



UNIVERZITET U NOVOM SADU
POLJOPRIVREDI FAKULTET



DIVERZITET I DISTRIBUCIJA PEŠČANIH MUŠICA
(DIPTERA, PHLEBOTOMINAE) NA TERITORIJI
SRBIJE

- DOKTORSKA DISERTACIJA -

Mentor:
Prof. Dr Dušan Petrić

Kandidat:
MSc Slavica Vaselek

Novi Sad, 2018.

**UNIVERZITET U NOVOM SADU
POLJOPRIVREDNI FAKULTET**

KLJUČNA DOKUMENTACIJSKA INFORMACIJA

Redni broj: RBR	
Identifikacioni broj: IBR	
Tip dokumentacije: TD	Monografska dokumentacija
Tip zapisa: TZ	Tekstualni štampani materijal
Vrsta rada (dipl., mag., dokt.): VR	Doktorska disertacija
Ime i prezime autora: AU	Master Slavica Vaselek
Mentor (titula, ime, prezime, zvanje): MN	Dr Dušan Petrić, redovni profesor, Poljoprivredni fakultet Novi Sad
Naslov rada: NR	Diverzitet i distribucija peščanih mušica (Diptera, Phlebotominae) na teritoriji Srbije
Jezik publikacije: JP	Srpski
Jezik izvoda: JI	srpski / engleski
Zemlja publikovanja: ZP	Republika Srbija
Uže geografsko područje: UGP	AP Vojvodina
Godina: GO	2017.
Izdavač: IZ	autorski reprint
Mesto i adresa: MA	Poljoprivredni fakultet, Trg Dositeja Obradovića 8, 21000 Novi Sad
Fizički opis rada: FO	12 poglavlja / 128 stranica / 14 mapa / 4 tabele / 139 slika / 88 šema / 6 grafika / 6 priloga / 210 referenci / biografija i zahvalnica
Naučna oblast: NO	Tehničko-tehnološke i biotehničke nauke
Naučna disciplina: ND	Entomologija
Predmetna odrednica, ključne reči: PO	Diverzitet, peščane mušice
UDK	565.7:575.832(043.3)

Čuva se: ČU	Biblioteka poljoprivrednog fakulteta Novi Sad
Važna napomena: VN	Nema
Izvod: IZ	
Flebotomine (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) su veoma mali insekti nežne građe, koji su kod nas poznati kao peščane mušice ili papatači. Ženke ovih insekata imaju hematofagni režim ishrane i od davnina su poznate kao vektori različitih oboljenja. Najveći epidemiološki značaj flebotomine imaju kao vektori parazitskih protozoa iz roda <i>Leishmania</i> (Protozoa, Kinetoplastida) uzročnika lajšmanioza. Pored lajšmanioza, peščane mušice su vektori više vrsta arbovirusa, od kojih su svakako najznačajniji napuljski i sicalijanski serotipovi (<i>Phlebovirus</i> , <i>Bunyaviridae</i>) koji kod ljudi izazivaju flebotomsku tj. papatačiju/papatačku groznicu.	
Peščane mušice su u Srbiji igrale veoma značajnu ulogu u drugoj polovini XX veka u period velikih epidemija lajšmanioze i papatačijeve groznice. Istraživanja peščanih mušica na teritoriji Republike Srbije sprovedena su u periodu od 1947. do 1990. godine. Tom prilikom registrovano je prisustvo 7 vrsta: <i>Phlebotomus papatasi</i> , <i>P. neglectus</i> , <i>P. tobii</i> , <i>P. perfiliewi</i> s.l., <i>P. sergenti</i> s.l., <i>P. simici</i> i <i>P. balcanicus</i> . Nakon što je uočeno da broj peščanih mušica iz godine u godinu opada kao i da nema novih prijavljenih slučajeva lajšmanioze, istraživanja peščanih mušica u Srbiji su obustavljena.	
Pored toga što se u našoj državi lajšmanioza smatra davno iskorenjenom bolesti, u protekloj deceniji prisustvo sporadičnih slučajeva lajšmanioze kod ljudi, povećan broj registrovanih slučajeva autohtone lajšmanioze kod pasa kao i sumnja da je prisutan određeni broj nedijagnostikovanih tj. asimptomatskih slučajeva ukazali su na mogućnost cirkulacije bolesti u Srbiji. Obzirom da je lajšmanioza oboljenje čiji se prouzrokovac prenosi isključivo uz pomoć vektora, a da su za sada jedini potvrđeni vektori peščane mušice, počevši od 2013. godine, nakon više decenijske pauze, u okviru ove disertacije ponovo je uspostavljen entomološki nadzor ovih insekata.	
Entomološki nadzor otpočeo je 2013. godine prvo na teritoriji Autonomne Pokrajine Vojvodine, a već 2014. godine je proširen na jugoistočnu Srbiju i 2015. godine na zapadnu Srbiju sa Šumadijom. U periodu od 2013. do 2016. godine registrovano je prisustvo 10 vrsta peščanih mušica od kojih su 7 predhodno registrovane vrste a 3 vrste su nove za faunu Srbije. Dobijeni rezultati daju uvid u faunistički sastav flebotomina nakon višedecenijskog jaza u istraživanjima. U okviru ove disertacije dati su morfološki prikazi adulta, pregled distribucije i brojnosti za svih deset vrsta prisutnih u Srbiji. Pored toga izrađen je prvi ključ na srpskom jeziku za morfološku determinaciju odraslih mužjaka i ženki vrsta prisutnih u Srbiji, kao i vrsta koje se potencijalno mogu naći na teritoriji Republike Srbije. Determinacija na osnovu morfoloških karakteristika prvi put je potvrđena sekpcioniranjem COI regionalnog gena i dobijene sekvene za vrste <i>P. papatasi</i> , <i>P. neglectus</i> , <i>P. perfiliewi</i> , <i>P. tobii</i> , <i>P. mascittii</i> i <i>P. balcanicus</i> iz Srbije priključene su banci podataka GenBank. Prvi put je vršena analiza proteinskog spektra MALDI-TOF metodom i dobijeni rezultati za vrste <i>P. neglectus</i> , <i>P. perfiliewi</i> , <i>P. sergenti</i> , <i>P. mascittii</i> , <i>P. balcanicus</i> biće uvršteni u jedinstvenu bazu podataka koja je trenutno u osnivanju.	

