

# 蚊虫标本制作技术\*

王创新, 陈斌, 付文博, 闫振天

(重庆师范大学昆虫与分子生物学研究所 重庆市动物生物学重点实验室, 重庆 401331)

**摘要:**蚊虫是一类重要的媒介昆虫,有关蚊虫的生物学和形态分类学等研究是有效控制它们的前提;完好的卵、幼虫、蛹、成虫、外生殖器标本是开展蚊虫形态分类等研究的基础。然而以往报道的蚊虫标本制作技术尚不完善,因此有改进的必要。本文系统地介绍了一套经过多年实践而改进、总结出的较理想的蚊虫标本制作工具;在原有方法的基础上结合多年的蚊虫标本制作经验系统地总结和报道了卵、幼虫(包括幼虫皮)、蛹(包括蛹皮)、成蚊及其外生殖器标本的制作技术,对以往蚊虫标本制作的技术有许多完善和补充,特别蚊虫各阶段标本的处理技术,旨在为蚊虫研究工作者制作蚊虫标本提供方法指导。同时本文还首次详细介绍了蚊虫针插标本和玻片标本包装和邮寄方法,为蚊虫分类学研究者之间进行标本交换提供了方法指导。

**关键词:**蚊虫;标本制作;标本邮寄

**中图分类号:**Q95-34<sup>+</sup>2;Q969.44<sup>+</sup>2.2

**文献标志码:**A

**文章编号:**1672-6693(2013)03-0016-05

蚊虫是节肢动物门(Arthropoda)、昆虫纲(Insecta)、双翅目(Diptera)、蚊科(Culicidae)昆虫。蚊虫是最重要的医学昆虫,是多种传染病的传播媒介,从蚊类分离到的病毒多达265种,占登记虫媒病毒总数的50%。蚊虫的研究涉及昆虫学、寄生虫学、流行病学及卫生防疫等领域,是昆虫纲中研究最广和最深的昆虫类群之一<sup>[1-4]</sup>。

世界蚊虫目前已知有46属3490种<sup>[5]</sup>,中国蚊虫已知有18属371种<sup>[6]</sup>。蚊虫的分类远未弄清楚,世界范围内蚊虫种类可能是已知蚊虫种类的3~5倍。一些是因为存在于原始森林中,迄今未采集到;还有一些是因为复合种的存在,未进行正确的形态分类,例如按蚊亚科中的蚊虫存在着许多复合种,它们外形非常相似,如果没有一套优良的卵、幼虫、蛹和成虫标本,很难开展彻底的形态分类研究和鉴定。

关于蚊虫的标本制作技术,国外Gaffigan、Klowden、Lane等人<sup>[7-10]</sup>有较完整的文献报道。而中国蚊虫研究的文献对此却缺少比较完整和系统的介绍和总结。廖肖依等人<sup>[11]</sup>、朱淮民<sup>[12]</sup>、常征<sup>[13]</sup>和丁勇健<sup>[14]</sup>对针插法及玻片标本制作方法都有报道,但是并不详细,有改进的必要。王明春<sup>[15]</sup>对针插法及玻片标本制作方法有详细的介绍,但是报道的制作方法比较繁杂,而且未涉及制作中对蚊虫的处理。此外,国内目前尚没有蚊虫针插标本和玻片标本包装和邮寄方法的介绍。

本文在上述原有方法的基础上,结合多年的蚊虫

标本制作经验系统地总结和报道了蚊虫标本制作所需的工具以及蚊虫卵、幼虫(包括幼虫皮)、蛹(包括蛹皮)、成蚊及外生殖器标本的制作技术,对以往蚊虫标本制作的方法和技术有许多完善和补充(特别是蚊虫各阶段标本的处理技术),为蚊虫研究工作者提供方法指导。本文还首次详细介绍了蚊虫针插标本和玻片标本包装和邮寄方法,以为蚊虫分类学研究者之间进行标本交换提供方法指导。

