackflies, Culicidae, Diptera, Simuliidae

## ВВЕДЕНИЕ

Кровососущие комары (Diptera, Culicidae) и мошки (Simuliidae) представляют собой значительный компонент комплекса гнуса на территории Палеарктики. Поскольку самки многих видов сем. Culicidae и Simuliidae питаются кровью позвоночных животных (в т.ч. человека), актуальность этих насекомых не вызывает сомнений. Некоторые виды кровососущих комаров и мошек переносят возбудителей заболеваний (малярийных плазмодиев, вирусов, нематод и др.), зачастую имеет место видоспецифическая передача возбудителя. Для точного определения переносчика нередко требуется изготовление препаратов, которые должны в полной мере демонстрировать диагностические признаки кровососущих комаров и мошек, поэтому специалистам, работающим с данными группами кровососущих двукрылых, необходимы определенные навыки препарирования.

Методики сбора и фиксации кровососущих двукрылых были рассмотрены нами ранее (Халин и др. [Khalin et al.] 2021). В настоящей статье описан следующий этап работы с материалом – изготовление препаратов. В целом алгоритм изготовления постоянных и временных препаратов с использованием различных фиксирующих жидкостей – стандартный для ряда насекомых и описан во многих пособиях (Павловский [Pavlovskiy] 1957; Штакельберг [Stackelberg] 1969; Martin 1977; Нарчук [Nartshuk] 2003; Голуб и др. [Golub et al.] 2021), однако процедуры препарирования личинки, куколки и имаго у кровососущих комаров (Павловский [Pavlovskiy] 1935; Мончад-

ский [Monchadsky] 1936; Маслов [Maslov] 1962; Гутевич и др. [Gutsevich et al.] 1970; Belkin 1962, Becker et al. 2020) и у мошек (Рубцов [Rubtsov] 1956a, b; Усова [Usova] 1961; Янковский [Yankovsky] 2002; Adler et al. 2004) различаются. В настоящей статье приведены приемы изготовления постоянных и временных препаратов, которые мы считаем наиболее рациональными и используем в течение многих лет с целью дальнейшего определения кровососущих комаров и мошек. Остальные методы, в т.ч. специальные: изготовление гистологических срезов, исследование слюнных желез, содержимого желудка (Павловский [Pavlovskiy] 1935), подготовка объекта для электронного микроскопа, нами детально не рассматриваются. Кроме того, мы не приводим алгоритм препарирования куколок и гениталий самок кровососущих комаров. Изготовление микропрепаратов куколок сем. Culicidae рассмотрено у Дж.Н. Белкина (Belkin 1962), а гениталий самок – у В. Мори́га (Mohrig 1969), Е.Н. Рязанцевой ([Rjazantzeva] 1970) и Дж.Ф. Рейнерта (Reinert 2000a). Данные по описанию куколок и гениталий самок для видов сем. Culicidae фауны РФ фрагментарны, а определительные таблицы неполные. Например, у М.И. Волковой ([Volkova] 1962) описано строение куколок комаров Поволжья, а у В. Мори́га (Mohrig 1967, 1969), Е.Н. Рязанцевой ([Rjazantzeva] 1972) и Дж.Ф. Рейнерта (Reinert 2000b) – генитальный аппарат самок некоторых видов рода *Aedes* Meigen, 1818.

Иногда для определения видов изготовления препаратов не требуется. Так, диагностика самок кровососущих комаров основана на признаках хетома: расположение щетинок и чешуек

на груди и брюшке, однако при утрате чешуек и щетинок целесообразно изготовление микропрепаратов груди (Халин и Айбулатов [Khalin and Aibulatov] 2012) или головы (Гуцевич [Gutsevich] 1972).

В ходе изготовления препаратов экземпляры претерпевают существенные изменения: при обработке реактивами деформируются покровы и внутренние структуры, а при препарировании утрачивается целостность самого объекта, поэтому на препаратах можно изучить не все структуры, признаки которых используются для определения кровососущих комаров и мошек. Имеются такие элементы морфологии, которые нужно охарактеризовать до изготовления постоянных микропрепаратов. Данные структуры и диагностические признаки, состояния которых утрачиваются при препарировании (допрепаратные признаки), впервые подробно рассмотрены в рамках настоящей статьи.

Изложение материала в статье приводится в следующем порядке. Сначала дана общая информация об изготовлении препаратов, т.е. этапы монтировки, общие для постоянных и временных микропрепаратов. После этого охарактеризованы особенности изготовления постоянных и временных препаратов. Приемы препарирования и фиксация допрепаратных признаков рассматриваются отдельно для личинок, куколок и имаго каждого семейства. Таким образом, специалисты, начинающие изучение кровососущих комаров и мошек, без труда смогут научиться делать препараты требуемых объектов.

Временные препараты отличаются от постоянных не только процедурой монтировки, но и целевым назначением. Так, временные препараты просты в изготовлении, не требуют больших временных затрат и специальных реактивов. Кроме того, они удобны для определения материала (в т.ч. массового, на них можно поворачивать объект, исследуя его под разными ракурсами). Например, изучение таких сложных структур гениталий самцов кровососущих комаров, как кокситы и класпеты (Рис. 1, 2), целесообразно проводить на временных препаратах. Вместе с тем временные препараты не подходят ни для транспортировки, ни для длительного хранения, поэтому перевозить следует наколотый материал, постоянные препараты, либо материал в фиксирующих жидкостях (этанол,

жидкость Карнуа и т.д.). Для длительного хранения материала (особенно представляющего высокую научную ценность: типовые экземпляры, материал из труднодоступных мест и т.п.) предпочтительно изготовление постоянных препаратов. Также постоянные препараты больше подходят для хранения легко повреждаемых объектов (личинки кровососущих комаров и особенно личинные шкурки личинок), а также структур, разделенных на малые фрагменты (имаго и личинки мошек). Детальное исследование скелетных микроструктур (например, зубцы гребня сифона и чешуйки щетки личинок кровососущих комаров, Рис. 3, 4) под большими увеличениями (в т.ч. с использованием иммерсии) также предпочтительнее проводить на постоянных препаратах.

**Сокращения учреждений.** ЗИН (ZIN), Зоологический институт Российской академии наук (Санкт-Петербург, Россия).

В работе использовались материалы коллекции ЗИН.

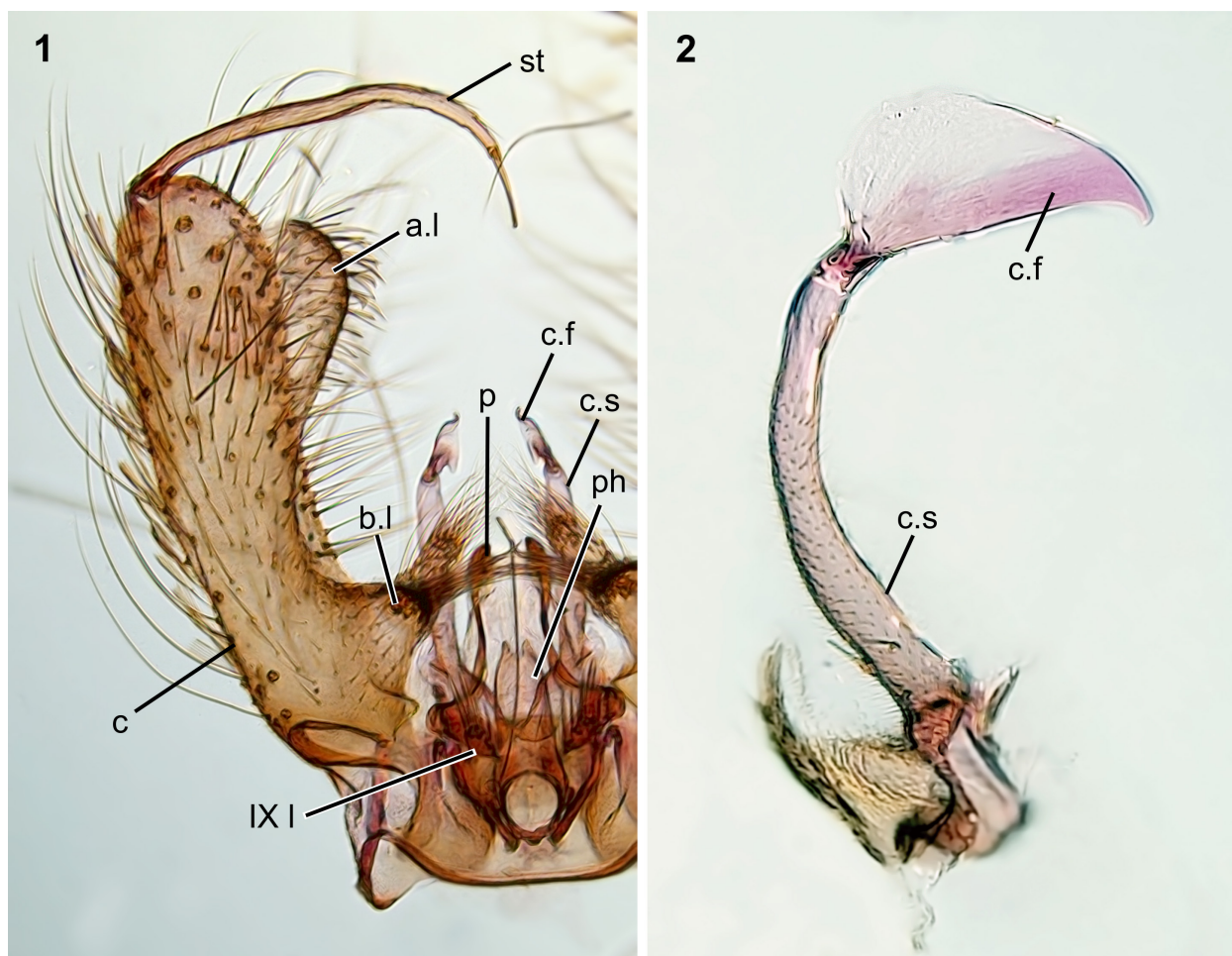
Авторы придерживаются классификаций Р. Вилкерсона с соавт. (Wilkerson et al. 2021) для сем. Culicidae и Адлера (Adler 2022) для сем. Simuliidae.

## **ОБЩАЯ МЕТОДИКА ИЗГОТОВЛЕНИЯ ПРЕПАРАТОВ**

### **Начальные этапы препарирования**

Процедуры фиксации допрепаратных признаков, просветления, препарирования и размещения экземпляра на предметном стекле одинаковы при изготовлении постоянных и временных препаратов. Ниже приведены начальные этапы монтировки, общие для постоянных и временных микропрепаратов.

Наиболее удобно препарировать кровососущих комаров и мошек при помощи пинцета с тонкими браншами, препаровальных игл, микроскальпелей или микроножниц. Пинцет (иногда – также и препаровальные иглы) позволяет удерживать препарируемый объект, а микроскальпели и микроножницы – отделять необходимую структуру. В некоторых случаях требуется сохранить фрагмент тела насекомого в этаноле для дополнительных исследований (например, молекулярно-генетических). Так, у личинок кровососущих комаров и мошек



**Рис. 1, 2.** *Aedes cantans* (Meigen, 1818), гениталии самца, постоянный препарат в эупарале, окрашивание кислым фуксином. 1 – общий вид снизу, 2 – класпеты сбоку. **Обозначения:** a.l и b.l – верхняя и базальная бородавки коксита; c.f и c.s – крыло и ствол класпеты; c – коксит; p – парапрокт; ph – фаллосома; st – стиль; IX I – лопасти IX тергита.

**Figs 1, 2.** *Aedes cantans* (Meigen, 1818), male genitalia, euparal slide with acid fuchsin. 1 – dorsal view, 2 – claspette, lateral view. **Designations:** a.l and b.l – apical and basal lobes of coxite; c.f and c.s – claspette filament and claspette stem; c – coxite; p – paraproct; ph – phallosome; st – stylus; IX I – lobes of tergum IX.

рекомендуется сохранить в этаноле среднюю часть брюшка, у имаго – 1 или 2 ноги (при условии, что парные ноги останутся для препарата). У имаго и куколок мошек для дополнительных исследований также можно сохранить грудь насекомого.

Экземпляры, хранящиеся в сухом виде, рекомендуется поместить на 30–60 мин. в горячую воду при температуре от 70 до 90 °С для размягчения покровов. Для нагревания малого объема воды, а также ряда других жидкостей, можно использовать бытовую микроволновую печь. Следует убедиться, что экземпляр цели-

ком погрузился под воду, а не плавает на поверхности. Если исследуемый объект хранился в этаноле, то данная процедура не требуется, и экземпляр сразу обрабатывают насыщенным водным раствором щелочи с целью просветления внутренних структур (жирового тела, мускулатуры и пр.). Рекомендуется поместить объект в горячий раствор щелочи, не доводя до кипения (во избежание деформации тонких скелетных структур насекомых). Температура раствора щелочи и время обработки могут быть различны и подбираются опытным путем так, чтобы просветлились внутренние структуры,

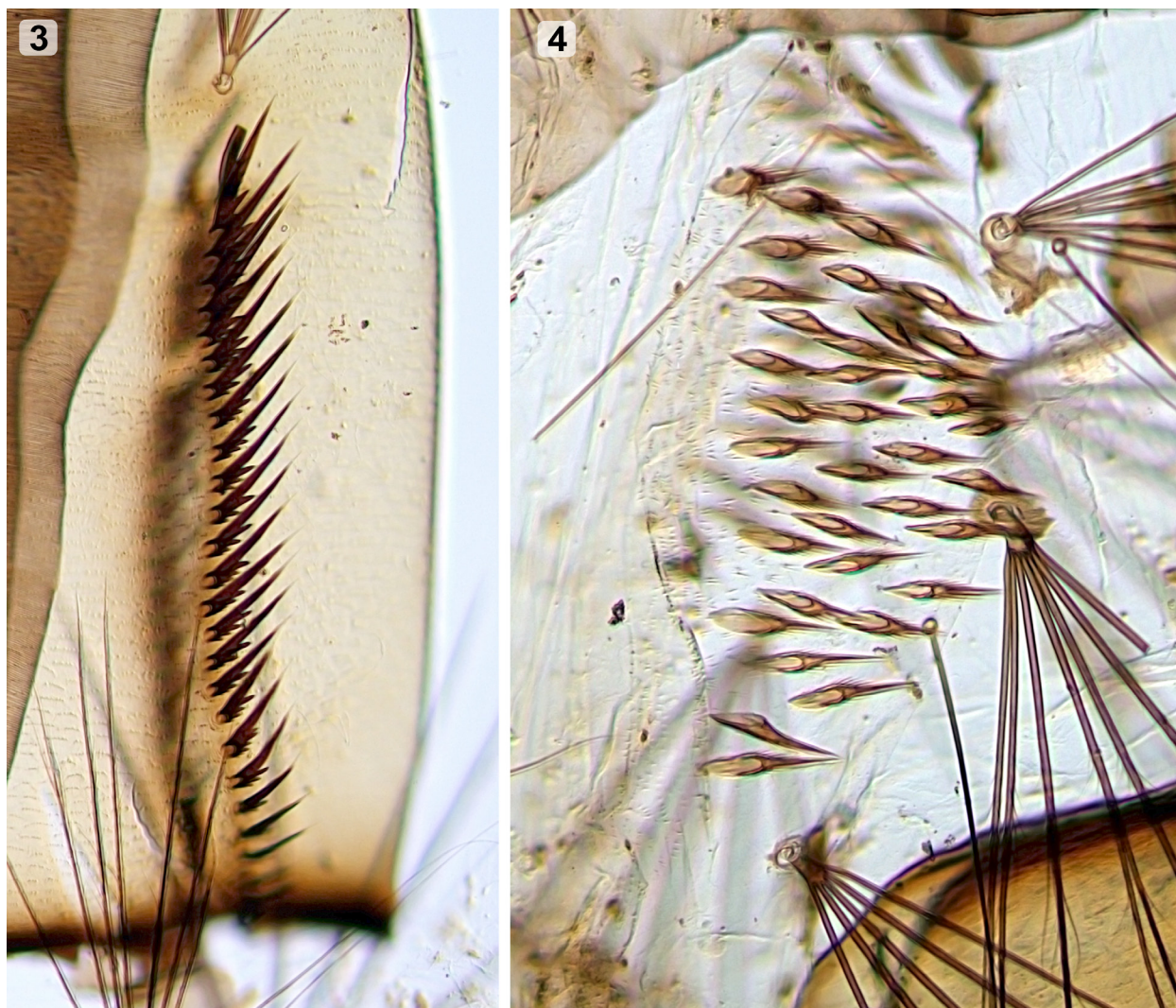


Рис. 3, 4. *Aedes cantans*, личинка, сбоку, постоянный препарат в эупарале. 3 – гребень сифона, 4 – щетка.