Datum prihvatanja teme od strane Senata: DP	18.09.2016.
Datum odbrane: DO	
Članovi komisije: (ime i prezime / titula / zvanje / naziv organizacije / status) KO	<hr/> Dr Dušan Petrić, redovni profesor za užu naučnu oblast Entomologija, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, Departman za Fitomedicina i zaštitu životne sredine <hr/> Dr Bulent Alten, redovni profesor za užu naučnu oblast Entomologija, Hacettepe Univerzitet, Fakultet prirodnih nauka, Departman za Ekologiju, Ankara, Turska <hr/> Dr Aleksandra Ignjatović Ćupina, vanredni profesor za užu naučnu oblast Entomologija, Poljoprivredni fakultet, Novi Sad, Departman za Fitomedicina i zaštitu životne sredine

**UNIVERSITY OF NOVI SAD
FACULTY OF AGRICULTURE**

KEY WORD DOCUMENTATION

Accession number: ANO	
Identification number: INO	
Document type: DT	Monograph documentation
Type of record: TR	Textual printed material
Contents code: CC	PhD thesis
Author: AU	Slavica Vaselek, MSc
Mentor: MN	Dušan Petrić, PhD, full professor, Faculty of Agriculture Novi Sad
Title: TI	Diversity and distribution of sand flies (Diptera, Phlebotominae) in Serbia
Language of text: LT	Serbian
Language of abstract: LA	English / Serbian
Country of publication: CP	Republic of Serbia
Locality of publication: LP	Province of Vojvodina
Publication year: PY	2017.
Publisher: PU	Author's reprint
Publication place: PP	Faculty of Agriculture, Sq. Dositej Obradović 8, 21000 Novi Sad
Physical description: PD	12 chapters/ 129 pages/ 14 maps / 4 tables/ 139 images/ 88 scheme / 6 graphs/ 6 supplements / 210 references / biography
Scientific field SF	Technical, technological and biotechnical sciences

Scientific discipline SD	Entomology
Subject, Key words SKW	Diversity, sand flies
UDC	565.7:575.832(043.3)
Holding data: HD	Library of the Faculty of Agriculture, University of Novi Sad
Note: N	None
Abstract: AB	<p>Phlebotomines (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) are small fragile insects commonly known as sand flies (in Serbian: peščane mušice, papatači). Females are feeding on blood and they are capable to transmit parasitic protozoans from genus <i>Leishmania</i> (causative agent of leishmaniasis) and several phleboviruses (causative agents of sand fly fevers).</p> <p>Intensive sand fly research in Serbia was conducted during the years of the leishmaniasis and sand fly fever outbreaks, mainly in the infested areas. Sand fly research in Serbia was initiated in 1947 and ended in 1990, soon after the sand fly population density significantly diminished and leishmaniasis has been considered eradicated. During this period presence of seven species from <i>Phlebotomus</i> genus were detected – <i>Phlebotomus papatasi</i>, <i>P. perfiliewi</i>, <i>P. tobii</i>, <i>P. neglectus</i>, <i>P. simici</i>, <i>P. sergenti</i> and <i>P. balcanicus</i>.</p> <p>Although leishmaniasis in Serbia is considered to be eradicated, for the past two decades sporadic human and dog cases were reported. It is suspected that the number of reported cases is higher, but real number remains unknown due to the underreporting and misdiagnosing especially among canine populations. This information suggested that both parasite and vector species are present and implicated the possibility of autochthonous transmission. Regarding these information, sand fly surveillance is resumed in 2013.</p> <p>Entomological surveillance of sand flies started in 2013 in Vojvodina Province, in 2014 it was extended to south-east Serbia and in 2015 to west Serbia. In period 2013-2016 in total 10 species of sand flies were recorded. Seven species were previously detected and 3 are new for sand fly fauna of Serbia. Obtained data provide insight in composition of sand fly fauna of Serbia after a gap of several decades. Within this thesis, detailed morphological descriptions of each recorded species, their distribution around the world and Serbia are given and elaborated. For the first time, the key for morphological identification of species present in Serbia was designed in Serbian language (for males and for females, separately). Morphological identification of samples was for the first time confirmed by molecular methods and by MALDI-TOF method of protein profiling. Obtained sequences for <i>P. papatasi</i>, <i>P. neglectus</i>, <i>P. perfiliewi</i>, <i>P. tobii</i>, <i>P. mascittii</i> and <i>P. balcanicus</i> are deposited in the GenBank, while obtained protein spectra for <i>P. neglectus</i>, <i>P. perfiliewi</i>, <i>P. sergenti</i>, <i>P. mascittii</i> and <i>P. balcanicus</i> will be attributed to special data bank (currently under establishment).</p>
Accepted on Senate on:	18.09.2016.

