

## КРАТКИЕ СООБЩЕНИЯ

УДК 595.771

### УСОВЕРШЕНСТВОВАНИЕ МЕТОДИКИ КУЛЬТИВИРОВАНИЯ КОМАРОВ *CULEX PIPPIENS PIPPIENS F. MOLESTUS* (DIPTERA, CULICIDAE) БЕЗ КОРМЛЕНИЯ КРОВЬЮ

© Е. Б. Виноградова, С. Г. Карпова

На основе экспериментального исследования предложены оптимальные фотопериодические и температурные условия для культивирования комаров *Culex pipiens pipiens f. molestus* без кормления кровью за счет автогенных яйцекладок. Данный метод разведения может быть востребован в случае необходимости периодического получения относительно небольшого количества живого материала или сохранения культуры. Рекомендовано использовать короткодневное освещение (12 ч света в сут) при 20 °С, в этих условиях около 87 % самок дают автогенные яйцекладки, состоящие в среднем из 52 яиц. Учитывая значительное влияние качества и количества личиночного питания на проявление автогенности, следует обеспечивать личинок полноценным и избыточным кормом.

Городские, или подвальные комары *Culex pipiens pipiens f. molestus* — это автогенная форма подвида *Cx. p. pipiens*, или, по мнению других авторов, вида *Cx. pipiens*. Они широко известны как активные кровососы городского населения и переносчики многих серьезных заболеваний человека и животных. Наряду с этим они издавна являются традиционным лабораторным объектом для испытания новых химических, бактериальных и вирусных препаратов, а также регуляторов роста и репеллентов, применяемых для ограничения численности комаров. Кроме того, городские комары широко используются в фундаментальных исследованиях в области экологии, физиологии и генетики двукрылых насекомых (Виноградова, 1997; Vinogradova, 2000). Благодаря простоте культивирования, а также уникальному сочетанию 3 биологических особенностей — автогении, стеногамии и гомодинамии — *Cx. p. p. f. molestus* служит идеальным лабораторным объектом. Стеногамия — способность спариваться в ограниченном пространстве без роевания, т. е. в садке, гомодинамия — отсутствие какой-либо диапаузы в цикле развития и отсюда возможность непрерывного развития. Автогения — это способность самки откладывать первую яйцекладку без питания кровью за счет таких источников, как жировое тело личинки и продукты гистолиза ее абдоминальной мускулатуры. Автогения как признак генетически детерминирована (Aslamhan, Laven, 1970), но даже у генетически автогенных самок развитие ооцитов не всегда завершается полным созреванием яиц, что характеризуется таким понятием, как экспрессивность, или проявление автогенности. Экспрессивность зависит как от внутренних (генетических и нейрогормональных), так и от внешних факторов. И те, и другие

у *Cx. p. p. f. molestus* изучены достаточно хорошо (Clements, 1992; Виноградова, 1997). Важное значение для успешного культивирования комаров имеют количество и качество личиночного питания, температурные и фотопериодические условия содержания культуры, а также источник кровяного питания имаго (птицы, животные, человек, кормление кровью через биологические мембраны) и ритм кормления. Большинство этих вопросов освещено в иностранной и отечественной литературе. В частности, Н. А. Тамариной и В. Н. Максимовым (Тамарина, 1966а, б; Тамарина, Максимов, 1978, 1980, 1982) рассчитаны алгоритмы содержания культуры *Cx. p. p. f. molestus*, позволяющие получать нужное количество насекомых с определенным весом, плодовитостью и в определенное время. Следует отметить, что многие теоретические положения, связанные с созданием оптимальных стандартных культур насекомых, разработаны именно на лабораторных культурах этих комаров (Тамарина, 1990). Как правило, большинство методик ориентированы на получение большого количества комаров, при этом используются гемотрофогенные яйцекладки, т. е. полученные за счет питания комаров кровью. Однако иногда возникает необходимость периодического получения небольшого количества живого материала или сохранения культуры, и тогда становится целесообразным упрощение методики разведения за счет использования исключительно автогенных яйцекладок.

Настоящая статья посвящена экспериментальному изучению оптимальных фототермических условий, способствующих проявлению высокого уровня автогенности и плодовитости в культуре комаров *Cx. p. p. f. molestus*.

#### МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

Опыты проведены с 3 лабораторным поколением культуры *Cx. p. p. f. molestus*, происходящей от личинок из подвалов С.-Петербурга. Личинки, отродившиеся в течение 48 ч, были разделены на 4 группы и помещены в 2 фотопериодических режима при соотношении света и темноты (СТ) 12 : 12 ч и 24 : 0 ч при температурах 20 и 25 °С. В другой серии опытов, направленной на изучение влияния количества личиночного корма на проявление автогенности, личинки были разделены на 2 группы, одна из которых получала полный рацион, а другая — его половину, при фотопериоде СТ 16 : 8 и 25 °С. Все опыты проводились в термостатированных камерах, в 4 повторностях. Личинок содержали в стеклянных банках, закрытых крышками, объемом 0.5 л, по 100 личинок в каждой банке. Кормом служила суспензия из сухих дафний и крапивы (1 : 1). Корм подавался ежедневно с избытком (за исключением варианта опыта с голоданием), в равном количестве и пропорциях во всех режимах. После начала отрождения имаго проводили ежедневные учеты количества самцов и самок, вылетевших из куколок. Имаго, отродившиеся в течение первых 5 дней, выпускались в один садок, а в течение последующих 5 дней — в другой. Комары содержались в тех же фототермических условиях, что и преимагинальные стадии, они были обеспечены водой и сахарным сиропом, но лишены воды для яйцекладки. Самки в возрасте 7 дней (этот срок достаточен для завершения автогенного овогенеза) вскрывали под бинокулярным микроскопом для определения состояния яичников и жирового тела и для подсчета яиц. К автогенным относили самок со зрелыми яйцами (У стадия Кристоферса—Мера). Неавтогенные особи, как правило, имели яичники на 1-й стадии, самки с промежуточными стадиями развития яичников не встречались. В каждой повторности было вскрыто

по 26—30 самок. Показателем размера комаров служила длина крыла, которая часто используется для этой цели (Haramis, 1983; Parker, Corbet, 1989). Измерение крыльев производилось с помощью бинокля МБС-1 при увеличении  $\times 16$ .

Для сравнения продолжительности развития комаров из разных режимов подсчитывался период, в течение которого вылетело из куколок 50 % имаго (со дня отрождения личинок).

Для статистической обработки результатов использовали критерий Стьюдента, ANOVA и корреляционный анализ (пакеты программы Statgrafics и Systat).

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Данные о влиянии личиночного питания на проявление автогенности, плодовитость и размеры тела имаго представлены в табл. 1. Ухудшение условий питания вызвало достоверное уменьшение длины крыла имаго, а также увеличение смертности и продолжительности развития преимагинальных стадий. Интересно, что при разных вариантах личиночного питания доля автогенных самок достоверно не отличалась, но при неполном рационе заметно снизилась плодовитость, от 38 до 26 яиц на самку.

Зависимость плодовитости от условий питания и размера самок *Cx. p. p. f. molestus* подтверждает уже известные данные о том, что богатое белковое питание личинок обуславливает появление более крупных и более плодовитых самок (дающих в среднем 63 яйца), тогда как при скудном питании (пшеничная мука) появляются более мелкие самки с меньшей плодовитостью (29 яиц) (Gaschen, 1932). Сходные результаты были получены и в экспериментах с *Aedes togoi*: ухудшение питания личинок приводило к уменьшению размеров самок, доли автогенных особей и плодовитости, хотя мало сказалось на смертности преимагинальных стадий (Sota, Mogi, 1994).

Таблица 1

Влияние количества корма на длину крыла, плодовитость и долю автогенных самок (фотопериод 16 : 8, 25 °С)

Table 1. The effect of the food quantity on the wing length, fecundity and the rate of autogenous females (photoperiod 16 : 8, 25 °С)