Figs 3, 4. *Aedes cantans*, larva, lateral view, euparal slide. 3 – pecten teeth, 4 – comb scales.

но не покровы. Например, гениталии самцов или голову самки кровососущих комаров рекомендуется поместить в раствор щелочи при температуре 80–90 °С на 5–10 мин. Личинок, куколок и имаго мошек обрабатывают щелочью при температуре 70–80 °С в течение 30–40 мин. или при комнатной температуре в течение 8–24 ч. (в зависимости от размера и степени склеротизации покровов экземпляров). В ряде случаев предварительная обработка щелочью не требуется (например, для личинок кровососущих комаров, кокона куколок и крыльев имаго мошек).

После обработки щелочью экземпляр нужно хорошо промыть в дистиллированной воде от остатков щелочи (иначе он будет продолжать просветляться). Для этого достаточно поместить объект в чашку Петри с водой на 30–60 мин. Дальнейшая процедура монтировки различна при изготовлении временных и постоянных препаратов.

#### Временные препараты

Исследуемый экземпляр помещается в каплю водного раствора глицерина (рекомендуемая концентрация 60–70%) на предметном стекле,

где располагается под нужным ракурсом и препарируется (отделяются необходимые структуры, см. ниже разделы «Препарирование...»). Для крупных экземпляров удобнее использовать стекло с лункой. После окончания препарирования капля глицерина с объектом накрывается покровным стеклом, и временный микропрепарат готов для исследования методами световой микроскопии.

После завершения работы с временным препаратом возможно дальнейшее хранение объекта в фиксирующей жидкости (этанол или спиртовой раствор глицерина 50–70%). Например, можно поместить изученный объект в пробирку с герметичной крышкой, указав на этикетке, какому экземпляру соответствует данный препарат. Альтернативный вариант – это изготовление постоянных препаратов, однако в случае работы с массовым материалом иногда после определения приходится избавляться от исследованных экземпляров (если их хранение нерационально, а изготовление постоянных препаратов затруднено).

### Постоянные препараты

Возможны различные приемы изготовления постоянных препаратов в зависимости от жидкости, в которой осуществляется конечная фиксация объекта. Мы рекомендуем использовать либо канадский бальзам (смола пихты бальзамической, *Abies balsamea*), либо эупарал (сложная многокомпонентная жидкость). Процедура изготовления препаратов в эупарале проще, чем в канадском бальзаме, и требует меньшего времени и меньшего набора используемых реактивов.

При фиксации в канадском бальзаме объект следует сначала поместить на 3 часа в 50% раствор этанола (если экземпляр до этого не хранился в этаноле). Далее объект помещается примерно на 3 часа в 70% этанол, после чего в 98% этанол (3 часа), абсолютный этанол (1 час), гвоздичное (или лавандовое) масло (3 часа) и ксилол (1 час). В 70% и 98% этаноле, а также в масле при необходимости можно оставить объект на длительное время. Если экземпляр изначально был фиксирован в 70% или 98% этаноле, то помещать его в 50% этанол не нужно.

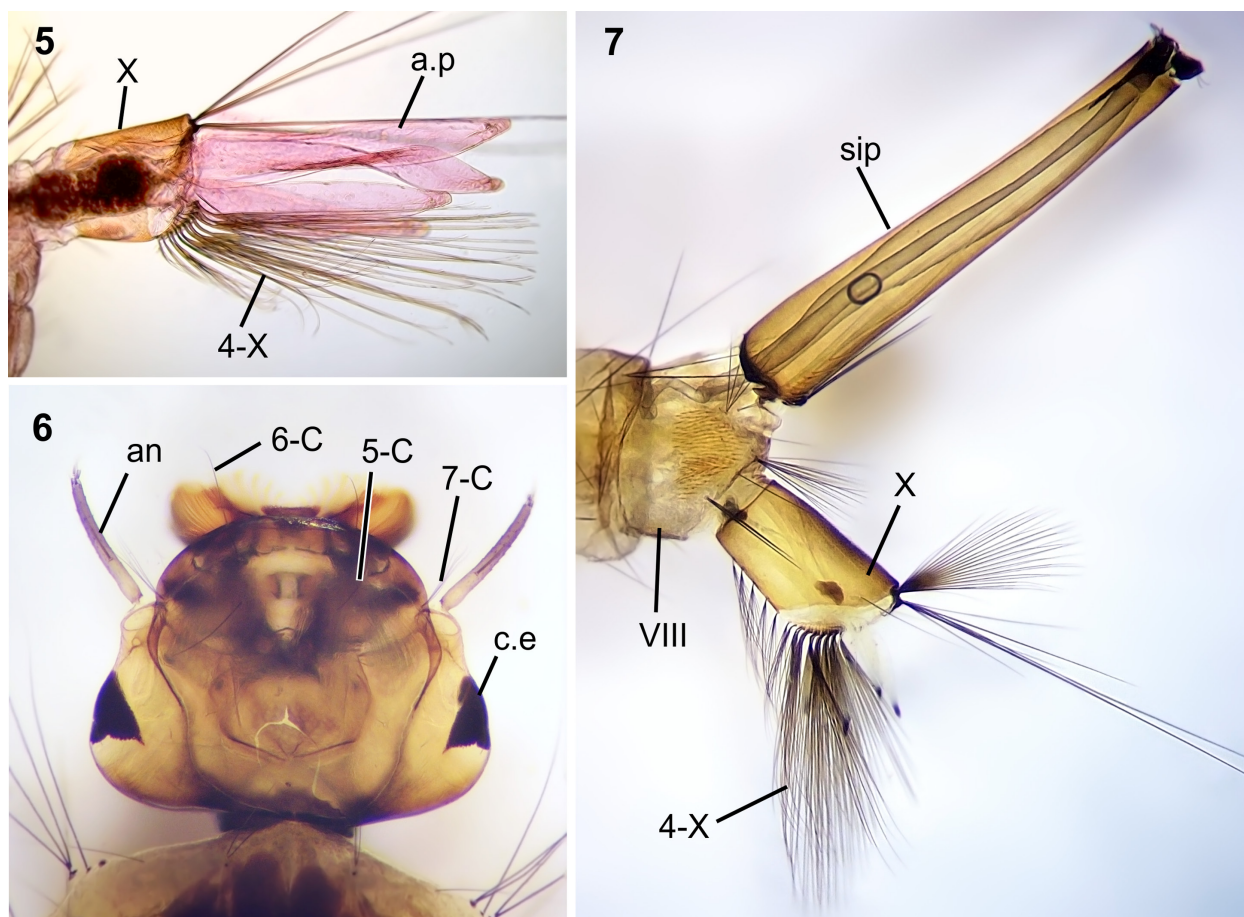
Изготовление препаратов в эупарале гораздо проще: объект сначала помещается на 3 часа

в 98% этанол, после чего на – 1 час в абсолютный этанол.

На следующем этапе необходимо поместить каплю канадского бальзама или эупарала на предметное стекло и расположить в центре капли исследуемый объект. При использовании эупарала следует по возможности удалить остатки этанола, поместив объект на фильтровальную бумагу в течение несколько секунд, не допуская высыхания экземпляра. Далее, как и при изготовлении временных препаратов, объект располагается под нужным ракурсом и препарируется. Следует помнить, что фиксирующие жидкости довольно быстро загустевают, поэтому время препарирования ограничено 5–10 минутами. Однако для придания экземпляру нужного положения на препарате рекомендуется подождать, пока фиксатор загустеет: 3–5 мин. для эупарала и 10 мин. для бальзама (также нужно учитывать размер объекта и капли фиксирующей жидкости).

Каплю с бальзамом или эупаралом нужно накрыть покровным стеклом и разместить на препарате полную географическую и диагностическую (если экземпляр уже определен) этикетки, обозначить номер сбора и серию по допрепаратным признакам (для мошек см. раздел «Препарирование мошек»). Препарат следует положить горизонтально на лоток и на 2–4 недели поместить в термостат при температуре 40–60 °С, либо при комнатной температуре на 2–3 месяца в закрытой коробке (во избежание запыления). Периодически необходимо просматривать препараты во время сушки и добавлять бальзам или эупарал, если при высыхании под покровным стеклом скапливается воздух. Для этой цели удобно использовать небольшую пластиковую пипетку. Если требуется разместить на одном препарате мелкий и крупный объекты, предпочтительнее поместить их в отдельных каплях с разными покровными стеклами, иначе объект меньшего размера может сместиться и изменить ракурс в ходе накрывания общим покровным стеклом. Например, лучше располагать отдельно кокон куколки мошки и более мелкие детали строения куколки, а также окрылившегося имаго (см. раздел «Препарирование мошек»).

Иногда при изучении прозрачных объектов, таких как жабры личинок и класпеты самцов кровососущих комаров (Рис. 2, 5), ректальные



**Рис. 5–7.** Culicidae, личинка, постоянный препарат в эупарале. 5 – *Culex pipiens* Linnaeus, 1758, X членик брюшка сбоку, окрашивание кислым фуксином. 6 – *Aedes communis* (De Geer, 1776), голова сверху. 7 – *Culiseta morsitans* (Theobald, 1901), 8–10-й членики брюшка сбоку. **Обозначения:** an – усик; a.p – жабры; c.e – глаз; sad – седло; sip – сифон; 4-X – плавник; 5-C, 6-C и 7-C – внутренние, средние и наружные лобные волоски; VIII – 8-й членик брюшка.

**Figs 5–7.** Culicidae, larva, euparal slide. 5 – *Culex pipiens* Linnaeus, 1758, abdominal segment X, lateral view, slide with acid fuchsin. 6 – *Aedes communis* (De Geer, 1776), head, dorsal view. 7 – *Culiseta morsitans* (Theobald, 1901), abdominal segments VIII–X, lateral view. **Designations:** an – antenna; a.p – anal papillae; c.e – compound eye; sad – saddle; sip – siphon; 4-X – setae 4-X; 5-C, 6-C and 7-C – inner, median and outer frontal setae; VIII – abdominal segment VIII.

папиллы личинок мошек, целесообразно окрашивание экземпляров 0.01 %-водным раствором кислого фуксина. Объект обрабатывается красителем в течение 4–12 часов, после чего промывается в дистиллированной воде и проводится через реактивы (см. выше).

## ПРЕПАРИРОВАНИЕ КРОВСОСУЩИХ КОМАРОВ

### Личинка

Для определения родов и видов кровососущих комаров используются признаки личинок

4-го (последнего) возраста. Личинки 4-го возраста отличаются от личинок младших возрастов не только размерами, но и некоторыми количественными и качественными признаками (например, числом зубцов гребня сифона или чешуек щетки, степенью склеротизации сифона и седла). Во многих случаях личинки младших возрастов характеризуются малыми размерами седла и склеротизацией лишь части сифона. Определение личинок 1, 2 и 3-го возрастов затруднено, поэтому целесообразно делать препараты только из личинок 4-го возраста. На препаратах личинок должны быть хорошо

различимы структуры головы (лобные волоски, усики и т.д.) и элементы 8–10-го члеников брюшка (щетка, волоски и зубцы сифона, седло, плавник) (Рис. 3–7).

Ниже рассмотрено препарирование личинок 4-го возраста, а также недавно собранных личинок и материала, хранившегося в этаноле в течение многих лет (в т.ч. высохшего). Приемы работы с данными объектами имеют свои особенности, т.к. различаются характеристики самих экземпляров. Мы рекомендуем сразу делать постоянные препараты из личинок, т.е. без предварительного определения на временных препаратах. Любые дополнительные манипуляции с личинками, даже самые аккуратные, зачастую влекут за собой утрату волосков, важных для определения видов.

Проще всего делать препараты личинок шкурки личинок, фиксированной в 70% или 98% этаноле. Процедура обработки реактивами стандартная, но она должна быть максимально аккуратной во избежание повреждения объекта. В капле фиксирующей жидкости шкурка располагается таким образом, чтобы голова была ориентирована дорсальной поверхностью вверх, а последние членики брюшка – латеральной поверхностью вверх.

Препарирование личинок, хранившихся в этаноле менее 2–3 лет, отличается тем, что перед проведением через реактивы личинку следует разделить поперек в области 3–6 члеников брюшка (за исключением личинок рода *Anopheles* Meigen, 1818, разрезать которых не требуется). Далее передняя часть ориентируется дорсальной поверхностью вверх, а задняя – латеральной поверхностью вверх (Рис. 6, 7); личинки рода *Anopheles* располагаются дорсальной поверхностью вверх. Экземпляры некоторых видов могут быть сильно пигментированы, в таком случае для частичного просветления покровов можно поместить личинок в гвоздичное масло на 3–12 часов (в зависимости от размера).