AS	
Defended:	
DE	
Thesis Defend Board: DB	
	Dušan Petrić PhD, full professor, scientific field Entomology, Department of Environmental and Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad
	Bulent Alten PhD, full professor, scientific field Entomology, Hacettepe University, Faculty of Sciences, Ecology Department, Ankara, Turkey
	Aleksandra Ignjatović Ćupina PhD, associated professor, scientific field Entomology, Department of Environmental and Plant Protection, Faculty of Agriculture, University of Novi Sad

SADRŽAJ

1.	UVOD	1
2.	CILJEVI ISTRAŽIVANJA I RADNA HIPOTEZA	3
3.	TAKSONOMSKI I SISTEMATSKI STATUS PODFAMILIJE PHLEBOTOMINAE ..	4
4.	BIOLOGIJA I EKOLOGIJA PEŠČANIH MUŠICA	7
5.	MORFOLOŠKE I ANATOMSKE KARAKTERISTIKE PEŠČANIH MUŠICA	8
5.1.	Juvenilni stadijumi	8
5.2.	Adulti	10
6.	MEDICINSKI I VETERINARSKI ZNAČAJ PEŠČANIH MUŠICA	20
6.1.	Lajšmanioza	20
6.1.1.	Lajšmanioza u Srbiji	24
6.2.	Flebovirusi i papatačijeva grozica	25
6.2.1.	Flebovirusi i papatačijeva grozica u Srbiji	26
7.	MATERIJAL I METODE RADA	28
7.1.	Izbor regiona i lokaliteta za uzorkovanje	28
7.2.	Metode uzorkovanja	30
7.3.	Metode obrade i pripreme uzoraka za laboratorijski rad	33
7.4.	Morfološka identifikacija uzoraka	34
7.4.1.	Disekcija i priprema trajnih preparata	34
7.4.2.	Identifikacija do nivoa roda	36
7.4.3.	Identifikacija do nivoa podroda	37
7.4.4.	Morfološki karakteri neophodni za identifikaciju do nivoa vrste	44
7.4.5.	Problemi koji utiču na morfološku identifikaciju	45
7.5.	Molekularne metode za identifikaciju uzoraka	46
7.6.	Maldi-Tof metoda analize proteinskog spektra za identifikaciju vrsta	47
8.	KLJUČ ZA IDENTIFIKACIJU VRSTA PEŠČANIH MUŠICA PRISUTNIH NA TERITORIJI REPUBLIKE SRBIJE	49
8.1.	Ključ za identifikaciju mužjaka peščanih mušica	49
8.2.	Ključ za identifikaciju ženki peščanih mušica	54
9.	REZULTATI ISTRAŽIVANJA I DISKUSIJA	58
10.	PEŠČANE MUŠICE PRISUTNE NA TERITORIJI REPUBLIKE SRBIJE	73
10.1.	<i>Phlebotomus (Phlebotomus) papatasi</i> Scopoli, 1786	73
10.2.	<i>Phlebotomus (Larroissius) neglectus</i> Tonnoir, 1921	77
10.3.	<i>Phlebotomus (Larroissius) perfiliewi</i> s.l. Parrot, 1930	82
10.4.	<i>Phlebotomus (Larroissius) tobbi</i> Adler, Theodor & Laurie, 1930	87
10.5.	<i>Phlebotomus (Paraphlebotomus) alexandri</i> Sinton, 1928	90
10.6.	<i>Phlebotomus (Paraphlebotomus) sergenti</i> s.l. Parrot, 1917	93
10.7.	<i>Phlebotomus (Adlerius) simici</i> Nitzulescu, 1931	98

10.8	<i>Phlebotomus (Adlerius) balcanicus</i> Theodor, 1958	101
10.9.	<i>Phlebotomus (Transphlebotomus) mascittii</i> Grassi, 1908	106
10.10.	<i>Sergentomyia (Sergentomyia) minuta</i> Rondani, 1843	110
11.	ZAKLJUČCI	114
12.	LITERATURA	117
	PRILOZI	129
	BIOGRAFIJA	135

1. UVOD

Flebotomine (Diptera, Psychodidae, Phlebotominae) su veoma mali insekti nežne građe, koji su kod nas poznati kao peščane mušice ili papatači. Ženke ovih insekata imaju hematofagni režim ishrane i od davnina su poznate kao vektori različitih oboljenja. Najveći epidemiološki značaj flebotomine imaju kao vektori parazitskih protozoa iz roda *Leishmania* (Protozoa, Kinetoplastida) uzročnika lajšmanioza (Akhoundi et al. 2016). Pored lajšmanioza, peščane mušice su vektori više vrsta arbovirusa, od kojih su svakako najznačajniji napuljski i sicilijanski serotipovi (*Phlebovirus*, *Bunyaviridae*) koji kod ljudi izazivaju flebotomsku tj. papatačiju/papatačku groznicu (Depaquit et al. 2010). Pored virusa dokazano je da peščane mušice u oblasti centralnog Perua, Kolumbije i Ekvadora učestvuju u transmisiji bakterije *Bartonella bacilliformis* koja uzrokuje Karionovu bolest (na engleskom: *Carrion's disease*) tj. Oroja groznicu (Sanchez Clemente et al. 2012).

Istraživanja peščanih mušica u svetu otpočela su još sredinom XVIII veka kada je otkrivena i opisana vrsta *Bibio papatasi* (Scopoli 1786), sada poznata pod nazivom *Phlebotomus papatasi* (Scopoli 1786). Detaljnija entomološka istraživanja ovih insekata otpočela su tek nakon što je uočeno da je lajšmanioza prisutna uglavnom u oblastima sa gustom populacijom peščanih mušica. Shodno tome, istraživanja peščanih mušica u početku vršena su samo u regionima zahvaćenim lajšmaniozom, dok se u protekloj deceniji težište istraživanja pomerilo ka oblastima gde oboljenje nije prisutno u cilju njegove prevencije i kontrole.