Признаки*	Полный рацион		50 % от полного рациона	
		п**		n
Длина крыла самок, мм	3.50 ± 0.02	92	3.27 ± 0.03 <sup>C</sup>	50
Длина крыла самцов, мм	3.01 ± 0.01	93	2.96 ± 0.02 <sup>B</sup>	27
Плодовитость, число яиц	38.0 ± 1.2	82	26.0 ± 1.8 <sup>C</sup>	44
Доля автогенных самок, %*	89.2 (88.1—90.4)	4	87.5 (87.1—88.5)	4
Смертность на преимагинальных стадиях, %*	28 (25.7—32)	3	64 (60.5—65) <sup>C</sup>	3
T50 (период, в течение которого вылетело из куколок 50 % имаго)	18.7 ± 0.3	3	26.0 ± 1.0 <sup>C</sup>	3

Примечание к табл. 1 и 2. Достоверность отличий между двумя вариантами личиночного питания и разными фотопериодами обозначена буквами А (отличия достоверны при  $p = 0.05$ ), В (при  $p = 0.01$ ) и С (при  $p = 0.001$ ). \* — для параметрических величин приведены средние и ошибки средних, для процентных величин — медиана и квартили. \*\* — для параметрических величин приведен объем выборки, для процентных величин — число повторностей.

Что касается влияния условий личиночного питания на проявление автогенности, то в этом наши результаты не вполне совпадают с литературными данными. В более ранних работах было показано, что обилие личиночного питания увеличивало экспрессию автогенности, а голодание снижало ее (Mathis, 1940; Shute, 1951; Deduit, 1957; Сичинава, 1976). Согласно нашим данным, различие в рационе не влияет достоверно на долю автогенных самок (табл. 1), хотя, возможно, половинный рацион все же оказался достаточным.

Влияние фотопериодического режима на размеры, экспрессию автогенности и плодовитость у *Cx. p. p. f. molestus* изучено впервые. В табл. 2 представлены данные по длине крыла, проявлению автогенности и плодовитости при двух вариантах температуры при коротком фотопериоде (СТ 12 : 12) и круглосуточном освещении (СТ 24 : 0) — режимах, которые чаще всего используются при культивировании комаров. Длина крыла самцов и самок подвержена влиянию температуры при обоих фотопериодах, имаго достоверно крупнее при 20 °С, чем при 25 °С (Т-тест,  $p < 0.001$ ). Во всех режимах крылья самцов достоверно короче, чем у самок (Т-тест,  $p < 0.001$ ). Характер влияния фотопериодизма на длину крыла самок и самцов зависит от температуры. При 20 °С различие между СТ 12 : 12 и СТ 24 : 0 недостоверно (Т-тест,  $p > 0.05$ ), тогда как при 25 °С имаго из СТ 12 : 12 достоверно крупнее, чем из СТ 24 : 0 (Т-тест,  $p < 0.001$ ).

Доля автогенных самок оказалась достаточно высокой во всех изученных режимах: средняя величина варьировала от 70 до 96 %. Различие между фотопериодами при обоих вариантах температуры достоверно и особенно велико при СТ 24 : 0 (96 и 73 % автогенных самок при 20 и 25 °С соответ-

Таблица 2

Влияние световых условий и температуры на длину крыла, плодовитость, долю автогенных самок, смертность преимагинальных стадий и продолжительность развития  
Table 2. The effect of the light conditions and temperature on the wing length, fecundity, rate of autogenous females, mortality of preimaginal stages, and developmental time

Признаки	20 °С				25 °С			
	12 : 12		24 : 0		12 : 12		24 : 0	
		n		n		n		n
Длина крыла самок, мм	4.12 ± 0.03	125	4.09 ± 0.02	145	3.71 ± 0.02	117	3.48 ± 0.01 <sup>C</sup>	139
Длина крыла самцов, мм	3.38 ± 0.01	117	3.36 ± 0.01	88	3.06 ± 0.02	96	2.96 ± 0.02 <sup>C</sup>	75
Плодовитость, число яиц	52.62 ± 1.45	107	49.82 ± 1.52	101	44.95 ± 1.37	104	32.68 ± 1.17 <sup>C</sup>	94
Доля автогенных самок, %*	86.8 (84.3—87.4)	4	69.9 <sup>B</sup> (66.0—73.4)	4	96.4 (89.8—100)	4	73.9 <sup>A</sup> (66.1—78.3)	4
Смертность на преимагинальных стадиях, %*	27.6 (25.1—29.6)	3	28.0 (24.7—28.8)	3	50 (44—51.5)	3	28.0 <sup>C</sup> (27.5—30.5)	3
T50** (период, в течение которого вылетело из куколок 50 % имаго)	26.7 ± 1.7	3	29.0 ± 0.9	3	18.3 ± 0.9	3	19.3 ± 0.7	3