Сложнее работать с личинками, хранившимися в этаноле более 3 лет, в результате чего произошло излишнее просветление покровных структур. Например, границы седла могут быть плохо различимы на фоне жирового тела и прочих внутренних структур личинки. В такой ситуации мы рекомендуем кратковременную обработку водным раствором щелочи (не более

2 мин. при температуре 50–70 °С), которой будет достаточно для просветления жирового тела. Более длительное нахождение личинки в щелочном растворе нежелательно, т.к. покровные структуры станут слишком прозрачными, а волоски могут утрачиваться. Дальнейшие манипуляции с личинкой после обработки щелочью и проводки через реактивы аналогичны работе с личинок шкуркой.

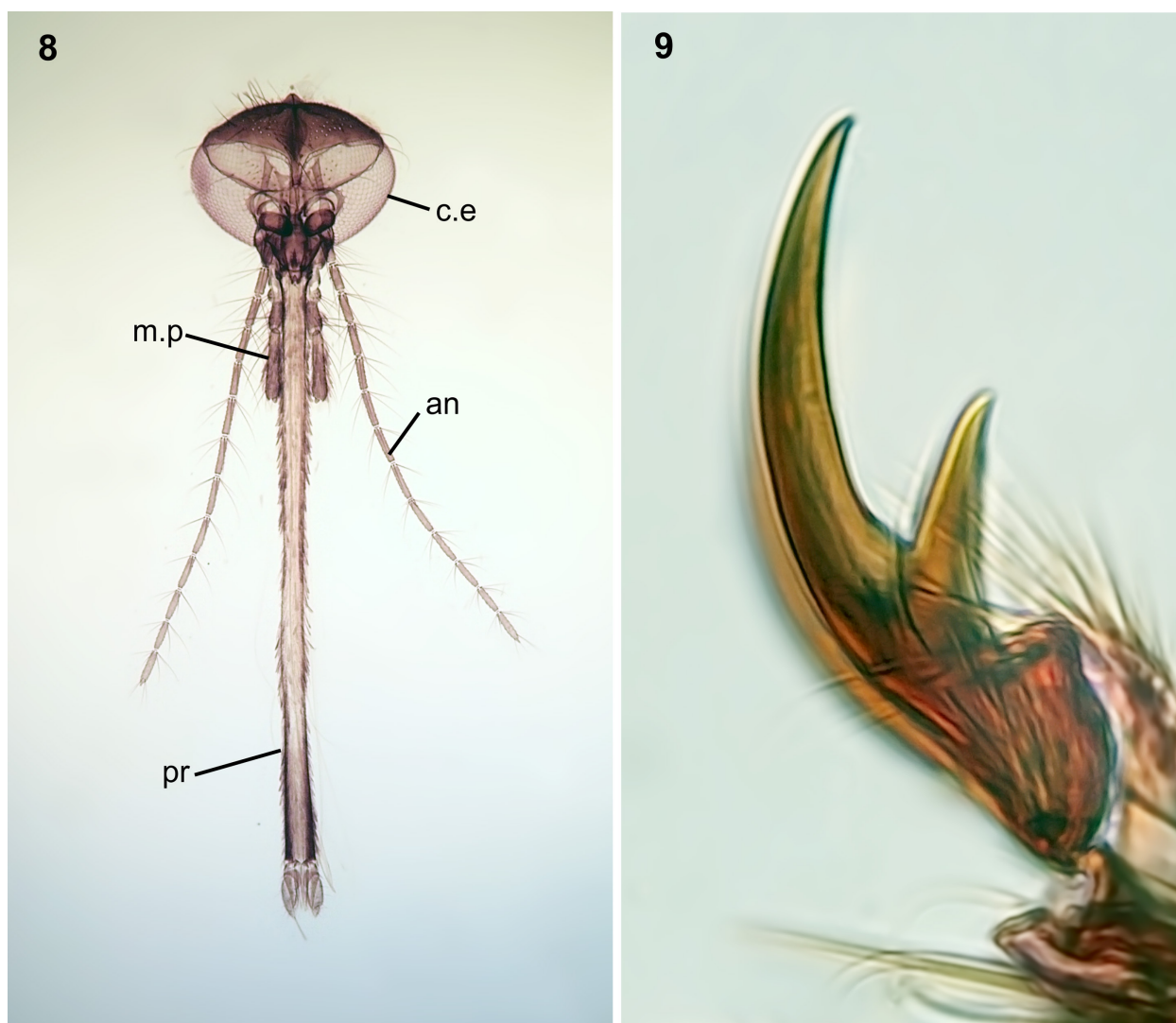
В ряде случаев приходится работать с высохшими спиртовыми сборами личинок (в результате длительного хранения или хранения в негерметичных емкостях). Такие экземпляры следует предварительно аккуратно размочить в теплой воде (40–60 мин. при температуре 50–60 °С), причем лучше доливать воду в емкость с сухими личинками, а не перекладывать личинок в воду (во избежание дополнительного повреждения материала). Далее экземпляры проводят через реактивы и препарировывают как обычные личинки (без обработки щелочью).

## Имаго

Видовая диагностика самцов кровососущих комаров основана на признаках скелетных структур генитального аппарата. Для этого требуется изготовление микропрепаратов, позволяющих исследовать трехмерную форму гениталий. На препаратах гениталий самца должны быть хорошо различимы структуры кокситов, стилия, класпеты, 9-й тергит и фаллосомы (Рис. 1, 2).

В ходе препарирования генитального аппарата самцов следует отделить 7-й членик брюшка и последующие, после чего провести через реактивы (в т.ч. водный раствор щелочи, см. раздел «Общая методика...»). Структуры гениталий следует изучить наиболее полно до фиксации в канадском бальзаме или эупарале, ориентируя объект вверх тергитами и вниз стернитами. Необходимо учитывать, что в течение нескольких часов после окрыления у самцов последние членики брюшка поворачиваются на 180°, т.о. стерниты занимают дорсальное положение, а тергиты – вентральное. При рассмотрении коксита следует избегать сильного давления покровного стекла на объект, поскольку иначе его форма деформируется, и изучить строение базальной и вершинной бородавок будет затруднительно. Напротив, в большинстве случаев охарактеризовать форму





**Рис. 8, 9.** Culicidae, самка, постоянный препарат. 8 – *Culiceta annulata* (Schrank, 1776), голова спереди, препарат в канадском бальзаме. 9 – *Aedes cantans*, коготок лапки передних ног сбоку, препарат в зупарале. *Обозначения:* m.p – максиллярный щупик; pr – хоботок. Остальные обозначения как на Рис. 5–7.

**Figs 8, 9.** Culicidae, female. 8 – *Culiceta annulata* (Schrank, 1776), head, frontal view, balsam slide. 9 – *Aedes cantans*, claw of the forelegs, lateral view, euparal slide. *Designations:* m.p – maxillary palp; pr – proboscis. The other designations are as in Fig. 5–7.

крыла класпета можно лишь придавив экземпляр покровным стеклом, что меняет положение данной структуры (Рис. 2). В рамках данной статьи мы подробно не рассматриваем объемную конфигурацию гениталий самцов, результаты исследования данных структур методами растровой электронной и световой микроскопии были изложены ранее: Халин [Khalin] (2009).

При определении самок кровососущих комаров используют признаки головы и ее при-

датков, что требует изготовления постоянных или временных препаратов (Гуцевич [Gutsevich] 1972). Голова самки с помощью препаровальных игл аккуратно отделяется от груди (необходимо избегать утраты усиков, щупиков и хоботка), после чего нужно провести объект через стандартные реагенты (в т.ч. раствор щелочи). На предметном стекле голову следует расположить передней поверхностью сверху (Рис. 8) таким образом, чтобы усики и щупики были

расправлены и находились по бокам от хоботка. В определительных таблицах родов и видов сем. Culicidae (Гуцевич [Gutsevich] 1973a, b, 1974) используется соотношение длин члеников щупиков и усиков, поэтому данные структуры должны быть хорошо различимы на препаратах.

Также для определения самок видов рода *Aedes* в ряде случаев используют признаки коготка (общая форма и расположение зубца, см., например, Гуцевич и др. [Gutsevich et al.] 1970). Данные признаки не всегда удается рассмотреть под биноклем, в связи с этим предпочтительнее изготавливать микропрепараты. Передняя нога (или только ее лапка) самки отделяется от груди и проводится через стандартные реагенты (в т.ч. раствор щелочи). На предметном стекле лапку следует расположить таким образом, чтобы один из коготков лежал строго на боку (т.е. ровно, а не под наклоном к предметному стеклу, Рис. 9).

## ПРЕПАРИРОВАНИЕ МОШЕК

Определение видов сем. Simuliidae возможно по признакам личинок, куколок и имаго (самцов и самок). Для этого необходимо предварительное изучение экземпляра с фиксацией состояний допрепаратных признаков и последующее изготовление постоянных микропрепаратов. Предварительное исследование объекта возможно проводить в чашке Петри с этанолом или во временном препарате с глицерином. Охарактеризовать допрепаратные признаки мошек важно, т.к. в большинстве случаев без них будет невозможно определить экземпляры. Работу с материалом, содержащим различные фазы жизненного цикла, следует начинать с личинок, затем перейти к куколкам, после чего – к имаго.

### Личинка

Число личиночных возрастов у мошек не фиксировано и может составлять от 7 до 11 у одного вида (Colbo 1989). Для определения родов и видов сем. Simuliidae используют признаки личинок последнего возраста, у которых видны темноокрашенные зачатки дыхательных органов куколки (Рис. 10), поэтому только личинок последнего возраста следует отбирать для изготовления микропрепаратов. Помимо дыхательного органа, диагностическое значение

имеют признаки головной капсулы, ротового аппарата, антенн и структур задней части тела (Рис. 11–16).

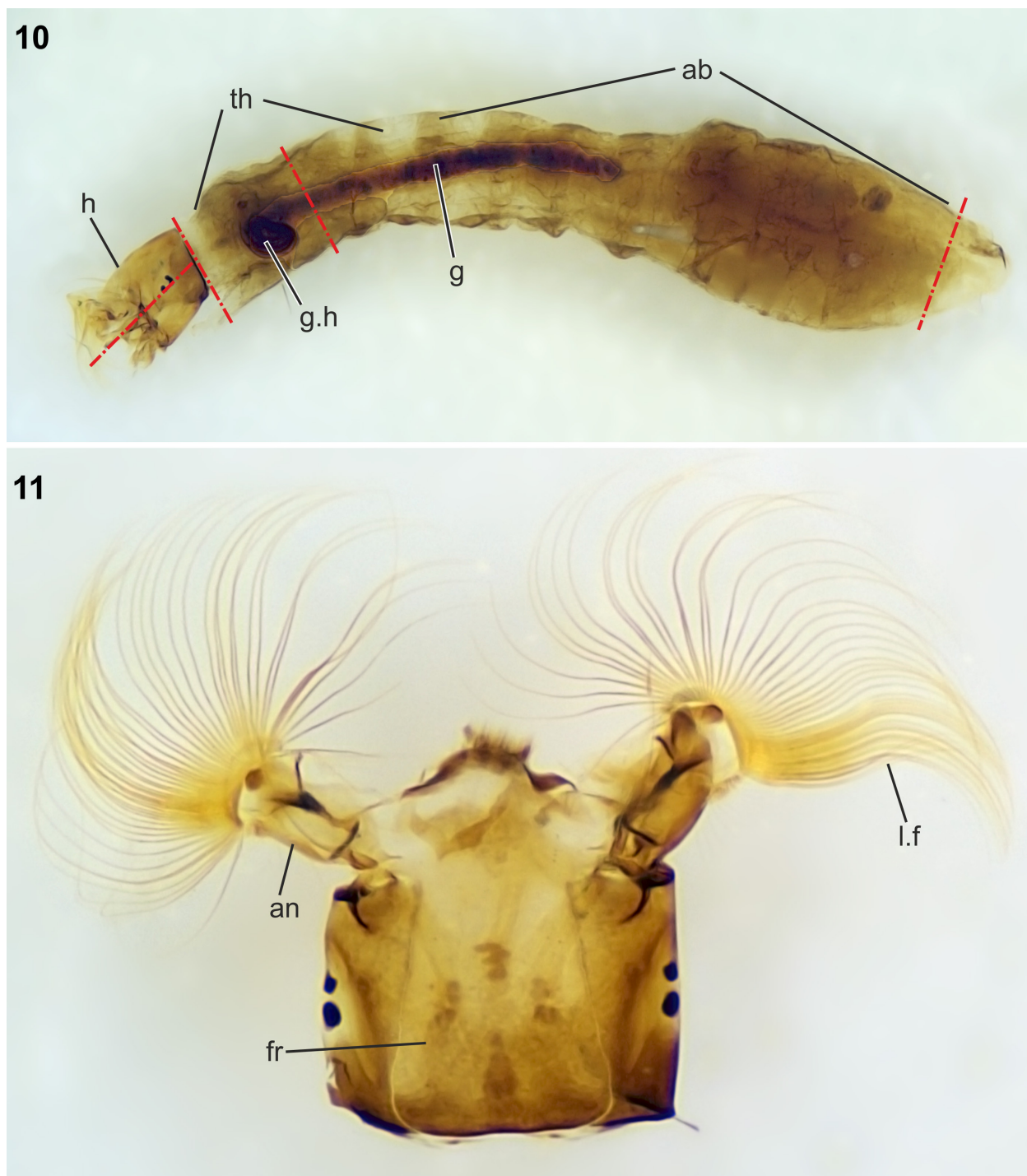
Перед изготовлением микропрепаратов личинок необходимо зафиксировать состояния допрепаратных признаков для каждого экземпляра, заполнив Табл. 1. Альтернативный вариант – сфотографировать личинок под биноклем таким образом, чтобы все перечисленные в Табл. 1 признаки были различимы. Приведенный ниже алгоритм фиксации признаков можно использовать для материала, хранившегося в этаноле не более 10 лет. Работа с более старыми экземплярами затруднена из-за обесцвечивания покровов насекомых.

Например, рисунок лобного склерита (Рис. 11) может быть позитивным (темные пятна на светлом фоне), негативным (светлые пятна на темном фоне) или неясным (отсутствие четкого рисунка). Вентрокаудальные выросты (Рис. 12) могут отсутствовать или иметься в количестве 1 пары, причем их основания могут соприкасаться друг с другом или нет. Ректальные папиллы (Рис. 13) либо имеются, либо отсутствуют; в случае наличия у них могут присутствовать дополнительные выросты (т.е. папиллы сложные) или нет (папиллы простые).