Peščane mušice su u Srbiji igrale veoma značajnu ulogu u drugoj polovini XX veka kada su izbile velike epidemije lajšmanioze i papatačijeve groznice. Istraživanja peščanih mušica na teritoriji Republike Srbije sprovedena su u periodu od 1947. do 1990. godine pri čemu se jasno mogu izdvojiti dve faze istraživanja. U okviru prve faze istraživanja (1947-1968) prateći epidemiju lajšmanioze, praćeno je ukupno 264 lokaliteta širom Srbije u cilju određivanja faunističkog sastava i brojnosti peščanih mušica. Inicijalna istraživanja sprovedena su u oblasti Niša gde su prijavljeni prvi slučajevi lajšmanioze, a u toku narednih godina, zajedno sa širenjem žarišta lajšmanioze, pomerao se i fokus istraživanja peščanih mušica, prvo ka istočnjim delovima države a kasnije ka centralnim i severnim oblastima. U okviru druge faze (1969-1990) nakon što je lajšmanioza iskorenjena u Srbiji, sprovedena su detaljnija biološka, ekološka i virusološka istraživanja, ograničena isključivo na bivše endemske područje lajšmanioze u oblasti između Niša, Prokuplja i padina Malog Jastreba poznato kao Dobrič (Živković 1980). Nakon što je uočeno da broj peščanih mušica iz godine u godinu opada, da nema novih prijavljenih slučajeva lajšmanioze, kao i da nije detektovano prisustvo ovih protozoa u vektorima, istraživanja peščanih mušica u Srbiji su obustavljena.

Pored toga što se lajšmanioza smatra davno iskorenjenom bolesti u našoj državi, sporadični slučajevi autohtonog obolevanja ljudi sugerisu na to da se bolest nalazi u dormантnoj fazi ali da i dalje cirkuliše (Dakić et al. 2009). U predhodnoj deceniji registrovano je svega nekoliko autohtonih slučajeva lajšmanioze kod ljudi, dok je broj obolelih pasa u odnosu na predhodne decenije u blagom porastu. Značajno je napomenuti da je oboljenje kod ljudi registrovano u predhodno neendemskim područjima jugoistočne Srbije (Dakić et al. 2009), kao i da su po prvi put zabeleženi slučajevi lajšmanioze kod pasa u severnom delu Srbije, odnosno u Vojvodini (Savić et al. 2013).

Vojvodina u prošlosti nije smatrana za potencijalno žarište lajšmanioze obzirom da nikada nije bilo prijavljenih slučajeva ovog oboljenja, kako kod pasa tako ni kod ljudi, a sam broj detektovanih peščanih mušica oskudevao je u raznovrsnosti i brojnosti. Širenje bolesti na severnije

delove države jasno sugerije da su vektorske vrste peščanih mušica prisutne i da region Vojvodine predstavlja novo potencijalno žarište za izbijanje epidemije.

Prvi introdukovani slučaj lajšmanioze pasa u Vojvodini registrovan je 2006. godine u Novom Sadu (Savić-Jevđenić et al. 2007). Introdukovani slučaj lajšmanioze zabeležen je na mužjaku dobermana koji je u toku letnje sezone boravio u Crnoj Gori, i koji je po povratku u Novi Sad živeo sa ženkom iste rase. Kod date ženke, koja nikada nije napuštala Novi Sad, prvi simptomi lajšmanioze manifestovali su se nakon samo dva meseca od kontakta sa mužjakom. Oba psa su pored kožnih manifestacija ispoljavala i kliničke simptome bolesti, a nakon testiranja imali su pozitivan serološki nalaz na specifična antitela lajšmanie. Pozitivni nalazi kod oba psa, sa i bez istorije putovanja, ukazali su na prisustvo vektora prenosa lajšmanioze.

Posmatrano od 2006. godine pa do 2013. kada je započeto istraživanje u okviru ove disertacije, broj pasa kod kojih su se ispoljili klinički simptomi lajšmanioze i koji su dali pozitivne serološke rezultate je porastao. 2009 godine, samo par godina nakon prvog prijavljenog introdukovanog slučaja, zvanično su zabeleženi i prvi slučajevi autohtone lajšmanioze. U periodu od 2009. do 2013. godine praćena je situacija i serološka ispitivanja potvrdila su prisustvo antitela na lajšmaniozu kod 15% od 220 testiranih primeraka (Savić et al. 2013).

Prisustvo sporadičnih slučajeva lajšmanioze kod ljudi, povećan broj registrovanih slučajeva autohtone lajšmanioze kod pasa kao i sumnja da je prisutan određeni broj nedijagnostikovanih tj. asimptomatskih slučajeva ukazuje na mogućnost cirkulacije bolesti u Srbiji. Obzirom da je lajšmanioza oboljenje čiji se prouzrokoval prenos isključivo uz pomoć vektora, a da su za sada jedini potvrđeni vektori peščane mušice, počevši od 2013. godine, nakon više decenijске pauze, u okviru ove disertacije ponovo je započet entomološki nadzor ovih insekata.

2. CILJEVI ISTRAŽIVANJA I RADNA HIPOTEZA

U proteklih nekoliko decenija na teritoriji Republike Srbije nisu sprovedena istraživanja peščanih mušica, te noviji podaci o diverzitetu i distribuciji ovih insekata nisu dostupni. Pregledom literature utvrđeno je da su najobimnija faunistička istraživanja ovih insekata u našoj državi sprovedena u periodu od 1947. do 1955. godine kada je istraživano preko 260 lokaliteta širom Srbije. U kasnijem periodu, pojedini zapisi o peščanim mušicama datiraju iz 1990. godine, ali se većina radova odnosi na istraživanja sprovedena u samo jednoj oblasti, u Dobriču. Istraživanja flebotomina u drugim oblastima i regionima posle 1955. gotovo su zanemarena, a dostupna literatura je oskudna. Pojedini regioni države poput Vojvodine nisu istraživani još od 1951., dok su istraživanja u regionu zapadne Srbije sa Šumadijom prvi i jedini put sprovedena na svega par lokaliteta davne 1948. godine.