венно). Средняя плодовитость варьировала в значительных пределах, от 33 до 53 яиц на самку, и была достоверно выше в обоих фотопериодах при 20 °С, чем при 25 °С. Плодовитость положительно коррелировала с длиной крыльев. Коэффициент корреляции Пирсона был высоко значим (0.01) и составил 0.81 и 0.7 для самок, воспитанных при 20 и 25 °С соответственно.

Полученные результаты подтверждают 2 уже известные для комаров закономерности. Во-первых, с понижением температуры содержания преимагинальных стадий наблюдается увеличение длины крыльев. Так, у *Cx. pipiens* длина крыльев составляла при 30, 25 и 16 °С 4.79, 4.83 и 5.02 мм соответственно, а у *Cx. p. quinquefasciatus* — 4.77, 4.82 и 4.94 мм соответственно (Tekle, 1960). Аналогичная тенденция отмечена у *Aedes togoi* (Sota, Mogi, 1994). Для другого вида, *Aedes triseriatus*, доказано, что длина крыльев положительно скоррелирована с сухим весом самки (Nagamis, 1983). Во-вторых, автогенная плодовитость коррелирует с длиной крыла, т. е. размером самки. Это было показано на многочисленных локальных популяциях *Cx. p. p. f. molestus* из подвалов С.-Петербурга (Vinogradova, 2001) и в специальных экспериментах (Виноградова, неопубликованные данные).

Работы, касающиеся участия фотопериодизма в определении экспрессии автогении и плодовитости, немногочисленны и неоднозначны. Известно, что у комаров *Culex tarsalis* комбинация низкой температуры с коротким фотопериодом подавляла проявление автогении, индуцируя у генетически автогенных самок факультативную диапаузу (Reisen, 1986). В экспериментах с *Aedes togoi* из Японии установлено, что проявлению автогении способствовали температуры 15 и 20 °С и короткий фотопериод (СТ 10 : 14). Ковариантный анализ показал, что плодовитость зависит не от фототермических условий как таковых, а от размера самки (Sota, Mogi, 1994). Возможно, что и в наших экспериментах эти условия оказывали на проявление автогенности и плодовитость опосредованное влияние, контролируя размер самок.

Проведенные нами эксперименты позволяют рекомендовать в качестве оптимальных условий для культивирования комаров *Cx. p. pipiens f. molestus* за счет автогенных яйцекладок комбинацию температуры 20 °С с коротким фотопериодом (СТ 12 : 12), в этих условиях довольно высокая доля автогенных самок (86.8 %) сочетается с самой высокой плодовитостью (53 яйца на самку) и относительно низкой смертностью преимагинальных стадий.

Работа осуществлена при частичной финансовой поддержке Программы ОБН РАН «Фундаментальные основы управления биологическими ресурсами».

#### Список литературы

- Виноградова Е. Б. Комары комплекса *Culex pipiens* в России // Тр. Зоол. ин-та РАН. 1997. Т. 271. С. 1—307.
- Сичинава Ш. Г. Влияние личиночного питания и имагинальной подкормки на степень автогенности и плодовитости комаров *Culex pipiens molestus* в разные периоды года // Паразитология. 1976. Т. 10, № 1. С. 48—52.
- Тамарина Н. А. Цикл развития *Culex pipiens molestus* Forsk // Вестн. МГУ. Сер. Биология, почвоведение. 1966а. № 3. С. 48—56.
- Тамарина Н. А. К биологии имаго *Culex pipiens molestus* Forsk // Там же. 1966б. № 3. С. 65—75.
- Тамарина Н. А. Основы технической энтомологии. М., 1990. 203 с.
- Тамарина Н. А., Максимов В. Н. Оптимизация лабораторных культур насекомых на примере комаров *Culex pipiens molestus* Forsk (Diptera, Culicidae) // Журн. общ. биол. 1978. Т. 39, вып. 1. С. 111—121.