При работе с большим числом экземпляров, отловленных в ходе одного сбора, оказывается затруднительным делать препараты из всех личинок. Мы рекомендуем следующую схему отбора объектов препарирования. Согласно признакам Табл. 1 личинки подразделяются на серии, причем у каждой серии должно быть свое обозначение (столбец «Серия», Табл. 1). Возможный вариант обозначений: номер сбора (должна быть сквозная нумерация в пределах одной группы сборов) и буквой – серия, включающая все экземпляры этого сбора, одинаковые по допрепаратным признакам. Из каждой серии отбирается несколько экземпляров (например, наиболее сохранные), из которых будут сделаны препараты. Например, в сборе №1 всего 32 личинки, из которых по допрепаратным признакам выделены 6 серий: 1 А–С, 1 D–Е, 1 F, 1 G, 1 H–J и 1 K. Если в ходе маркировки серий буквы алфавита закончились, следует использовать двухбуквенные обозначения. Буквы в названиях серий соответствуют числу экземпляров каждой серии, отобранных для изготовления

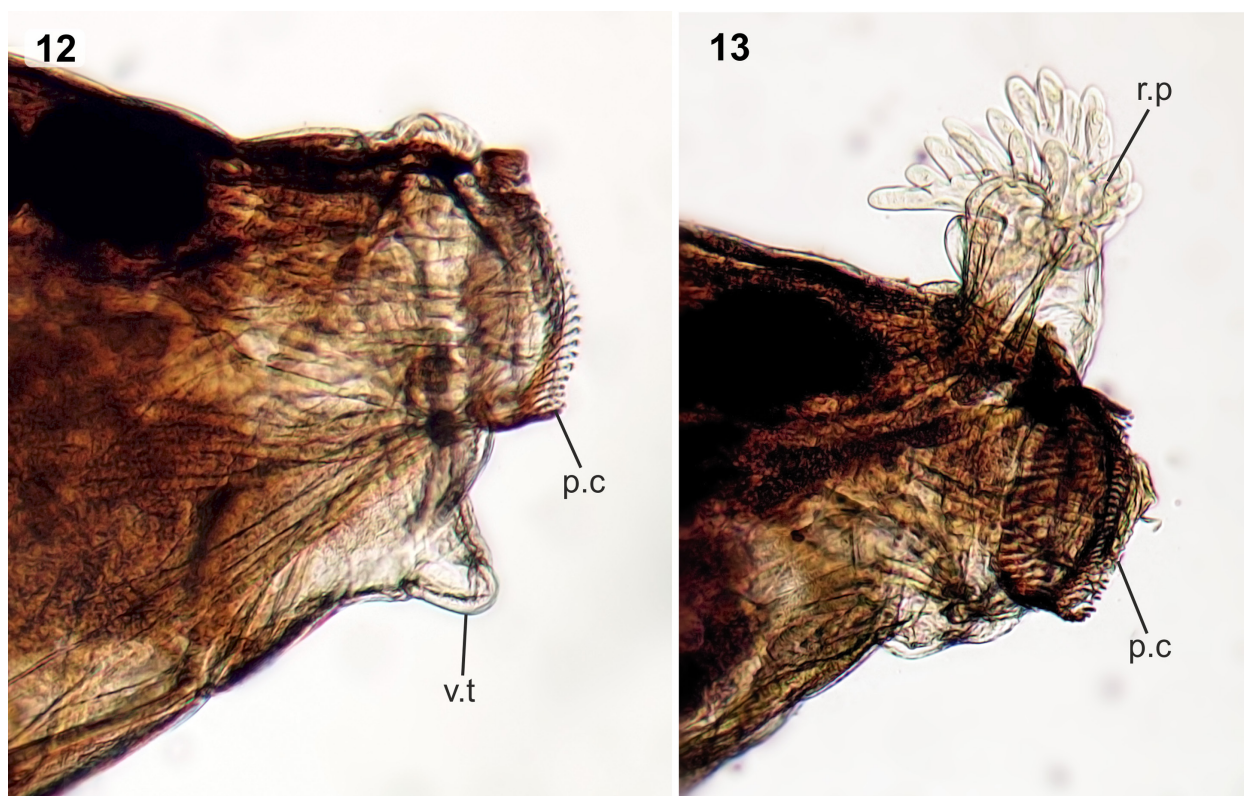
Таблица 1. Диагностические признаки личинок мошек, утрачивающиеся при препарировании.  
Table 1. Diagnostic characters of blackfly larvae lost during preparation.

Серия / Series	Общее количество экземпляров Total number of specimens	Преобладающая окраска груди и брюшка Main coloration of the thorax and abdomen	Длина тела, мм / Body length, mm	Окраска головы / Head coloration	Тип рисунка лба / Type of frontal coloration	Форма срединного пятна лба Form of antemedial head spot	Количество латеральных пятен лба Number of anterolateral head spots	Количество вентрокаудальных выростов Number of ventrocaudal tubercles	Положение оснований вентрокаудальных выростов Position of bases of ventral tubercles	Наличие ректальных папилл Presence of rectal papillae	Форма ректальных папилл Form of rectal papillae
1 A-C	10	коричневый brown	7	коричневая brown	неясный unclear	-	0	0	-	отсутствуют absent	-
1 D-E	3	коричнево-зеленый brown-and-green	5	серая grey	негативный negative	линия line	5	2	не соприкасаются non-contiguous	имеются present	ветвистые branched
1 F	1	серо-коричневый brown-and-grey	6	желтая yellow	негативный negative	капля drop	0	0	-	отсутствуют absent	-
1 G	1	желтый yellow	4	черная black	позитивный positive	капля drop	3	2	соприкасаются contiguous	отсутствуют absent	-
1 H-J	15	желто-зеленый yellow-and-green	5	черная black	позитивный positive	линия line	2	2	не соприкасаются non-contiguous	отсутствуют absent	-
1 K	2	серый grey	5	черная black	позитивный positive	линия line	5	2	не соприкасаются non-contiguous	имеются present	простые simple



**Рис. 10, 11.** *Simulium* sp., личинка. 10 – общий вид сбоку. 11 – дорзальная поверхность головы. **Обозначения:** аб – брюшко; fr – лоб; g – кишечник; g.h – зачатки дыхательного органа куколки; h – голова; l.f – веер премадибул; th – грудь. Красными линиями на рис. 10 показаны разрезы при препарировании (см. пояснения в тексте). Остальные обозначения как на рис. 5–7.

**Figs 10, 11.** *Simulium* sp., larva. 10 – lateral view. 11 – dorsal part of the head. **Designations:** ab – abdomen; fr – frons; g – gut; g.h – gill histoblast; h – head; l.f – labral fan; th – thorax. The red lines in Fig. 10 show the incisions during the dissection (see explanations in the text). The other designations are as in Fig. 5–7.



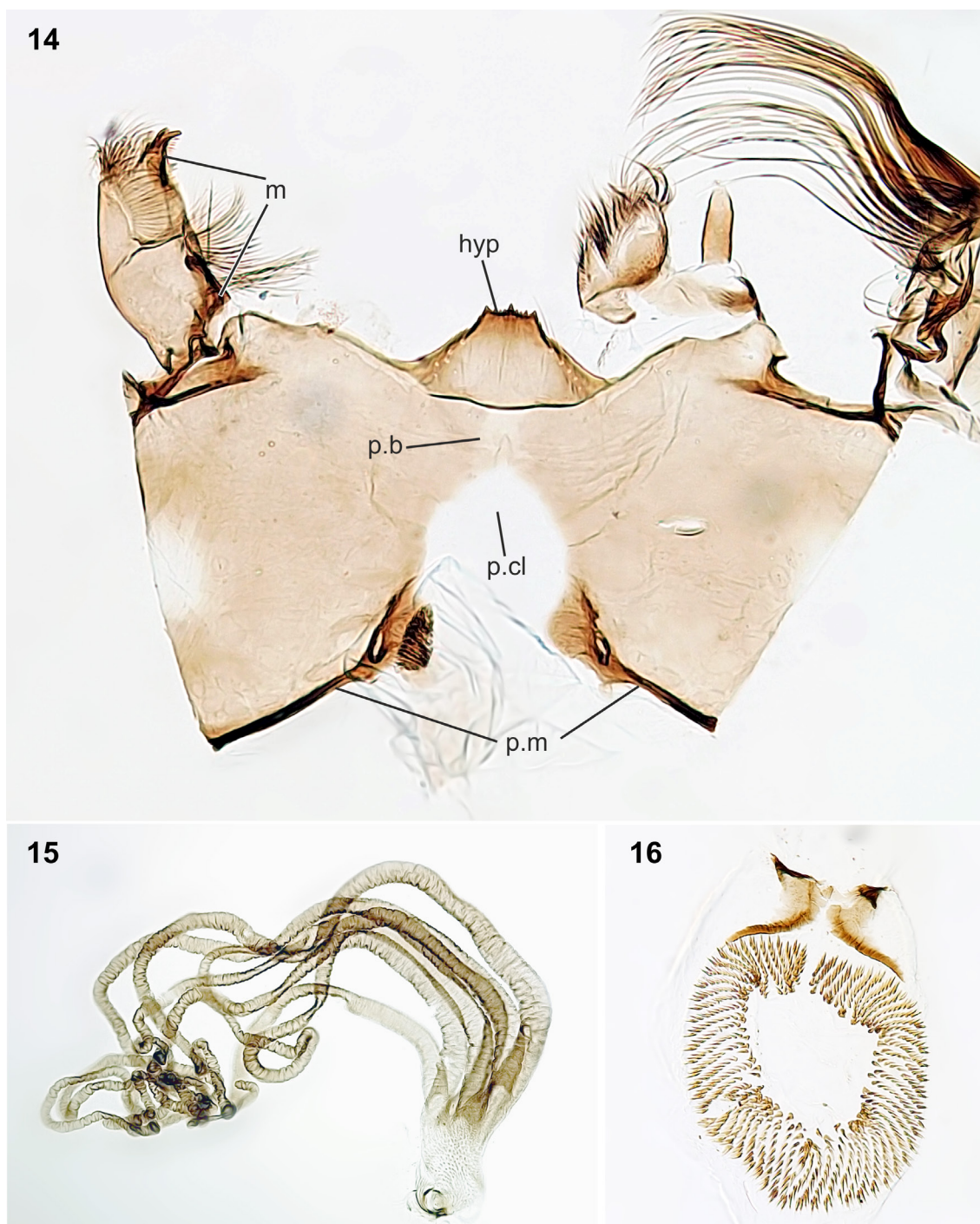
**Рис. 12, 13.** *Simulium* sp., личинка, конец брюшка сбоку. *Обозначения:* p.c – задний прикрепительный орган; r.p – ректальные папиллы; v.t – вентрокаудальные выросты.

**Figs 12, 13.** *Simulium* sp., larva, end of abdomen, lateral view. *Designations:* p.c – posterior circling organ; r.p – rectal papilla; v.t – ventral tubercle.

препаратов. Так, в серии 1 А–С всего 10 экземпляров из сбора № 1, но для изготовления препаратов отобрано только 3, которые будут маркированы 1 А, 1 В и 1 С. Остальные 7 экз. следует поместить в пробирку с этанолом и географической этикеткой, указав номер серии: № 1, А–С (дополнительные экземпляры). Таким образом, из личинок сбора № 1 изготовлены 11 препаратов (А–К), оставшихся 21 личинок хранят в этаноле отдельно по сериям согласно Табл. 1.

Иногда результаты определения экземпляров одной серии указывают на ее неоднородность, в таком случае нужно делать новые препараты (из дополнительных экземпляров той же серии). Например, в серии А–С были сделаны препараты А, В и С, из которых А и В оказались одним видом, а С – другим. В связи с этим целесообразно исследование оставшихся дополнительных экземпляров, т.к. серия содержит более одного вида.

Перед препарированием личинки обрабатываются раствором щелочи и стандартным реактивом (см. раздел «Общая методика...»). На предметном стекле в капле фиксирующей жидкости отделяют голову, переднегрудь и конец брюшка (Рис. 10). Средне- и заднегрудь, а также и оставшуюся часть брюшка нужно удалить. Далее следует разделить вентральную и дорсальную части головной капсулы (Рис. 10, 11, 14), расправить большие веера премандибул (Рис. 11), расправить и освободить от личиночных покровов зачатки дыхательных органов куколки (Рис. 15), а также отделить задний прикрепительный орган и расположить его на стекле (Рис. 16). Закончив препарирование личинки, следует добавить небольшую каплю фиксирующей жидкости (для того, чтобы стекло полностью покрыло каплю), затем аккуратно накрыть все части препарата покровным стеклом.



**Рис. 14–16.** *Simulium* Latreille, 1802, личинка, постоянный препарат в эупарале. 14 – *S. angustitarsis* (Lundström, 1911), ventральная сторона головы. 15 – *S. tuberosum* (Lundström, 1911), зачатки дыхательного органа куколки сбоку. 16 – *S. noelleri* Friederichs, 1920, задний прикрепительный орган. **Обозначения:** hyp – субментум; m – мандибула; p.b – постгенальный мостик; p.cl – ventральный вырез головной капсулы; p.m – задний край головы.

**Figs 14–16.** *Simulium* Latreille, 1802, larva, euparal slide. 14 – *S. angustitarsis* (Lundström, 1911), ventral part of head. 15 – *S. tuberosum* (Lundström, 1911), gill histoblast, lateral view. 16 – *S. noelleri* Friederichs, 1920, posterior circling organ. **Designations:** hyp – hypostoma; m – mandible; p.b – postgenal bridge; p.cl – postgenal cleft; p.m – posterior margin of the head.

На этикетке препарата, помимо информации о точке сбора и номера сбора, необходимо указать номер серии. Благодаря этому будет доступна информация о признаках из Табл. 1. Аналогичным образом следует этикетировать препараты куколок и имаго сем. Simuliidae.

### Куколка

При определении родов и видов мошек по куколкам используют признаки кокона (форма, длина, наличие выростов), дыхательного органа куколки (количество ветвей нитей, порядок их ветвления) и ее покровных структур (наличие и расположение шипов на вентральной, дорсальной и каудальной поверхности куколки, Рис. 17–20). Поскольку определение видов сем. Simuliidae по имагинальным признакам более достоверно, следует отбирать наиболее темных куколок, содержащих сформировавшееся имаго. Из таких куколок извлекают имаго, которое препарируют как взрослое насекомое (см. следующий раздел). Если темные куколки отсутствуют, то препарируют наиболее сохранных из всех собранных куколок. Как и при работе с личинками, необходима фиксация допрепаратных признаков (Рис. 17).

**Допрепаратные признаки куколок:** 1) длина тела (в мм); 2) цвет дыхательного органа куколки (обычно коричневый, желтый или черный); 3) длина дыхательного органа куколки (соотношение с длиной тела куколки: например, больше в 1.4 раза, меньше в 3 раза, равны); 4) кокон (наличие или отсутствие); 5) форма кокона (основные типы: кармановидный, башмаковидный, сапожковидный, бесформенный или бокаловидный); 6) цвет кокона (обычно коричневый или желтый); 7) длина кокона (соотношение с длиной тела куколки: больше, меньше или равно); 8) характер плетения кокона (плотный или рыхлый; при плотном плетении кокона структуры куколки не видны сквозь кокон, при рыхлом – видны); 9) воротничок (загиб края кокона у устья, наличие или отсутствие); 10) антеромедиальный вырост устья кокона (Рис. 20, наличие или отсутствие); 11) форма вершины антеромедиального выроста (закругленная, заостренная или плоская); 12) длина антеромедиального выроста (соотношение с шириной основания: например, больше в 1.5 раза, равны); 13) антеролатеральные углы устья кокона

(Рис. 20, наличие или отсутствие); 14) длина антеролатеральных углов (соотношение с длиной антеромедиального выроста: например, меньше в 2 раза, равны); 15) утолщение края устья кокона (Рис. 20, наличие или отсутствие).