## 1 蚊虫标本制作工具

成蚊需制作成针插标本便于观察及长期保存。蚊虫整个生活史的标本对形态分类也至关重要。野外采集到的幼虫和蛹需要饲养至成虫从而获得幼虫皮及蛹皮标本,这些标本对形态鉴定亦非常重要;而此类标本需制作成玻片标本以长期保存和观察。本实验室根据自己的标本制作经验对针插标本和玻片标本制作所需的工具整理如表1。

## 2 标本制作方法

### 2.1 成蚊整体标本制作

野外采集的成蚊用乙醚毒管杀死,单只保存于Beem小管内并做好标签,然后用加入硅胶的自封密闭袋干燥保存带回实验室制作标本<sup>[16]</sup>。野外采集的幼虫或蛹在实验室饲养至成蚊,羽化24h后用乙酸乙酯毒瓶杀死(图1A)。如杀死的成蚊不能及时做成标本,需用干燥剂干燥保存。

\* 收稿日期:2013-01-31 修回日期:2013-03-01 网络出版时间:2013-05-20 18:04

资助项目:美国卫生部NIH项目(No. 1R01AI095184;No. R03 TW008237;No. U19AI089672);国家自然科学基金(No. 31071968)

作者简介:王创新,男,硕士研究生,研究方向为昆虫学,E-mail:wxc89@163.com;通讯作者:陈斌,E-mail:c\_bin@hotmail.com

网络出版地址:http://www.cnki.net/kcms/detail/50.1165.N.20130520.1804.201303.16\_004.html

干燥保存的成蚊标本制作时需先回软。回软时在回软缸中加入适量的 5%乙醇,并在其中滴入几滴甲醛,软化 24 h 左右即可。昆虫标本在保存时极易受到腐食性昆虫的蛀食和霉菌的浸染,特别是在湿度较大地区这种现象更为明显。甲醛是高效消毒剂,甲醛水溶液具有广谱杀菌作用,回软时加入甲醛即能杀死危害蚊虫标本的各种微生物及腐食性小昆虫。

用剪刀剪出一个边长 2 cm,底边长 0.3 cm 的等腰三角形小纸片,在 3 级台上用 3 号昆虫针穿透纸片远离纸尖的一端,纸片即固定在昆虫针上。在三级台上以第三台确定三角纸片在昆虫针上的高度(纸片距离昆虫针底端 2.5 cm)。将标本在一表面平整的平板边缘放好,调整标本姿势(图 1B),使标本头部向左且面对标本制作人,标本的足向着针。在三角纸片的顶

端背面沾少许 Ambroidcement 胶水,将针倒转,用带胶水的三角纸片顶端去接触标本的中胸盾片侧面(图 1C)之后检视标本粘贴位置是否正确(图 1D)。随后,按三级台的第二台高度将采集标签插定在昆虫针上三角纸片下方(标签距离昆虫针底端 1.5 cm,如图 1E 所示),采集标签为 1.5 cm×0.7 cm 的长方形卡纸,标签上需注明标本采集地点、日期、采集人、采集编号等信息。标本制作好后,整齐插入标本盒,然后在标本室保存。标本鉴定后(图 1F),需将鉴定标签按三级台的第一台高度插定在昆虫针上(标签距离昆虫针底端 0.5 cm,如图 1G 所示),鉴定标签大小同采集标签,标签需写明蚊虫种名,鉴定人和鉴定日期。插好标签后(图 1H),将标本按类群再次插入标本盒中,放入樟脑进行保存。