- Тамарина Н. А., Максимов В. Н. Об оптимизации лабораторных культур комаров *Culex pipiens molestus* Forsk (Diptera, Culicidae) // Вестн. МГУ. Сер. 16, биология. 1980. № 3. С. 31—36.
- Тамарина Н. А., Максимов В. Н. Алгоритм создания управляемых оптимизированных стандартных культур личинок комаров // Вестн. МГУ. Сер. 16, биология. 1982. № 1. С. 48—54.
- Aslamhan M., Laven H. Inheritance of autogeny in the *Culex pipiens* complex // Pakistan Journ. Zool. 1970. N 2. P. 121—147.
- Clements A. N. The biology of mosquitoes 1. Development, nutrition and reproduction // Chapman and Hall. 1992. 393 p.
- Deduit Y. Etudes sur la ponte par autogenese des Culicides. II. Donnees numeriques sur l'acte de ponte chez la femelle fecondee de *Culex pipiens autogenicus* Roubaud // C. r. Soc. Biol. 1957. Vol. 151. P. 974—977.
- Gaschen H. Influence de la temperature et de la nutrition larvaire sur le development de *Culex pipiens* (race autogene) // Bull. Soc. Path. Exot. 1932. T. 25. P. 577—581.
- Haramis L. D. Increased adult size correlation with parity in *Aedes triseriatus* // Mosq. News. 1983. Vol. 43. P. 77—79.
- Mathis M. Biologie d'une souche de *Culex pipiens autogenicus* Roubaud 1933 au cours d'un elevage de vingt generations en serie // Bull. Soc. Path. Exot. 1940. T. 33, N 3. P. 201—207.
- Parker M. J., Corbet P. S. Size variation and reproductive success of female *Aedes punctator* (Diptera, Culicidae) // Ecol. Ent. 1989. Vol. 14. P. 297—309.
- Reisen W. K. Overwintering studies on *Culex tarsalis* (Diptera, Culicidae) in Kern County California: life stages sensitive to diapause induction cues // Ann. Ent. Soc. Amer. 1986. Vol. 79, N 4. P. 674—676.
- Shute P. G. *Culex molestus* // Trans. R. Ent. Soc. London, 1951. Vol. 102, N 7. P. 380—382.
- Sota T., Mogi M. Seasonal life cycle and autogeny in the mosquito *Aedes togoi* in Northern Kyushu, Japan, with experimental analysis of the effects of temperature, photoperiod and food on life-history traits // Res. Popul. Ecol. 1994. Vol. 36, N 1. P. 105—114.
- Tekle A. The physiology of hibernation // Amer. Journ. Trop. Med. Hyg. 1960. Vol. 9. P. 321—330.
- Vinogradova E. B. *Culex pipiens pipiens* mosquitoes: taxonomy, distribution, ecology, physiology, genetics, applied importance and control. 2000. Pensoft. 250 p.
- Vinogradova E. B. Reproduction pattern of the house mosquito *Culex pipiens pipiens f. molestus* (Diptera, Culicidae) from the St. Petersburg basements // Proc. Zool. Inst. Russ. Acad. Sci. 2001. Vol. 289. P. 167—172.

Зоологический институт РАН,  
Санкт-Петербург

Поступила 5 XII 2005

AN IMPROVEMENT OF THE METHOD  
FOR REARING OF THE MOSQUITO *CULEX PAPIENS PAPIENS F. MOLESTUS*  
(DIPTERA, CULICIDAE) WITHOUT BLOOD FEEDING

E. B. Vinogradova, S. G. Karpova

*Key words:* *Culex pipiens pipiens f. molestus*, rearing, photoperiod, temperature, autogeny.

SUMMARY

Optimal photoperiod and temperature conditions for rearing of the mosquito *Culex pipiens pipiens f. molestus* without blood feeding (through autogenous eggs) were experimentally substantiated. This method may be used in order to obtain relatively small quantities of mosquitoes or for preservation of a laboratory colony. Optimal conditions of rearing are the short-day photoperiod (12 h of light per day) at 20 °C, when 87 % of the females produce autogenous eggs rafts consisting of 52 eggs on the average. It should be emphasized that larval food must be adequate and abundant, because the quality and quantity of it has a pronounced effect on the autogeny rate.