Признаки 9–14 используют только для кармановидного кокона.

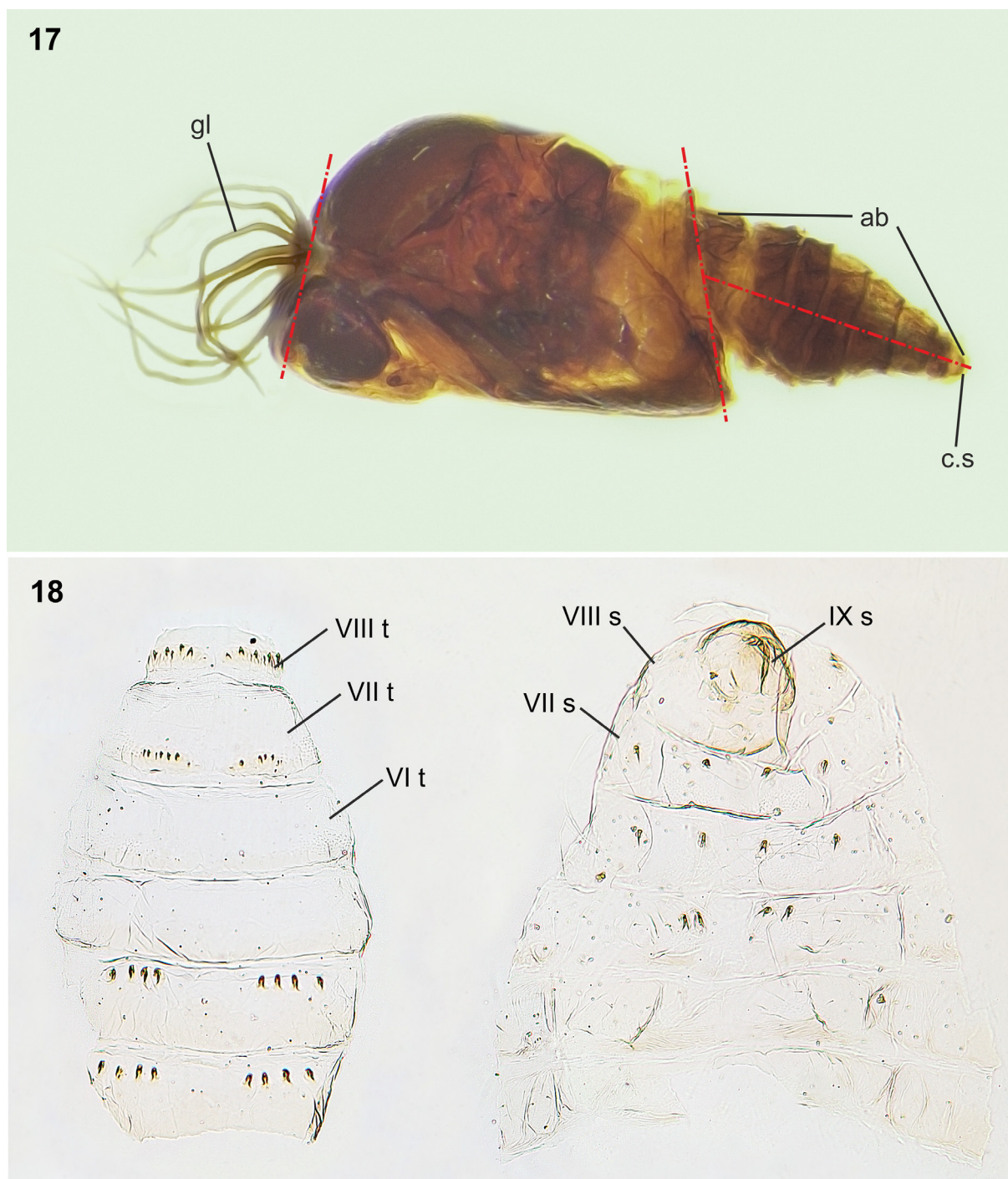
Состояние перечисленных выше признаков всех собранных куколок следует внести в таблицу, соответствующую Табл. 1 (принцип выделения серий куколок аналогичен таковому для личинок). В случае, если куколки присутствовали в сборе № 1, маркировка групп будет продолжаться после К: L, M и т.д.

На первом этапе препарирования куколку следует извлечь из кокона, после чего сделать несколько проколов в середине ее брюшка. Процедура обработки куколки раствором щелочи и другими реагентами стандартна и аналогична таковой личинок. Кокон щелочью не обрабатывают (т.к. в результате просветления он полностью теряет форму), но проводят через реактивы и фиксируют вместе с куколкой на препарате.

После проведения через реактивы куколку располагают на предметном стекле, где в капле фиксируют жидкости делают разрезы (Рис. 17). Отделяют дыхательный орган куколки и брюшко, голова и грудь удаляют. Вентральную и дорсальную части брюшка отделяют друг от друга (Рис. 18) и расправляют обе половинки дыхательного органа (Рис. 19). В соседнюю каплю фиксирующей жидкости на том же предметном стекле помещают кокон куколки. Кокон нужно разрезать вдоль средней линии на брюшной стороне и расправить (Рис. 20). Предпочтительнее накрывать кокон отдельным покровным стеклом, т.к. данная структура гораздо большего размера, чем остальные элементы куколки.

### Имаго

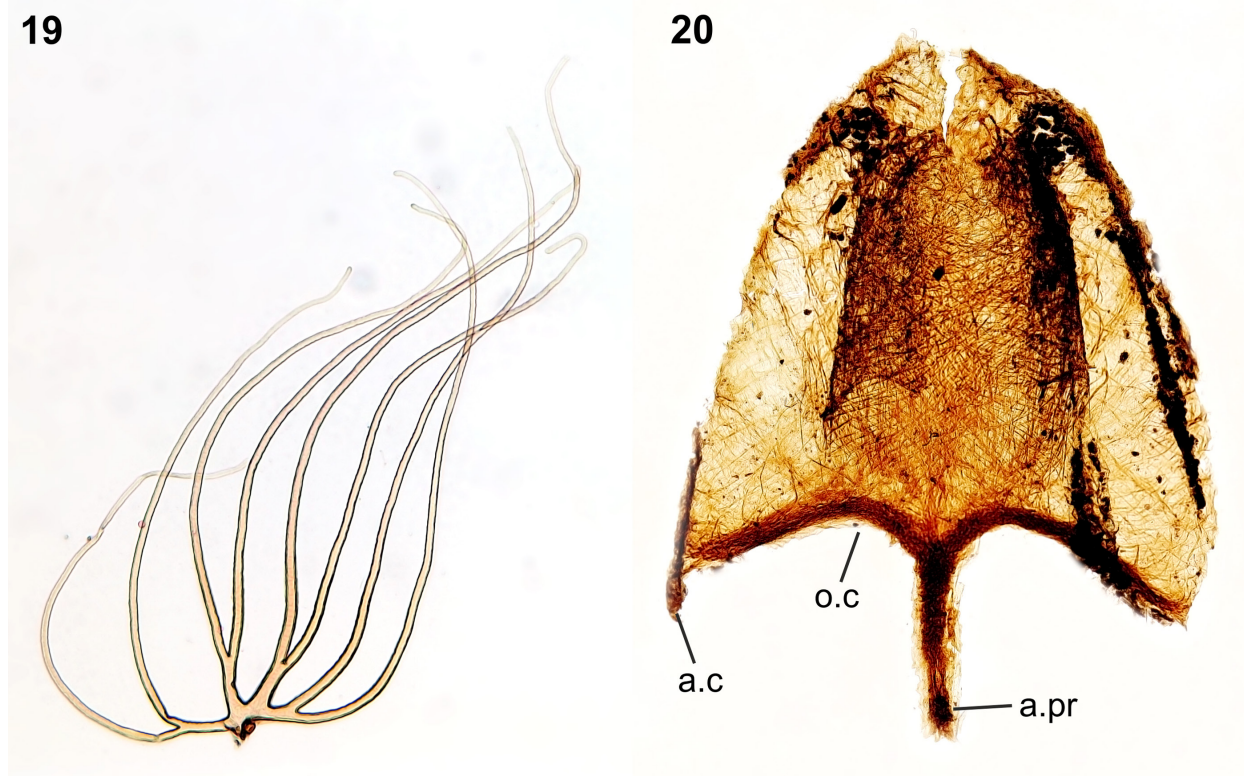
Наиболее достоверно определение видов сем. Simuliidae по признакам гениталий самца. Также важны для диагностики признаки головы (Рис. 21, 22), ног (Рис. 23–25), хетома жилок крыла (Рис. 26) и среднеспинки (Рис. 27), а также структур брюшка (Рис. 28–34). Различаются алгоритмы работы с имаго, извлеченным из покровов куколки и отловленным в природе (либо выведенным из куколки). Имаго, извлеченное из покровов куколки, не требует фиксации



**Рис. 17, 18.** *Simulium*, куколка. 17 – *Simulium* sp., общий вид сбоку. 18 – *S. simulans* Rubtsov, 1956, дорзальная (слева) и ventральная (справа) поверхности брюшка, постоянный препарат в эупарале. *Обозначения:* c.s – каудальная поверхность куколки; gl – дыхательный орган; VI t, VII t и VIII t – тергиты 6, 7 и 8-го члеников брюшка; VII s, VIII s и IX s – стерниты 7, 8 и 9-го члеников брюшка. Остальные обозначения как на рис. 10.

**Figs 17, 18.** *Simulium*, pupa. 17 – *Simulium* sp., lateral view. 18 – *S. simulans* Rubtsov, 1956, dorsal (left) and ventral (right) parts of abdomen, euparal slide. *Designations:* c.s – caudal surface of the pupa; gl – gill; VI t, VII t and VIII t – terga of abdominal segments VI, VII and VIII; VII s, VIII s and IX s – sterna of abdominal segments VII, VIII and IX. The other designations are as in Fig. 10.





**Рис. 19, 20.** *Simulium*, куколка, постоянный препарат в эупарале. 19 – *S. simulans*, дыхательный орган сбоку. 20 – *S. beltukovae* (Rubtsov, 1956), кокон сверху. *Обозначения:* а.с – антеролатеральный угол; а.пр – антеромедиальный вырост; о.с – устье кокона.

**Figs 19, 20.** *Simulium*, pupa, euparal slide. 19 – *S. simulans*, gill, lateral view. 20 – *S. beltukovae* (Rubtsov, 1956), cocoon, dorsal view. *Designations:* a.c – anterolateral corner; a.pr – anterodorsal projection; o.c – opening of cocoon.

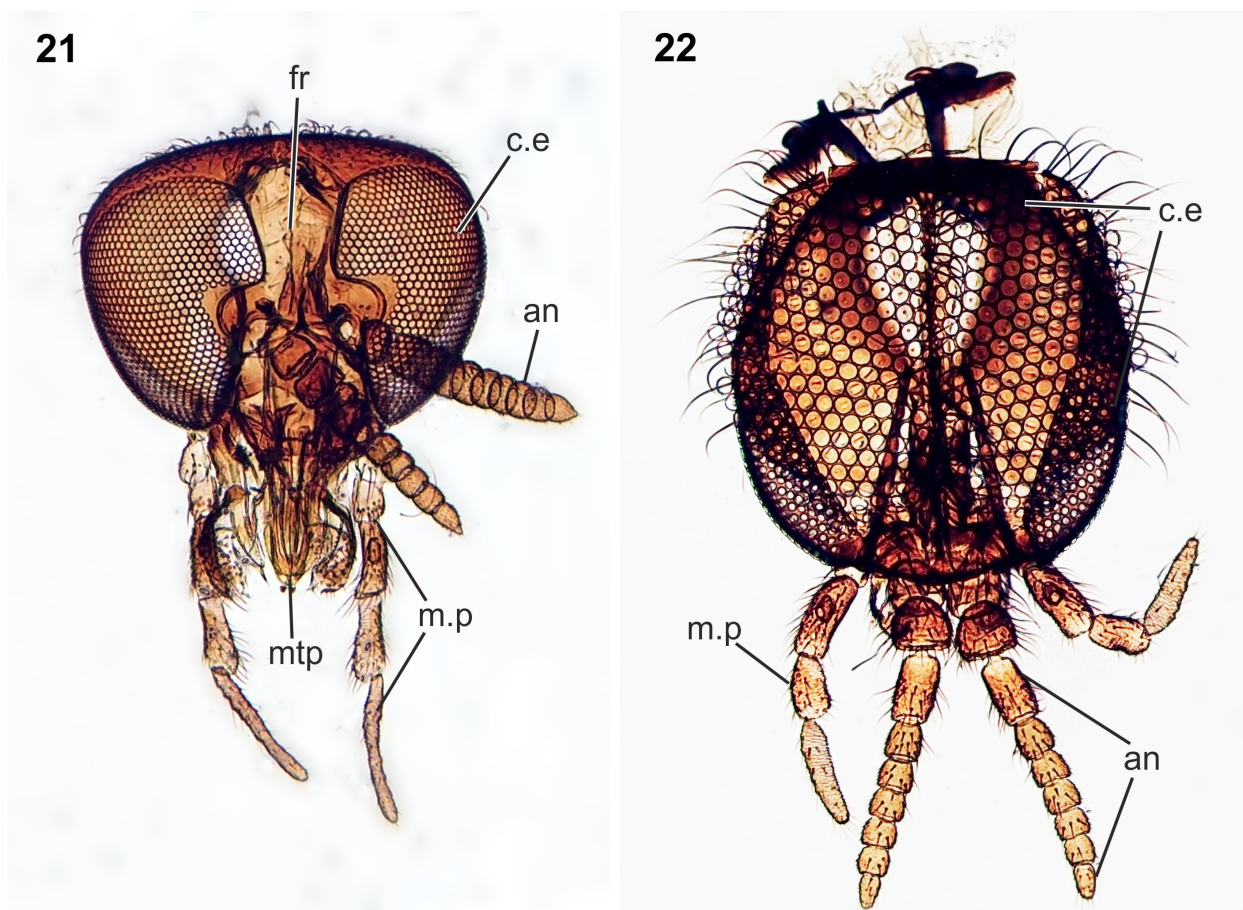
допрепаратных признаков и обработки щелочным раствором (иногда целесообразно просветление отдельных структур, например, генитального аппарата). В иных случаях следует перед препарированием зафиксировать состояния перечисленных ниже признаков.