表 1 针插和玻片标本制作工具  
Tab.1 Pincushion and slide specimen making tools

用途	工具名称	供应公司	用途	工具名称	供应公司
针插标本制作工具	3 号昆虫针	江苏合兴农林科学器材厂	玻片标本制作工具	小型培养皿	上海五一玻璃仪器厂
	Ambroidcement 胶水	BioQuip 公司		干燥箱	上海智诚分析仪器制造有限公司
	3 级台	西安狄寨农业科研仪器厂		回软罐	上海申立玻璃仪器销售有限公司
	镊子	上海七序德电子科技有限公司		Leica EZ4HD 体视显微镜	北京普瑞赛司仪器有限公司
	回软罐	上海申立玻璃仪器销售有限公司		无水乙醇	重庆川东化工有限公司
	Leica EZ4HD 体视显微镜	北京普瑞赛司仪器有限公司		乙二醇乙醚	重庆川东化工有限公司
玻片标本制作工具	载玻片	海德创业(北京)生物科技有限公司	乙酸乙酯	重庆川东化工有限公司	
	盖玻片	海德创业(北京)生物科技有限公司	氢氧化钠(NaOH)	重庆川东化工有限公司	
	胶头滴管	深圳市恒茂鑫胶业有限公司	丁香油(Clove oil)	武汉远成共创科 技有限发展公司	
	解剖针	杭州磐恒科技有限公司	优巴拉尔(Euparal)	上海酶联生物科技有限公司	

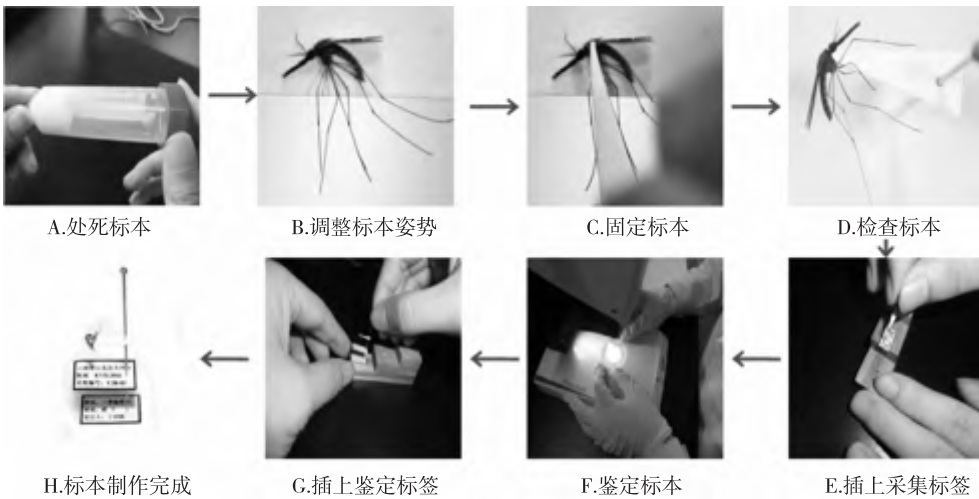


图 1 成蚊标本制作流程

Fig. 1 The making process of adult mosquito specimen

2.2 雌雄外生殖器标本制作

一些蚊虫需要借助外生殖器才能进行准确的形态

鉴定,所以制作生殖器标本尤其重要。蚊虫的外生殖器一般作成玻片标本以便于保存和观察。因制作的生殖器玻片已与原来的标本分开,为防止混乱和丢失,生殖器玻片标本的采集标签应与来源成蚊采集标签的内容完全一致,玻片标本标签为边长 2.5 cm 的正方形不干胶贴纸,贴于玻片最左端。