Uzevši u obzir novije podatke o prisustvu autohtone lajšmanioze kod pasa u predhodno neendemskom regionu (Vojvodina) kao i pojavu sporadičnih slučajeva oboljevanja ljudi, kako u ranije poznatim endemskim oblastima tako i u pojedinim neendemskim oblastima (jugoistočna Srbija), naglašena je potreba za ponovnim uspostavljanjem entomološkog nadzora peščanih mušica na teritoriji Srbije.

Detaljnim pregledom starije literature i novijih dostupnih podataka definisani su sledeći ciljevi istraživanja:

- utvrđivanje sastava faune peščanih mušica u oblastima gde predhodno nisu vršena istraživanja ovih insekata;
- registrovanje promena faunističkog sastava peščanih mušica u predhodno istaživanim regionima;
- izvršenje revizije faune peščanih mušica na teritoriji Republike Srbije.

Imajući u vidu dug vremenski period u kome je istraživanje peščanih mušica u Srbiji bilo zanemareno, kao i promene klime i uticaj antropogenih faktora (turizam, trgovina, migracije), pretpostavilo se da će rezultati ovog istraživanja ukazati na prisustvo raznovrsne faune peščanih mušica. Pored toga, očekivalo se da će biti utvrđeno prisustvo novih vrsta koje do sada nisu bile registrovane u Srbiji.

Istraživanja sprovedena u okviru ove disertacije trebala bi da daju doprinos boljem poznavanju faune peščanih mušica u Srbiji. Osim toga, saznanja o raznovrsnosti prisutnih vrsta i brojnosti populacija mogla bi se primeniti za izradu plana procene rizika od izbijanja epidemije lajšmanioze kao i u kreiranju efikasnih strategija za suzbijanje peščanih mušica ukoliko za tim bude bilo potrebe.

3. TAKSONOMSKI I SISTEMATSKI STATUS PODFAMILIJE PHLEBOTOMINAE

Peščane mušice imaju široki areal geografske distribucije i do danas je širom sveta identifikovano preko 800 vrsta. Od toga, 464 vrsta je rasprostranjeno u Novom svetu (Američki kontinent), dok se 375 može naći u Starom svetu (Evropa, Azija, Afrika) (Maroli et al. 2013).

Inicijalne studije taksonomije peščanih mušica bazirane su na osnovnim morfološkim aspektima. Klasifikacija se zasnovala na identifikaciji sličnih karaktera na osnovu kojih se vršila grupacija u rodove i podrodove. Međutim, u proteklih deceniju i po primena savremenih metoda poput izoenzimskih, molekularnih i filogentestkih analiza, omogućila je prikupljanje velikog broja podataka koji će najverovatnije dovesti do nove reorganizacije sistematike ove grupe insekata.

Istorijski razvoj taksonomije peščanih mušica može se grubo podeliti na dva perioda. U toku prvog perioda taksoni su razlikovani na osnovu morfometrijskih podataka (flebometrija) pojedinih spoljašnjih karaktera poput spoljašnjih genitalija mužjaka ili krila, dok je u drugom periodu počela intenzivna primena karakteristika unutrašnjih organa poput spermateka, cibarijuma i farinksa.

Prvi sistem klasifikacije peščanih mušica predložio je Newstead 1911. godine i od tada publikovan je veliki broj radova (Theodor 1948, Abbonnenc 1972, Artemiev 1980, Lewis 1982, Killick-Kendrick et al. 1991). Uprkos obimnoj literaturi, sve do danas ne postoji univerzalno prihvaćen sistem klasifikacije sa kojim se svi autori slažu. Osnovne razlike leže pre svega u rangiranju taksona, radije nego u njihovom sastavu.

Peščane mušice su svrstane u red Diptera, podred Nematocera, familiju Psychodidae i podfamiliju Phlebotominae. Po nekim autorima (Perfiliev P.P. 1966, Abonnenc and Leger 1976) peščane mušice treba svrstati u zasebnu familiju. Međutim, ovaj predlog nije naišao na odobravanje većina autora koji se slažu sa trenutnim statusom podfamilije u okviru familije Psychodidae.

Na osnovu klasifikacije koju su predložili Lewis i saradnici (1977), podfamilija Phlebotominae podeljena je na flebotomine Starog sveta i flebotomine Novog sveta. Flebotomine Starog sveta obuhvatale su dva roda: *Phlebotomus* (Rondani & Berté, 1840) i *Sargentomyia* (França & Parrot 1920), dok su flebotomine Novog sveta bile podeljene u tri roda: *Lutzomyia* (França 1924), *Brumptomyia* (França and Parrot 1921) i *Warileya* (Hertig 1948). Rod *Chinius* koji je nešto kasnije opisao Leng (1987) bio je odvojen u zaseban takson i obuhvatao je peščane mušice sa primitivnim karakterima koje naseljavaju Kinu.

Rispail i Léger (1998) predložili su dalju klasifikaciju flebotomina Starog sveta i izdvajanje sedam zasebnih rodova (umesto samo dva): *Phlebotomus*, *Sargentomyia*, *Australophlebotomus* (Theodor, 1948), *Idiophlebotomus* (Quate & Fairchild, 1961), *Spelaeophlebotomus* (Theodor, 1948), *Spelaeomyia* (Theodor, 1948) i *Chinius*. Iako je ovaj predlog klasifikacije flebotomina bio mnogo detaljniji i sveobuhvatniji, opšte prihvaćena sistematizacija peščanih mušica je ostala krajnje konzervativna i temelji se na predlogu Theodor-a i Lewis-a iz 1977. Sa manjim izmenama ona sada podrazumeva podelu na šest rodova od kojih tri pripadaju flebotominama Starog sveta (*Phlebotomus* – 15 podrodova, *Sargentomyia* – deset podrodova, i *Chinius* – četiri vrste) a tri flebotominama Novog sveta (*Lutzomyia* – 26 podrodova, *Brumptomyia* – 24 vrste, i *Warileya* – 6 vrsta).