**Допрепаратные признаки имаго** (самцы и самки, Рис. 35 и 36): 1) преобладающая окраска тела (черная, серая или желтая); 2) длина тела (в мм); 3) ширина головы (соотношение с шириной груди, например: шире, уже или равна); 4) элементы хетома переднеспинки (наличие или отсутствие); 5) элементы хетома среднеспинки (наличие или отсутствие); 6) тип рисунка среднеспинки (пятна, полосы); 7) окраска элементов хетома среднеспинки (золотистая или серебристая, Рис. 27); 8) окраска передних, средних и задних ног (светлая или темная, следует охарактеризовать окраску всех

члеников каждой пары ног). Сначала указывают преобладающую окраску, далее – отклонения от нее. Например: ноги темные, кроме вершин бедер и голеней, или ноги светлые, кроме тазиков и члеников лапки, или голени затемнены на 1/5 часть от вершины; 9) Окраска стернитов брюшка (темные или светлые).

**Допрепаратные признаки самок:** 1) окраска клипеуса (темный или светлый); 2) ширина анэпистеральной мембраны (широкая или узкая, Рис. 37); 3) окраска жужжалец (темные или светлые); 4) окраска тергитов брюшка (темные или светлые).

**Допрепаратные признаки самцов:** 1) лоб (наличие или отсутствие); 2) форма гоностерна сбоку «профиль» (наличие или отсутствие выростов: носка или кля, соотношение длины ветвей гоностерна к его высоте). Для диагностики ряда видов используются признаки строения



**Рис. 21, 22.** Simuliidae, голова имаго спереди, постоянный препарат в эупарале. 21 – *Simulium* sp., самка. 22 – *Gymnopaïs trifistulatus* Rubtsov, 1955, самец. **Обозначения:** mtp – ротовой аппарат. Остальные обозначения как на Рис. 5–11.

**Figs 21, 22.** Simuliidae, adult head, frontal view, euparal slide. 21 – *Simulium* sp., female. 22 – *Gymnopaïs trifistulatus* Rubtsov, 1955, male. **Designations:** mtp – mouthparts. The other designations are as in Fig. 5–11.

гоностерна, различные при рассмотрении данного склерита как снизу, так и сбоку. Поскольку на постоянном препарате будут доступны только признаки гоностерна с одного ракурса, необходимо сфотографировать или зарисовать форму гоностерна сбоку, после чего повернуть и продолжить препарирование.

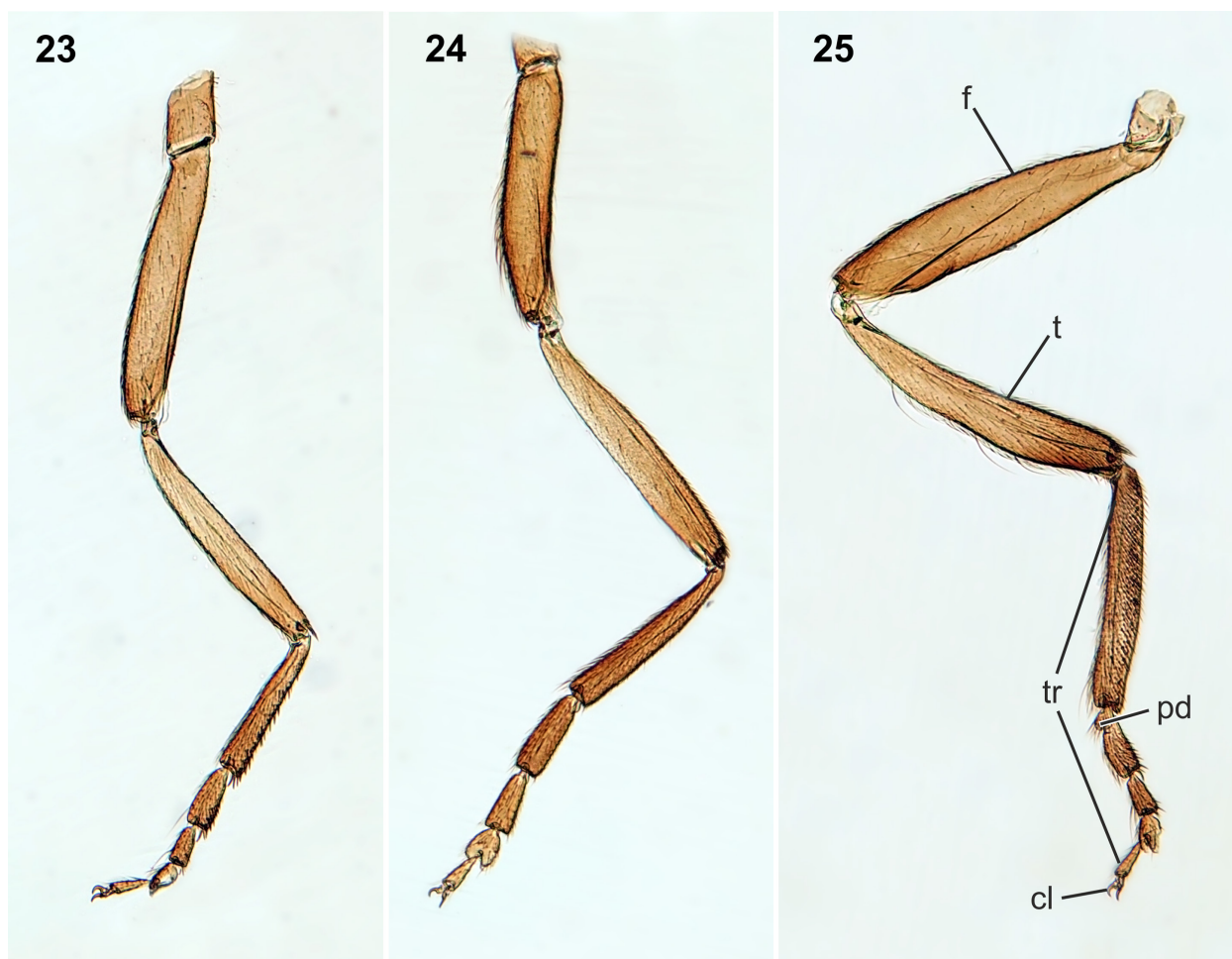
Сначала следует отделить голову, брюшко, крылья и ноги имаго от груди (Рис. 35 и 36). Процедура обработки имаго раствором щелочи и другими реагентами аналогична таковой личинок и куколок. Крылья щелочью не обрабатывают.

На следующем этапе голова, брюшко, крылья и ноги имаго, а также кокон куколки (если имаго было извлечено из куколки) располагают

в капле фиксирующей жидкости на предметном стекле. У самок вентральную и дорсальную части брюшка нужно отделить друг от друга (Рис. 35, 38, 39). Дополнительное препарирование генитальных сегментов самки не требуется (Рис. 34), но у самцов необходимо отделить друг от друга гоноподиты, гоностерн, гонофурку, 10-й стернит и парамеры (Рис. 28–33). Препарирование кокона аналогично таковому при работе с куколкой.

## ОБСУЖДЕНИЕ

Методики изготовления препаратов, рассмотренные в настоящей статье, служат для визуализации диагностических признаков крово-



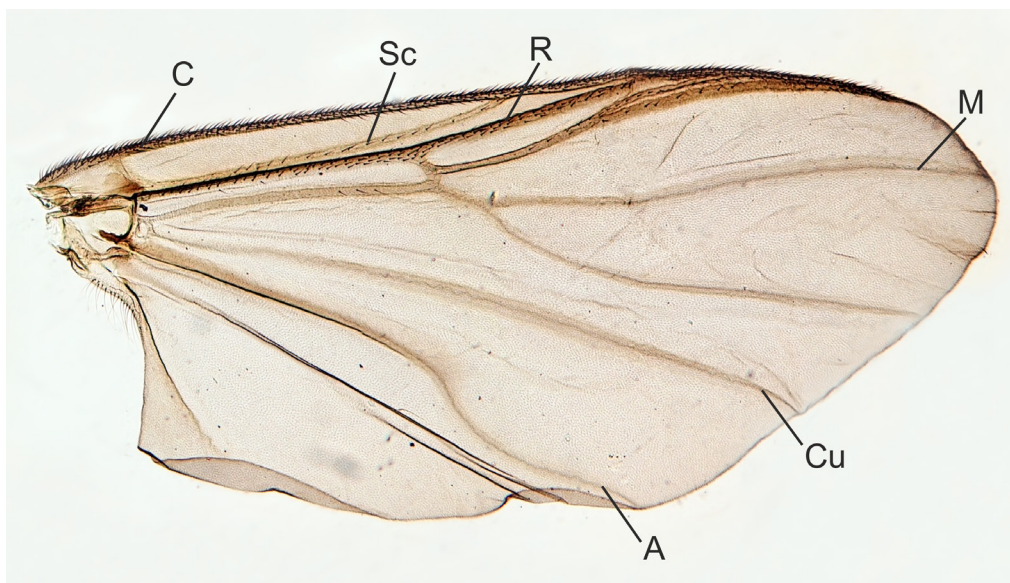
**Рис. 23–25.** *Simulium subpusillum* Rubtsov, 1940, имаго, ноги сбоку, постоянный препарат в эупарале. 23 – передняя, 24 – средняя, 25 – задняя. Обозначения: cl – коготок; f – бедро; pd – педисулькус; t – голень; tr – лапка.

**Figs 23–25.** *Simulium subpusillum* Rubtsov, 1940, adult, legs, lateral view, euparal slide. 23 – fore leg, 24 – mid leg, 25 – hind leg. Designations: cl – claw; f – femur; pd – pedisulcus; t – tibia; tr – tarsus.

сосущих комаров и мошек, что актуально для определения экземпляров. Данные методики в целом не оригинальны, использовались ранее многими авторами. Так, достаточно подробно рассмотрены методы изготовления препаратов кровососущих комаров, как и процедуры окрашивания, например, у Е.Н. Павловского ([Pavlovskiy] 1935) и Дж.Н. Белкина (Belkin 1962), мошек – у И.А. Рубцова ([Rubtsov] 1956a).

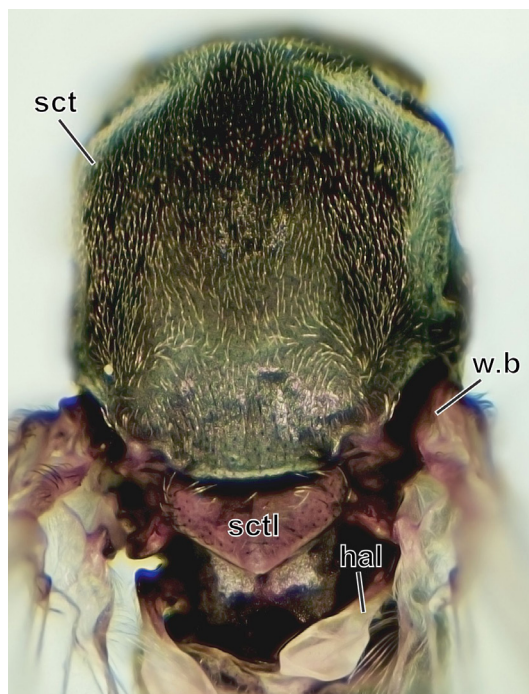
В рамках данной публикации мы не рассматриваем все красители и фиксирующие жидкости, которые используют для изготовления постоянных и временных препаратов, т.к. на эту тему имеются обзоры (Павловский

([Pavlovskiy] 1935, 1957; Belkin 1962). Так, жидкость Фора-Берлизе или глицерин-желатиновая смесь редко используется для изготовления препаратов кровососущих комаров и мошек, поскольку применение канадского бальзама и эупарала гораздо удобнее. Кроме того, канадский бальзам и эупарал применяются для препаратов более полувека, что свидетельствует о надежности данных жидкостей в качестве фиксирующих. Методика изготовления жидкости Фора-Берлизе слишком трудоемка, кроме того, данная жидкость со временем высыхает, поэтому требуется окантовка препаратов лаком по периметру покровного



**Рис. 26.** *Gymnopsis trifistulatus*, крыло, постоянный препарат в эупарале. Обозначения жилок: А – анальная, С – костальная, Cu – кубитальная, М – медиальная, R – радиальная, Sc – субкостальная.

**Fig. 26.** *Gymnopsis trifistulatus*, wing, euparal slide. Designations of veins: A – anal, C – costa, Cu – cubitus, M – media, R – radius, Sc – subcosta.

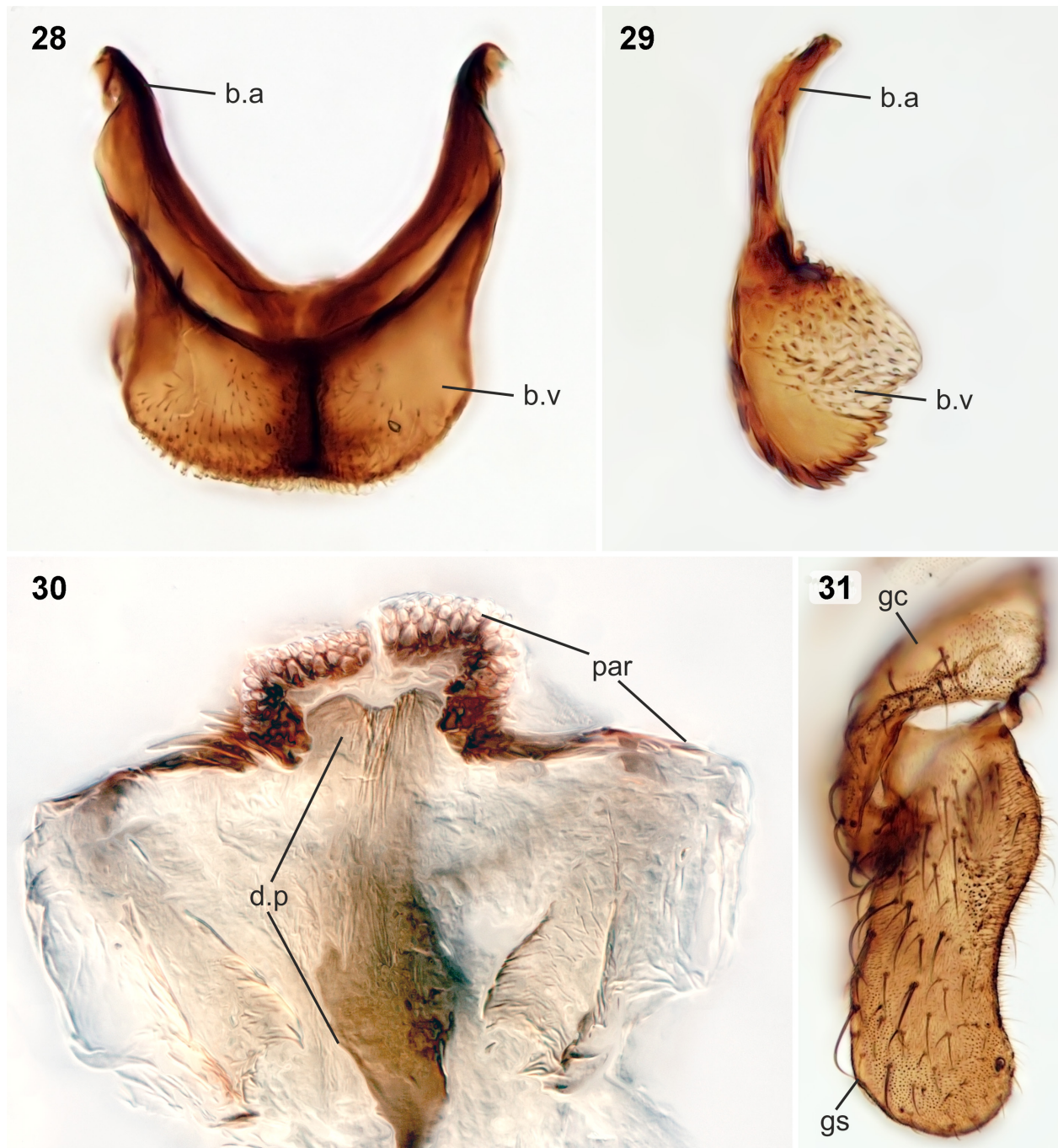


**Рис. 27.** *Simulium ornatum* (Meigen, 1818), грудь сверху. Обозначения: hal – жужжальца; sct – среднеспинка; sctl – щиток; w.b – основание крыла.