在分离外生殖器标本前,成蚊标本按前文所述方法回软。待标本充分软化后,将标本移至显微镜下,用显微剪在第Ⅶ腹节处剪下生殖器囊(图 2A)。显微剪使用前用 5%

NaOH 浸泡。将解剖出的外生殖器置于 5% NaOH 中(图 2B),并在 50 °C 干燥箱中静置 2 h 脱脂以清洗生殖器囊(图 2C)。标本从干燥箱中取出后用吸管吸去 NaOH,加无菌水将标本清洗干净。用数滴乙二醇乙醚覆盖标本,静置 1 h 脱水(图 2D)。吸除多余的乙二醇乙醚,加数滴丁香油包裹标本,静置 1 h 透明标本(图 2E)。在一玻片正中滴加几滴优巴拉尔,将此玻片和一个正中滴有几滴丁香油的玻片并列放置于显微镜载物台上,将生殖器囊先移入有丁香油的玻片上,用解剖针从第Ⅷ腹节处解剖,移出生生殖器(图 2F),然后将生殖器移至有优巴拉尔的载玻片上,生殖器突起应向

上固定(图 2G)。将玻片室温放置 8 h 干燥,再加适量的优巴拉尔,检查无误后加盖 10 mm 盖玻片(图 2H),贴上采集标签(图 2I)。

盖片时用镊子夹住盖玻片的一端,斜向载玻片,使盖玻片的一端先接触优巴拉尔,迅速松开镊子,盖片自然贴于优巴拉尔上,以防产生气泡。如仍有气泡,可室温下静置几小时或在 50 °C 恒温箱中放置约 10 min,气泡自然消失,将标本在 50 °C 干燥箱中干燥 4 周(图 2J)。标本鉴定后在玻片最右端贴上相应的鉴定标签(标签大小同生殖器采集标签,见图 2K 和 L)。然后将标本按类群移入标本盒中保存。



图 2 蚊虫外生殖器标本制作流程

Fig. 2 The making process of mosquito genitalia specimen

### 2.3 幼虫皮和蛹皮标本制作

为防止标本混乱和丢失,将同一个体的幼虫皮和蛹皮置于同一个玻片中,玻片左右两端分别贴上与配套成蚊完全相同的采集标签与鉴定标签(标签大小、内容及粘贴位置同生殖器标本标签)。

将幼虫皮和蛹皮移入装有无水乙醇的玻皿中,浸泡 10 min 脱水(图 3A),然后吸去无水乙醇,加入适量的乙二醇乙醚,浸泡 15 min 脱水(图 3B)。幼虫皮和蛹皮处理完成后,滴少量优巴拉尔于载玻片正中,将清洗干净的标本置于优巴拉尔中(图 3C),幼虫皮在左,蛹皮在右。用解剖针将蛹皮头胸部与腹部分开,后胸板与腹部相连,腹部背面朝上,将头胸部自背裂处左右展开,使翅指向头部,呼吸管朝上(图 3D 和 E);调整幼虫皮,使其头朝前,背部向上,将幼虫皮的躯体和刚毛整理至最佳位置(图 3F 和 G);加盖盖玻片,贴上采集

标签,待标本干燥后鉴定,然后贴上鉴定标签按类群移入标本盒中保存(图 3H 和 L)。

### 2.4 幼虫、蛹、卵标本制作

在 60 °C 的热水中杀死卵、幼虫和蛹,再放入无水乙醇中脱水两次,每次脱水 15 min。然后置于乙二醇乙醚中浸泡 30 min 脱水。从乙二醇乙醚中将幼虫样本取出,置于载玻片的正中,滴少量优巴拉尔于样本上,调整标本,使标本背部朝上,头、胸、腹处于自然状态下的位置,用显微剪在标本第Ⅷ腹节处剪开尾部腹节,将尾部的腹节放在正确的位置,按蚊标本的气门或库蚊的呼吸管向左。

将一正中滴有几滴丁香油的玻片和一正中滴有几滴优巴拉尔的玻片并列放置于显微镜载物台上,将蛹从乙二醇乙醚中取出后移入有丁香油的玻片上,处理方法同蛹皮处理方法,然后将蛹移至贴有采集标签的