Peščane mušice Starog sveta, pre svega predstavnici rodova *Phlebotomus* i *Sargentomyia* mogu se naći širom Palearktičkog, Afrotropskog, Orijentalnog i Australijskog regiona dok je areal rasprostranjenja vrsta iz roda *Chinius* ograničen je na Kinu.

Prema sistematici datoј od strane Lewis (1982) kao i prema novo publikovanim podacima rod *Phlebotomus* Rondani & Berté, 1840 obuhvata sledeće podrodove: *Anaphlebotomus* (Theodor,

1948), *Australophlebotomus* (Theodor, 1948), *Euphlebotomus* (Theodor, 1948), *Phlebotomus* (Rondani & Berté, 1840), *Idiophlebotomus* (Quate & Fairchild, 1961), *Paraphlebotomus* (Theodor, 1948), *Transphlebotomus* (Artemiev & Neronov, 1984), *Spelaeophlebotomus* (Theodor, 1948), *Larroussius* (Nitzulescu, 1931), *Adlerius* (Nitzulescu, 1931), *Synphlebotomus* (Theodor, 1948), *Kasauliulus* (Lewis, 1982), *Legeromyia* (Rahola & Depaquit, 2013), *Abonnencius* (Morillas-Marquez, Castillo Remiro & Ubeda-Ontiveros, 1984) i *Madaphlebotomus* (Depaquit & Leger, 2015).

Vrste iz roda *Phlebotomus* su posebno brojne u Palearktičkom regionu i mogu se naći na nadmorskim visinama od ~300 metara ispod nivoa mora (Palestina) do 3,600 metara iznad nivoa mora (Iran). Većina vrsta nastanjuje polu sušne regije i savane, dok su u šumovitim regionima ređe zastupljene. U skladu sa tim geografska distribucija ovog roda proteže se od bliskog istoka preko Mediteranskog, Afrotropskog, Orijentalnog regiona sve do Azije. Svega par vrsta može se pronaći u tropskim zonama kao i u sub-saharskoj Africi, jugoistočnoj Aziji ili Pacifičkom regionu. Uglavnom se hrane krvlju sisara uključujući i čoveka i glavni su vektori lajšmanioze u Euroaziji i Africi.

Rod *Sergentomyia* Franca & Parrot, 1920 je podeljen na 8 podrobova: *Capensomyia* (Davidson 1979), *Neophlebotomus* (França & Parrot, 1920), *Parrotomyia* (Theodor, 1948), *Sergentomyia* (Franca & Parrot, 1920), *Rondonomyia* (Theodor, 1948), *Sintonius* (Nitzulescu, 1931), *Spelaeomyia* (Theodor, 1948) i *Vattieromyia* (Depaquit, Léger & Robert, 2008). Pored toga postoje i vrste koje trenutno nisu grupisane u određeni podrod.

Vrste iz ovog roda imaju široku distribuciju u Starom Svetu i dominiraju u tropskim regionima gde je prisustvo vrsta iz roda *Phlebotomus* oskudno ili potpuno odsutno. Geografska distribucija roda *Sergentomyia* obuhvata Afrotropski, Orijentalni i Australijski region, Indijski sub-region, sub-saharsku Afriku i Aziju. Većina se hrani krvlju gmizavaca, međutim za pojedine vrste je utvrđeno da uzimaju krvni obrok sa sisara. Vrste iz ovog roda su vektori *Sauroleishmania* sp. uzročnika levišmanije gmizavaca, međutim novi podaci ukazuju na mogućnost transmisije parazita iz roda *Leishmania*.

U Evropi su prevashodno prisutne peščane mušice iz roda *Phlebotomus*, dok se rod *Sergentomyia* može naći sa nekoliko vrsta.

Pored velikog broja objavljenih radova, do sada nije oformljena jedinstvena lista vrsta na svetskom nivou. Detaljnim pregledom dostupne literature utvrđeno je da:

- Podrod *Phlebotomus* Rondani & Berté, 1840 obuhvata sledeće vrste: *P. bergeroti* (Parrot), *P. breviventris* (Ristorcelli), *P. duboscqi* (Neveu-Lemaire) (*syn. fourtoni* (Floch & Abormenc); *roubaudi* (Newstead)), *P. gigas* (Parrot & Schwetz), *P. minteri* (Lewis), *P. molesta* (Costa), *P. papatasi* (Scopoli), *P. salehi* (Mesghali), *P. sundarai* (Basak & Tandon) i *P. viduus* (Parrot).
- Podrod *Paraphlebotomus* Theodor, 1948 obuhvata sledeće vrste: *P. alexandri* (Sinton) (*syn. borovskii* (Khodukin & Softer)), *P. andrejevi* (Shakirzyanova), *P. caucasicus* (Marzinowsky) (*syn. grimmi* (Porchinski); *li* (Popov); *selectus* (Khodukin)), *P. chabaudi* (Croset, Abonnenc & Rioux), *P. gemetchi* (Gebre-Michael and Balkew), *P. imitabilis* (Artemiev), *P. jacusieli* (Theodor), *P. kazeruni* (Theodor & Mesghali), *P. marismortui* (Theodor), *P. mireillae* (Killick Kendrick), *P. mofidii* (Theodor & Mesghali), *P. mongolensis* (Sinton), *P. nuri* (Lewis), *P. riouxi* (Depaquit, Leger and Killick-Kendrick), *P. saevus* (Parrot & Martin), *P. sergenti* (Parrot) i *P. similis* (Perfilev).
- Podrod *Larroussius* Nitzulescu, 1931 obuhvata sledeće vrste: *P. aculeatus* (Lewis, Minter & Ashford), *P. ariasi* (Tonnoir), *P. ashfordi* (Gebre-Michael & Lane), *P. betisi* (Lewis &