**Fig. 27.** *Simulium ornatum* (Meigen, 1818), thorax, dorsal view. Designations: hal – halter; sct – scutum; sctl – scutellum; w.b – wing base.

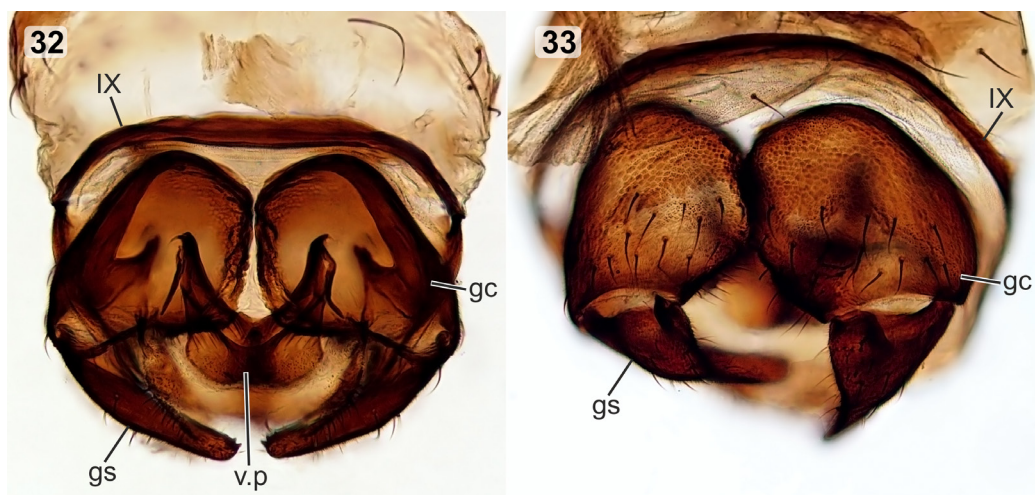
стекла. Однако Дж.Н. Белкин (Belkin 1962) рекомендует использовать модифицированную жидкость Фора-Берлизе (30 г гуммиарабика, 50 мл воды, 200 г хлоралгидрата, 20 мл глицерина) для изготовления микропрепаратов, а Е.Н. Павловский ([Pavlovskiy] 1935) – глицерин-желатиновую смесь. Окрашивание препаратов для видовой диагностики экземпляров не всегда целесообразно (Belkin 1962). Современные микроскопы обеспечивают четкую визуализацию почти полностью прозрачных объектов, однако в ряде случаев окрашивание отдельных экземпляров бывает оправдано (Рис. 2 и 5).

Некоторые авторы (Павловский [Pavlovskiy] 1935) рекомендуют использовать т.н. «ножки» под покровные стекла в случае изготовления постоянных препаратов для крупных объектов. Для этой цели могут быть использованы куски парафина или покровных стекол. В собственной практике мы не используем «ножки»: в случае работы со сравнительно большими объектами увеличиваем промежуток времени перед накрыванием капли бальзама или эупарала покровным стеклом. Жидкость успевает загустеть, а объект перестает сильно смещаться в ходе накрывания покровным стеклом. При



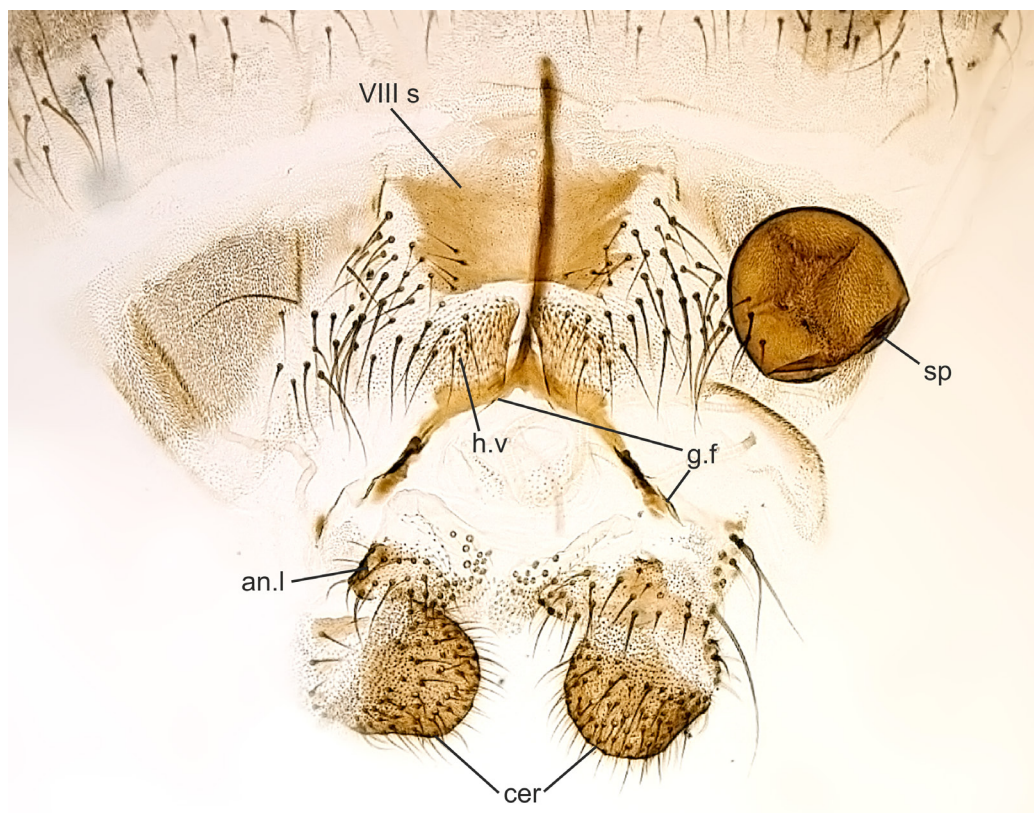
**Рис. 28–31.** Simuliidae, гениталии самца, постоянный препарат в эупарале. 28, 30, 31 – сверху. 29 – сбоку. 28 – *Gymnopaia trifistulatus*, гоностерн. 29 – *Simulium noelleri*, гоностерн. 30 – *Simulium* sp., гоноподит. 31 – *S. longipalpe* Beltyukova, 1955, гонофурка и парамеры. *Обозначения:* b.a – ветви гоностерна; b.v – тело гоностерна; d.p – гонофурка; gc – гонококсит; gs – гоностиль; par – парамеры.

**Figs 28–31.** Simuliidae, male genitalia, euparal slide. 28, 30, 31 – dorsal view. 29 – lateral view. 28 – *Gymnopaia trifistulatus*, ventral plate. 29 – *Simulium noelleri*, ventral plate. 30 – *Simulium* sp., gonopodit. 31 – *S. longipalpe* Beltyukova, 1955, dorsal plate and parameres. *Designations:* b.a – basal arms; b.v – body of ventral plate; d.p – dorsal plate; gc – gonocoxite; gs – gonostylus; par – paramere.



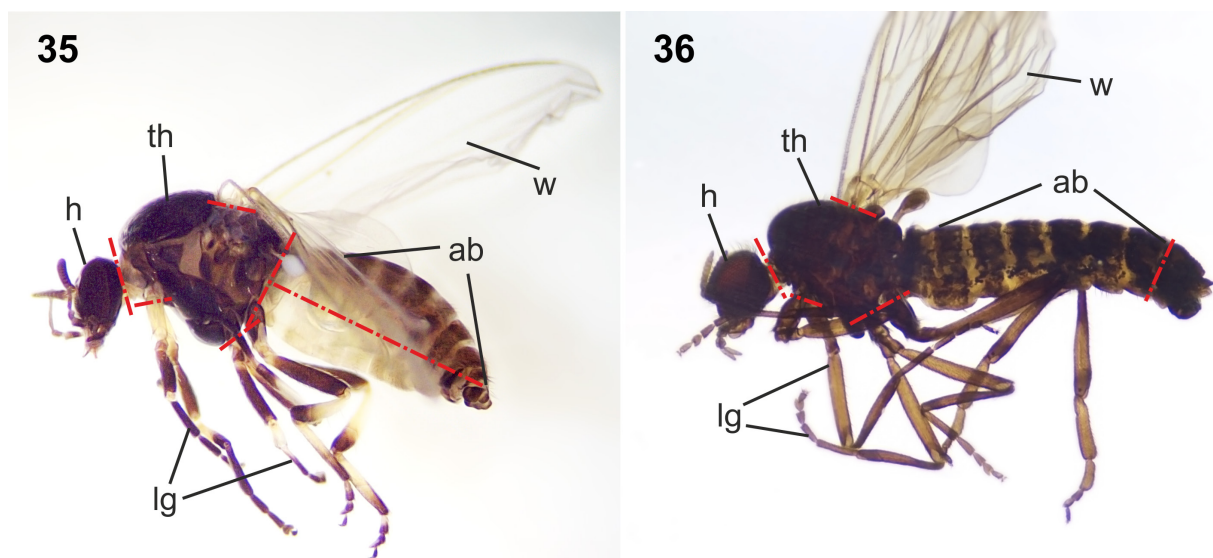
**Рис. 32, 33.** *Gymnopais trifistulatus*, гениталии самца. 32 – сверху. 33 – снизу. **Обозначения:** v.p – гоностерн; IX – 9-й членик брюшка. Остальные обозначения как на рис. 30.

**Figs 32, 33.** *Gymnopais trifistulatus*, male genitalia. 32 – dorsal view. 33 – ventral view. **Designations:** v.p – ventral plate; IX – abdominal segment IX. The other designations are as in Fig. 30.



**Рис. 34.** *Simulium truncatum* (Lundström, 1911), гениталии самки снизу, постоянный препарат в эупарале. **Обозначения:** an.l – анальная пластинка; cer – церки; g.f – генитальная вилочка; h.v – генитальная пластинка; sp – сперматека. Остальные обозначения как на рис. 18.

**Fig. 34.** *Simulium truncatum* (Lundström, 1911), female genitalia, ventral view, euparal slide. **Designations:** an.l – anal lobe; cer – cercus; g.f – genital fork; gs – gonostylus; h.v – hypogynial valve; sp – spermatheca. The other designations are as in Fig. 18.



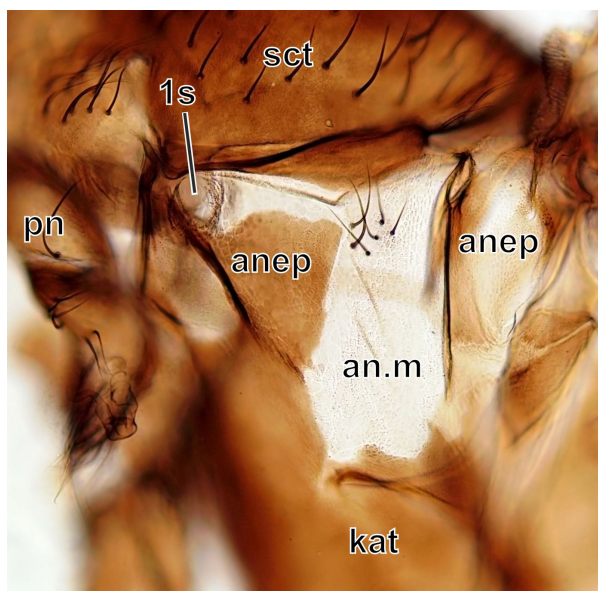
**Рис. 35, 36.** Simuliidae, имаго сбоку. 35 – *Simulium* sp., самка. 36 – *Gymnopais trifistulatus*, самец. Обозначения: lg – ноги; w – крыло. Остальные обозначения как на рис. 10.

**Figs 35, 36.** Simuliidae, adult, lateral view. 35 – *Simulium* sp., female, 36 – *Gymnopais trifistulatus*, male. Designations: lg – legs; w – wing. The other designations are as in Fig. 10.

необходимости можно добавить дополнительную порцию фиксирующей жидкости (до накрывания покровным стеклом).