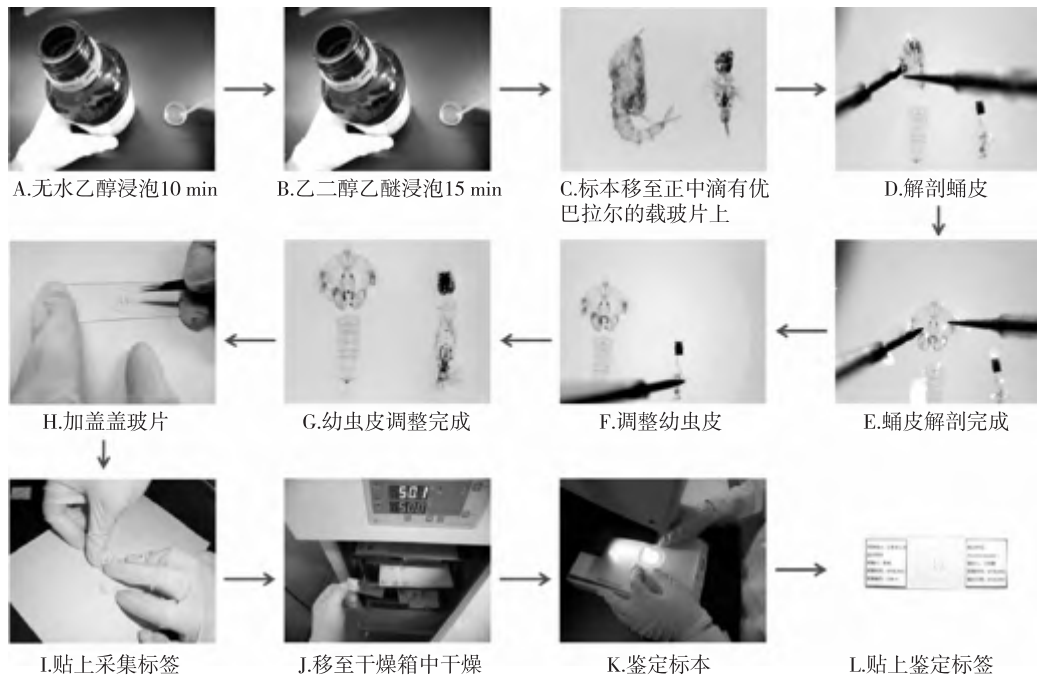


图 3 幼虫皮及蛹皮标本制作过程

Fig. 3 The making process of larval and pupal exuviae specimen

载玻片上,蛹的摆放位置亦同蛹皮。卵可直接进行封片。加盖盖玻片,贴上采集标签,待标本干燥后鉴定,然后贴上鉴定标签按类群移入标本盒中保存(标签大小、内容及粘贴位置同生殖器标本标签)。

### 3 蚊虫标本的邮寄方法

蚊虫分类学的研究者经常会互相交换标本进行学术交流,邮寄是常用的标本交换方法之一,如果缺乏相关邮寄经验,邮寄时就会造成标本的损坏,给研究工作造成损失,所以在邮寄过程中必须注意标本的保护。蚊虫标本寄去国外时需办理检疫检验手续,如邮寄人不熟悉邮寄流程,邮寄标本时会遇到诸多问题,浪费大量时间。为此,本文对标本邮寄过程特别进行详细介绍,供蚊虫研究者交流标本时参考。

#### 3.1 针插标本的包装

用聚乙烯复合气泡垫将装有成蚊针插标本的标本盒包裹固定,用胶带封紧。将包装后的标本盒装进一个较大的纸箱中,在标本盒周边填充厚厚的泡沫,防止标本盒在纸箱中振荡。

#### 3.2 玻片标本的包装

将玻片置于玻片标本盒中,在相邻玻片标本两端加入泡沫块,使玻片标本在标本盒中不能晃动为宜,以免邮寄过程中因震动损坏标本。用聚乙烯复合气泡垫将标本盒包裹固定,用胶带封紧。将包装好的标本盒装进纸箱中,在标本盒周边填充泡沫,防止标本盒振荡。