- Wharton), *P. chadlii* (Rioux, Juminer & Gibily), *P. criminicus* (Shtefko & Minkerich), *P. elgonensis* (Ngoka, Madel & Mutinga), *P. fantalensis* (Lewis, Minter & Ashford), *P. gibiensis* (Lewis, Minter & Ashford), *P. grisea* (Annandale), *P. guggisbergi* (Kirk & Lewis), *P. kandelakii* (Shchurenkova), *P. keshishiani* (Shchurenkova), *P. langeroni* (Nitzulescu), *P. longicuspis* (Nitzulescu), *P. longipes* (Parrot & Martin), *P. major* (Annandale), *P. mariae* (Rioux, Croset, Leger & Bailly-Choumara), *P. neglectus* (Tonnoir), *P. notus* (Artemiev & Neronov), *P. orientalis* (Parrot), *P. pedifer* (Lewis, Mutinga & Ashford), *P. perfiliewi* (Parrot), (syn. *macedonicus* (Adler & Theodor), *P. galilaeus* (Theodor), *P. transcaucasicus* (Perfilev), *P. perniciosus* (Newstead) (syn. *grassii* (Pierantoni); *legeri* (Mansion); *lusitanicus* (Franca); *nigerrimus* (Newstead)), *P. smirnovi* (Perfilev) (syn. *wui* (Yang & Xiong)), *P. somaliensis* (Abonnenc, Adam & Bailly-Chonmara), *P. syriacus* (Adler & Theodor), *P. tobbi* (Adler & Theodor) (syn. *pirumovi* (Burakova & Mirzayan)), *P. wenyonii* (Adler & Theodor).
- Podrod *Adlerius* Nitzulescu, 1931 obuhvata sledeće vrste: *P. angustus* (Artemiev), *P. arabicus* (Theodor) (syn. *davidi* (Artemiev)), *P. balcanicus* (Theodor), *P. brevis* (Theodor & Mesghali) (syn. *ismailicus* (Perfilev)), *P. chinensis* (Newstead), *P. comatus* (Artemiev), *P. fengi* (Leng & Zhang), *P. halepensis* (Theodor), *P. hindustanicus* (Theodor), *P. kabulensis* (Artemiev), *P. kyreniae* (Theodor), *P. longiductus* (Parrot) (syn. *tauriae* (Perfilev)), *P. naqbenius* (Lewis & Buttiker), *P. rupester* (Artemiev), *P. salangensis* (Artemiev), *P. sichuanensis* (Leng & Yin), *P. simici* (Nitzulescu), *P. turanicus* (Artemiev), *P. zulfagarensis* (Artemiev).
 - Podrod *Transphlebotomus* Artemiev & Neronov, 1984 obuhvata svega pet vrsta: *Phlebotomus mascittii*, *P. canaaniticus*, *P. economidesi*, *P. anatolicus* i *P. killicki*.
 - Podrod *Sergentomyia* Franca & Parrot, 1920 obuhvata sledeće vrste: *S. antennata* (Newstead) (syn. *occidentalis* (Theodor); *sanneri* (Galliard & Nitzulescu); *signatipennis* (Newstead)), *S. arpaklensis* (Perfilev), *S. ashfordi* (Davidson), *S. azizi* (Adler), *S. bedfordi* (Newstead) (syn. *aretasi* (Kervran); *bereiri* (Kirk & Lewis); *congolensis* (Bequaert & Walravens); *cowlandi* (Lewis & Kirk); *distinctus* (Theodor); *firmatus* (Parrot & Malbrant); *medius* (Kirk & Lewis); *nairobiensis* (Theodor)), *S. bergerardi* (Trouillet & Vattier-Bernard), *S. bimangoui* (Davidson), *S. blossi* (Kirk & Lewis), *S. buxtoni* (Theodor) (syn. *mathisi* (Parrot)), *S. caliginosa* (Davidson), *S. cincta* (Parrot & Martin), *S. davidsoni* (Seecombe, Ready & Huddleston), *S. dentata* (Sinton), *S. agdamica* (Artemiev), *S. bruchoni* (Parrot), *S. dubia* (Parrot, Mornet & Cadenat), *S. fallax* (Parrot), *S. afghanica* (Artemiev), *S. cypriotica* (Adler), *S. formica* (Davidson), *S. gracilis* (Kirk & Lewis), *S. impudica* (Abonnenc), *S. logonensis* (Rageau), *S. magnidentata* (Davidson), *S. mediensis* (Pringle), *S. mervynae* (Pringle), *S. minuta* (Rondani) (syn. *blanci* (Ristorceili); *italicus* (Adler & Theodor); *meddionalis* (Pierantoni); *sardous* (Bogliolo); *sequens* (Perfilev)), *S. parroti* (Adler & Theodor), *S. montana* (Davidson), *S. murgabiensis* (Perfilev), *S. pashtunica* (Artemiev), *S. sintoni* (Pringle), *S. pastoriana* (Parrot, Mornet & Cadenat), *S. punjabensis* (Sinton) (syn. *deccanensis* (Qutubuddin)), *S. renauxi* (Parrot & Schwetz), *S. richardi* (Parrot & Wanson), *S. rima* (Davidson), *S. ruttledgei* (Lewis & Kirk), *S. salisburyensis* (Abonnenc), *S. schoutedeni* (Adler, Theodor & Parrot), *S. nocens* (Parrot), *S. schwetzi* (Adler, Theodor & Parrot) (syn. *aethiopicus* (Parrot); *guiraudi* (Kervran); *murphyi* (Lewis & McMillan); *nigricans* (Parrot); *symesi* (Sinton)), *S. serridentata* (Davidson), *S. silva* (Trouillet), *S. sinkiangensis* (Ting & Ho), *S. taizi* (Lewis), *S. teteica* (Artemiev), *S. theodori* (Parrot), *S. wangii* (Leng & Zhang), *S. waqqasi* (Artemiev), *S. yusafi* (Sinton) i *S. zumpti* (Abonnenc).