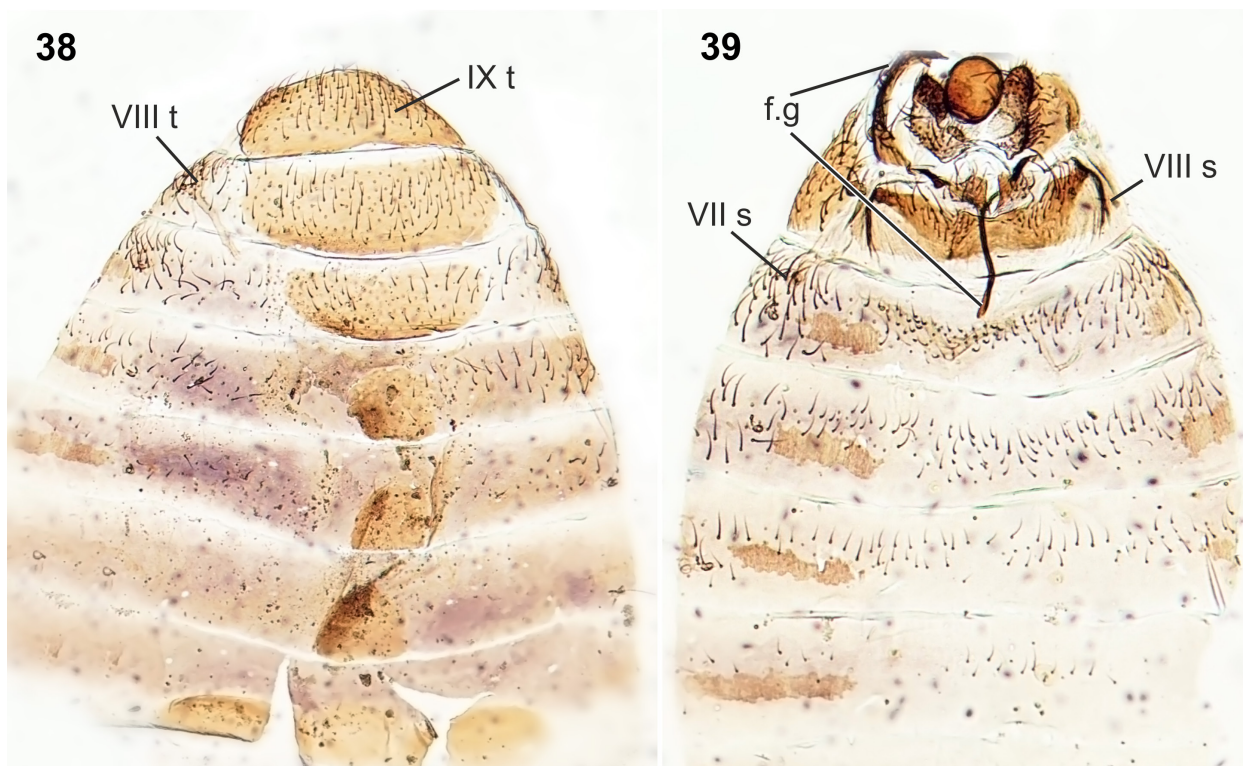
Несмотря на большое число литературных источников по изготовлению препаратов, в них подробно не рассматривали структуры, которые нужно охарактеризовать до начала препарирования. Нами впервые детально описана процедура фиксации состояний допрепаратных признаков, что важно для успешного определения насекомых. Мы рекомендуем по крайней мере предварительное исследование структур гениталий самцов кровососущих комаров и мошек проводить на временных препаратах, а личинок, куколок и имаго мошек – в чашке Петри под бинокляром.

Например, в определителе мошек А.В. Янковского ([Yankovsky] 2002), содержащем наиболее полный ключ сем. Simuliidae фауны бывшего СССР, используются такие признаки, как преобладающая окраска тела имаго, личинки, куколки, окраска ряда структур (дыхательного органа куколки и др.), форма отдельных элементов генитального аппарата самцов сверху и сбоку. В определительных таблицах видов мошек рода *Simulium* Latreille, 1802 по куколкам используется окраска дыхательного



**Рис. 37.** *Gymnopais trifistulatus*, грудь имаго сбоку. Обозначения: Переднегрудь. pn – переднеспинка. Среднегрудь. anep – анэпистерна; an.m – анэпистернальная мембрана; kat – катэпистерна; 1s – 1-е грудное дыхальце. Остальные обозначения как на рис. 27.

**Fig. 37.** *Gymnopais trifistulatus*, adult thorax, lateral view. Designations: Prothorax. pn – pronotum. Mesothorax. anep – anepisternum; an.m – anepisternal membrane; kat – katepisternum; 1s – mesothoracic spiracle. The other designations are as in Fig. 27.



**Рис. 38, 39.** *Simulium* sp., брюшко самки, постоянный препарат в эупарале. 38 – сверху. 39 – снизу. **Обозначения:** f.g – генитальный аппарат; IX t – тергит 9-го членика. Остальные обозначения как на рис. 18.

**Figs 38, 39.** *Simulium* sp., abdomen of female, euparal slide. 38 – dorsal view. 39 – ventral view. **Designations:** f.g – female genitalia; IX t – tergum IX.

органа: у *S. jugatum* Boldarueva, 1979, *S. corpulentum* Rubtsov, 1956 и *S. tumulosum* Rubtsov, 1956 дыхательные органы черные или бурые, а у *S. tuberosum* (Lundström, 1911) и *S. subtile* Rubtsov, 1956 – охряно-желтые. Самки рода *Helodon* Enderlein, 1921 различаются преобладающей окраской, которая может быть рыжевато-красной у *Helodon ferrugineus* (Wahlberg, 1844) и *H. rubicundus* Rubtsov, 1956 или черной у *H. multicaulis* (Поров, 1968) и *H. chehcirii* (Поров, 1977). Окраска тела имаго и дыхательного органа куколки различима у экземпляра, фиксированного в этаноле (Рис. 17, 35), но при обработке щелочью она утрачивается (Рис. 19, 38, 39). В определительных таблицах видов мошек подрода *Eusimulium* Rouband, 1906 по самцам используется трехмерная форма гоностерна (Рис. 28, 29, 32). Так, например, у *Simulium (Eusimulium) aureum* Fries, 1824 при рассмотрении сверху бугорок между ветвями гоностерна не выражен, а у *S. (E.) azerbaijanicum* (Djafarov,

1953) и *S. (E.) silvaticum* (Rubtsov, 1962) хорошо заметен бугорок. *Simulium azerbaijanicum* и *S. silvaticum* различаются степенью изогнутости гоностерна сбоку (данная структура изогнута у 1-го вида и ровная у 2-го). Но на постоянных препаратах оба перечисленных признака исследовать нельзя: необходимо предварительное изучение формы гоностерна во временном препарате.

Некоторые структуры можно различить и на непрепарированных гениталиях самцов мошек, например, при рассмотрении сверху видны наружные поверхности гонокситов и гоностерн (Рис. 32), однако гонофорка и парамеры (Рис. 31) остаются почти неразличимы, поскольку их закрывают гонокситы и гоностерн. В связи с этим изготовление препаратов, на наш взгляд, важно для изучения структур гениталий самцов мошек.

Нами рекомендован оригинальный алгоритм отбора объектов для препарирования при



разборе большого числа собранных личинок, куколок и имаго сем. Simuliidae. Схема выделения серий по допрепаратным признакам (см. «Препарирование мошек»), на наш взгляд, достаточно удобна и рациональна в работе.

## БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят к.б.н. И.А. Будаеву (Воронежский государственный университет), Д.С. Сусло (НПЦ НАН Беларуси по биоресурсам) и к.б.н. И.В. Филоненко (Вологодский филиал ФГБНУ «ВНИРО») за ценные рекомендации, а также к.б.н. Е.В. Панюкову (Коми научный центр УрО РАН) и анонимного рецензента за критические замечания и детальное рассмотрение рукописи. Работа выполнена при поддержке Российского научного фонда, грант № 23-14-20020 (разделы «Общая методика изготовления препаратов» и «Препарирование кровососущих комаров») и государственной темы, регистрационный номер 122031100263-1 (раздел «Препарирование мошек»).

## ЛИТЕРАТУРА

- Adler P.H. 2022.** World blackflies (Diptera: Simuliidae): a comprehensive revision of the taxonomic and geographical inventory. South Carolina. Available from: <https://biomia.sites.clemson.edu/pdfs/blackflyinventory.pdf> (accessed 18 March 2024).
- Adler P.H., Currie D.C. and Wood D.M. 2004.** The black flies (Simuliidae) of North America. Comstock Publishing Associates, New York, 941 p.
- Becker N., Petrić D., Zgomba M., Boase C., Madon M.B., Dahl C. and Kaiser A. 2020.** Mosquitoes: identification, ecology and control. Third Edition. Springer Nature, Cham, 570 p. <https://doi.org/10.1007/978-3-030-11623-1>
- Belkin J.N. 1962.** The Mosquitoes of the South Pacific (Diptera, Culicidae). University of California Press, Berkeley, Vol. 1, 2. 620+412 p.
- Colbo M.H. 1989.** *Simulium vittatum* (Simuliidae: Diptera), a black fly with a variable instar number. *Canadian Journal of Zoology*, **67**: 1730–1732. <https://doi.org/10.1139/z89-247>
- Golub V.B., Tsurikov M.N. and Prokin A.A. 2021.** Insect collections: sampling, preparing and storage of material. Second edition. KMK, Moscow, 358 p. [In Russian].
- Gutsevich A.V. 1972.** Determination of mosquito females by microscopic preparations of the head. I. Taxonomic characters and characteristic of the genera. *Parazitologiya*, **6**(4): 320–325. [In Russian with English summary].
- Gutsevich A.V. 1973a.** Determination of mosquito females by microscopic preparations of the head. II. A key to genera and subgenera. *Parazitologiya*, **7**(2): 106–110. [In Russian with English summary].
- Gutsevich A.V. 1973b.** Determination of mosquito females by microscopic preparations of the head. III. A key to species (excluding *Aedes*). *Parazitologiya*, **7**(5): 443–449. [In Russian with English summary].
- Gutsevich A.V. 1974.** Determination of mosquito females by microscopic preparations of the head. IV. A key to species of the genus *Aedes*. *Parazitologiya*, **8**(4): 329–335. [In Russian with English summary].
- Gutsevich A.V., Monchadsky A.S. and Stackelberg A.A. 1970.** Mosquitoes (Family Culicidae). Fauna of the USSR. New series, 100. Insecta, Diptera, **3**(4). Nauka, Leningrad, 384 p. [In Russian].
- Khalin A.V. 2009.** Three-dimensionality of the male genitalia shape and species identification in the mosquito genus *Aedes* Meigen, 1818 (Diptera, Culicidae). *Parazitologiya*, **43**(5): 389–410 [In Russian; English translation: *Entomological Review*, 2010, **90**: 511–532]. <https://doi.org/10.1134/S0013873810040111>
- Khalin A.V. and Aibulatov S.V. 2012.** A new technique for the study of thoracic sclerites of mosquitoes (Diptera, Culicidae) allowing correct identification of genera and species. *Parazitologiya*, **46**(4): 253–259 [In Russian; English translation: *Entomological Review*, 2013, **92**: 988–993]. <https://doi.org/10.1134/S0013873812090047>
- Khalin A.V., Aibulatov S.V. and Przhiboro A.A. 2021.** Sampling techniques for bloodsucking dipterans (Diptera: Culicidae, Simuliidae, Ceratopogonidae, Tabanidae). *Parazitologiya*, **55**(2): 134–173. [In Russian; English translation: *Entomological Review*, 2021, **101**: 1219–1243]. <https://doi.org/10.1134/S0013873821090013>
- Martin J.E.H. 1977.** Collecting, preparing and preserving insects, mites and spiders. The insects and arachnids of Canada. Part 1. Minister of Supply and Services Canada, Quebec, 182 p.
- Maslov A.V. 1962.** Mosquitoes of the Culiseta group (Diptera, Culicidae). Doctor of sciences (biology) dissertation, Vol. 1. Khabarovsk, 681 p.
- Mohrig W. 1967.** Die taxonomische Bedeutung der Struktur weiblicher Genitalien im Culiciden Tribus Aedini. *Angewandte Parasitologie*, **8**(2): 67–100. [In German].
- Mohrig W. 1969.** Die Culiciden Deutschlands. Untersuchungen zur Taxonomie, Biologie und Ökologie der einheimischen Stechmücken. Parasitologische Schriftenreihe. Heft 18. VEB Gustav Fischer Verlag, Jena, 260 p. [In German].
- Monchadsky A.S. 1936.** Mosquito larvae (Culicidae) of the USSR and adjacent countries. Keys to the fauna of the USSR, published by the Zoological Institute of

- the USSR Academy of Sciences, **24**. USSR Academy of Sciences Publishing House, Moscow, Leningrad, 383 p. [In Russian].
- Nartshuk E.P. 2003**. Key to families of Diptera (Insecta) of the fauna of Russian and adjacent countries. *Proceedings of the Zoological Institute, Russian Academy of Sciences*, **294**: 1–250. [In Russian].
- Pavlovskiy E.N. 1935**. Study methods of mosquitoes (Culicidae). Guidelines for sampling of Zoological collections published by the Zoological Museum of the USSR Academy of Sciences. **14**. Second edition. USSR Academy of Sciences Publishing House, Moscow, Leningrad, 176 p. [In Russian].
- Pavlovskiy E.N. 1957**. Methods of manual insect anatomy. USSR Academy of Sciences Publishing House, Moscow, Leningrad, 85 p. [In Russian].
- Reinert J.F. 2000a**. Comparative anatomy of the female genitalia of genera and subgenera in tribe Aedini (Diptera: Culicidae). Part I. Introduction, preparation techniques, and anatomical terminology. *Contributions of the American Entomological Institute (Gainesville)*, **32(2)**: 1–18.
- Reinert J.F. 2000b**. Comparative anatomy of the female genitalia of genera and subgenera in tribe Aedini (Diptera: Culicidae). Part V. Genus *Aedes* Meigen. *Contributions of the American Entomological Institute (Gainesville)*, **32(3)**: 1–102.
- Rjazantzeva A.E. 1970**. The structure of female genitalia of bloodsucking mosquitoes of the genus *Aedes* (Diptera, Culicidae). *Parazitologiya*, **4(5)**: 401–407. [In Russian with English summary].
- Rjazantzeva A.E. 1972**. The structure of female genitalia in bloodsucking mosquitoes of the subgenus *Ochlerotatus* (Diptera, Culicidae). *Parazitologiya*, **6(1)**: 35–47. [In Russian with English summary].
- Rubtsov I.A. 1956a**. Black flies (fam. Simuliidae). Fauna of the USSR. New series, 64. Insecta, Diptera, **6(6)**, Second edition. USSR Academy of Sciences Publishing House, Moscow, Leningrad, 860 p. [In Russian]
- Rubtsov I.A. 1956b**. Methods for studying of black flies. USSR Academy of Sciences Publishing House, Moscow, Leningrad, 55 p. [In Russian].
- Stackelberg A.A. 1969**. Diptera. Introduction. In: G.Ya. Bey-Bienko (Ed.). Keys to the insects of the European part of the USSR. Keys to the fauna of the USSR, published by the Zoological Institute of the USSR Academy of Sciences. Diptera, Siphonaptera. **5(100)**, Part 1. Nauka, Leningrad: 7–34. [In Russian].
- Usova Z.V. 1961**. Black flies of Karelia and the Murmansk region. USSR Academy of Sciences Publishing House, Moscow, Leningrad, 286 p. [In Russian].
- Volkova M.I. 1962**. Mosquito pupae of the Middle Volga region (Culicidae). *Trudy obshchestva estestvoispytateley pri Kazanskom gosudarstvennom universitete*, **65**: 148–226. [In Russian].
- Wilkerson R.C., Linton Y.-M. and Strickman D.A. 2021**. Mosquitoes of the World. Johns Hopkins University Press, Baltimore, Vol. 1, 2. 1332 p.
- Yankovsky A.V. 2002**. A key for the identification of blackflies (Diptera: Simuliidae) of Russia and adjacent countries (former USSR). Handbooks for the identification of the fauna of Russia published by Zoological Institute, Russian Academy of Sciences, **170**. ZIN, Sankt-Petersburg, 570 p. [In Russian with English summary].