#### 3.3 标本邮寄

3.3.1 寄出过程 国内邮寄时,可由邮寄机构直接进行邮寄。如标本需寄往国外,邮寄人须提前到卫生部或省、自治区、直辖市卫生行政部门办理准出入境证

明,持准出入境证明到出入境检验检疫机构申办《出入境特殊物品卫生检疫审批单》。检验检疫机构凭《出入境特殊物品卫生检疫审批单》受理报检,邮寄物经检疫合格或经检疫处理合格的,检验检疫机构在邮件显著位置加盖检验检疫章放行,发放《出/入境货物通关单》。邮寄人持通关单可通过 DHL、联邦快递等国际邮寄机构运递。

3.3.2 收件须知 当接收国外邮寄的标本时,收件人须事先按有关规定向国家质检总局或由之授权的进境口岸所在地直属检验检疫机构申请办理特许检疫审批手续。邮寄物进境后,由检验检疫机构对其进行检疫,经检疫合格后由邮政工作人员将邮寄物送至目的地。

### 4 结语

本文是重庆师范大学生命科学学院陈斌教授的研究团队蚊虫标本制作方法的总结,尤其是在伦敦自然历史博物馆的 Ralph Harbach 教授和 Lorna Cuvell博士指导下进行大量的蚊虫标本制作工作的经验和总结。在标本制作的过程中研究者参考他人方法的同时,结合本实验室的方法,摸索出一套完整的卵、幼虫(包括幼虫皮)、蛹(包括蛹皮)、成蚊、雌雄成蚊外生殖器标本的制作技术。

本文较为详尽的介绍了蚊虫从卵、幼虫、蛹到成虫的标本制作所需要的便于携带的工具及标本制作方法。同时,本文也对以往文献中很少提到的蚊虫各阶段标本的处理技术做了详尽的介绍。在蚊虫研究中,蚊虫研究者通常会遇到标本交换、邮寄的问题,因蚊虫标本在邮寄过程中需要办理大量的手续,本文对标本邮寄过程进行详细介绍,以期为蚊虫研究者邮寄

标本时提供方便。同时本文是对以往蚊虫标本制作方法的总结,也是对蚊虫相关知识的补充和完善,为蚊虫研究者在标本制作技术、蚊虫标本交流等方面提供方法指导。

#### 参考文献:

- [1] 陆宝麟,陈汉彬,苏龙,等. 中国动物志,昆虫纲,第八卷,双翅目,蚊科(上)[M]. 北京:科学出版社,1997:1-55.  
Lu B L, Chen H B, Su L, et al. Fauna Sinica, Insecta, Vol. 8, Diptera: Culicidae(I)[M]. Beijing: Science Press, 1997: 1-55.
- [2] 陆宝麟,赵彤言. 50年来我国的蚊类研究[J]. 昆虫学报, 2000, 43(5): 1-7.  
Lu B L, Zhao T Y. The mosquito studies in the past fifty years in China[J]. Acta Entomologica Sinica, 2000, 43(5): 1-7.
- [3] 邵柏,黄佳礼,张岳林,等. 蚊虫研究进展[J]. 中国国境卫生检疫杂志, 2002, 25(3): 183-185.  
Shao B, Huang J L, Zhang Y L, et al. The progress of mosquito research [J]. Chinese Journal of Frontier Health and Quarantine, 2002, 25(3): 183-185.
- [4] 周钦贤. 中国蚊类及蚊媒病早期研究的综述[J]. 中国热带医学, 2003, 3(1): 19-23.  
Zhou Q X. Pilot studies on mosquitoes and mosquito-borne diseases in China[J]. China Tropical Medicine, 2003, 3(1): 19-23.
- [5] Harbach R E. The Culicidae (Diptera): a review of taxonomy, classification and phylogeny[J]. Zootaxa, 2007, 1668: 591-638.
- [6] 张菊仙,龚正达. 中国蚊类研究概况[J]. 中国媒介生物学及控制杂志, 2008, 19(6): 595-599.  
Zhang J X, Gong Z D. China mosquitoes research survey [J]. Chinese Journal of Vector Biology and Control, 2008, 19(6): 595-599.
- [7] Gaffigan T, Pecor J. Collecting, rearing, shipping and mounting mosquitoes [EB/OL]. [2012-10-04]. <http://wrbu.si.edu/Techniques.html>.
- [8] Lane J. The preservation and mounting of insects of medical importance[J]. WHO/Vector Control, 1965, 152(65): 27.
- [9] Schauf M E. Collecting and preserving insects and mites [M]//Techniques and Tools. Washington D. C. :The Agricultural Research Publication, 1986: 1-52.
- [10] Klowden M J. Making generalizations about vectors; is there a physiology of "the mosquito"? [J]. Entomological Research, 2007, 37(1): 1-13.
- [11] 廖肖依,肖芬. 昆虫标本的采集、制作和保存方法[J]. 现代农业科技, 2012(6): 42-43.  
Liao X Y, Xiao F. Collection, production and preservation of insect specimen[J]. Modern Agricultural Science and Technology, 2012(6): 42-43.
- [12] 朱淮民. 蚊虫采集、保存及标本制作[J]. 中国寄生虫学与寄生虫病杂志, 2006, B12(24): 73-74.  
Zhu H M. Collecting and preserving mosquitoes: tools and techniques[J]. Chinese Journal of Parasitology and Parasitic Diseases, 2006, B12(24): 73-74.
- [13] 常征. 昆虫标本制作方法新探[J]. 文山师范高等专科学校学报, 2002, 14(1): 83-84.  
Chang Z. A new research on insect specimens making[J]. Journal of Wenshan Teachers College, 2002, 14(1): 83-84.
- [14] 丁勇健. 昆虫的采集与标本制作[J]. 中国国境卫生检疫杂志, 1989, 12(4): 257-262.  
Ding Y J. Collection and production of insect specimen [J]. Chinese Journal of Frontier Health and Quarantine, 1989, 12(4): 257-262.
- [15] 王明春. 昆虫标本的制作[J]. 陕西林业科技, 2000(3): 40-43.  
Wang M C. The making of insect specimen[J]. Shaanxi Forestry Science and Technology, 2000(3): 40-43.
- [16] 闫振天,陈斌,李廷景,等. 蚊虫的采集及实验室饲养技术[J]. 重庆师范大学学报:自然科学版, 2012, 29(6): 30-34.  
Yan Z T, Chen B, Li T J, et al. Techniques of mosquitoes collecting and laboratory rearing[J]. Journal of Chongqing Normal University: Natural Science, 2012, 29(6): 30-34.

## Animal Sciences

### Mosquito Specimens Making Technology

WANG Chuang-xin, CHEN Bin, FU Wen-bo, YAN Zhen-tian

(Institute of Entomology and Molecular Biology, Chongqing Key Laboratory of Animal Biology, Chongqing Normal University, Chongqing 401331, China)

**Abstract:** Mosquito is a kind of important medical insects. Mosquito biological and morphological taxonomic research is the premise of effective control of mosquitoes. Specimen making of the mosquito egg, larvae, pupa and adult, genitalia is essential for taxonomic study. However, the technology for mosquito specimens making is yet to be improved and perfected. With many years of practice and improvement, this paper proposes the ideal and portable tools of specimen making, and the specimen making processing of the eggs, larvae, pupae, larval and pupal exuviae, adults, male and female genitalia, and also introduces the packaging and mailing method of mosquito pincushion specimens and slide specimens. These techniques have a lot of improvements on the basis of earlier protocols, and can provide with for the making, and transport of mosquito specimens.

**Key words:** mosquito; specimen making; specimen mailing

(责任编辑 方 兴)