4. BIOLOGIJA I EKOLOGIJA PEŠČANIH MUŠICA

Peščane mušice su sitni, nežni insekti čije razviće i aktivnost u velikoj meri zavise od klimatskih uslova. Ovi insekti preferiraju toplija staništa, i usled globalnog zagrevanja značajno su proširili areal distribucije. Flebotomine su rasprostranjene u gotovo svim delovima sveta, ali su posebno brojne u oblastima sa tropskom i subtropskom klimom (Killick-Kendrick 1999). Sreću se u pustinjskim i polupustinjskim predelima, vlažnim tropskim šumama, u priobalnom pojusu reka, na obalama mora kao i na svim drugim mestima gde temperaturni režim i vlažnost pružaju optimalne uslove za njihovo razviće i opstanak. U Evropi i Aziji severna granica rasprostranjenja ovih insekata je između 45° i 50° severne geografske širine, dok je južna granica na približno 40° južne geografske širine. Pored toga što nastanjuju gotovo sva staništa, peščane mušice su se prilagodile i životu na različitim nadmorskim visinama, pa se mogu naći ispod nivoa mora kao i na visinama od 3.300 m iznad nivoa mora.

Iako imaju široku geografsku rasprostranjenost, u poređenju sa drugim hematofagnim insektima poput komaraca ili simulida, peščane mušice su veoma loši letači. Flebotomine nisu sposobne da prelete veća rastojanja bez spuštanja na tlo, te se uglavnom kreću serijom kratkih skokova dok se krilima samo pomažu. Procenjuje se da prosečna „dužina skoka“ varira između 0,5 i 1,5 m u zavisnosti od vrste i trenutnih vremenskih uslova (Petrishcheva 1935). Kretanje peščanih mušica je u velikoj meri ograničeno datim vremenskim uslovima, pri čemu je dokazano da visoka vлага i vetar jači od nekoliko metara po sekundi značajno inhibiraju disperziju ovih insekata (Petrishcheva 1935). S obzirom na slab potencijal disperzije koji u šumovitim predelima iznosi do 200 m a na otvorenim staništima do 2,5 km, većina vrsta ostaje u blizini svog legla tj. mesta za odmor. Prema istraživanjima Petrishcheva (1935), utvrđeno je da peščane mušice koje borave u naseljenim mestima, gde lako dolaze do hrane i pogodnih mesta za polaganje jaja, imaju značajno manje potrebe za disperzijom nego vrste koje se mogu naći van naseljenih mesta. Autorka je dokazala da peščane mušice neće migrirati čak ni do susednog domaćinstva (udaljenost oko 10 m) dokle god na datom (starom) staništu ima raspoloživih resursa za njihov opstanak (Petrishcheva 1935). Shodno tome, sumnja se da su velikog uticaja na širenje flebotomina imale migracije ljudi i životinja.

Biologija i ekologija ovih insekata u velikoj meri je ostala nepoznata, pogotovo kod onih vrsta koje imaju uzani areal rasprostranjenja i koje su prisutne u populacijama niske brojnosti. Utvrđeno je da većina vrsta nema specifične zahteve što se tiče mesta za polaganje jaja i sakrivanja u toku dana, što značajno otežava njihovo prikupljanje. Za peščane mušice veoma je bitno napomenuti da je u terenskim uslovima moguće izučavati samo adultne forme, pošto je nalaz larvi i lutki u prirodi gotovo nemoguć. Juvenilni stadijumi za dalje razviće zahtevaju prisustvo supstrata bogatog humusom ili organskom materijom u stanju raspadanja te su najčešća mesta za polaganje jaja stajnjak i drugi nusprodukti životinjskog porekla, deponije, šumska strelja itd. Adulti peščanih mušica pretežno su aktivni u sumrak i noću, dok se u toku dana nalaze sakriveni na tamnim, hladnjim i vlažnim mestima. Dnevna mesta za odmor mogu biti kuće, štale, obori i druga mesta sa životnjama, kanalizacioni odvodi, rupe u drveću, pukotine u zidu, gusto žbunje, pećine, rupe i jazbine sisara u zemlji i druga skrovita mesta.

Pored delikatne građe tela i relativno ograničenog načina kretanja peščane mušice su uspešno nastanile različita prostranstva širom sveta, pre svega zahvaljujući veoma malim dimenzijama tela koje su im omogućile da se razvijaju i opstanu u mikroklimatski pogodnim staništima.

5. MORFOLOŠKE I ANATOMSKE KARAKTERISTIKE PEŠČANIH MUŠICA

5.1. Juvenilni stadijumi

Kao i kod većine hematofagnih insekata, ženkama peščanih mušica neophodan je krvni obrok za razvijanje jaja. Kod pojedinih vrsta utvrđeno je da mogu produkovati mali broj jaja bez uzimanja prvog krvnog obroka (Montoya-Lerma 1992).

Parenje flebotomina (Slika 1) može da se odvija u skloništima, na domaćinu ili pak u vazduhu (Chelbi et al. 2012). Nakon parenja i uzimanja krvnog obroka, ženka traži povoljno mesto za ovipoziciju (Ilango and Lane 2000). Jaja polaže pojedinačno na supstrat koji je vlažan i bogat organskom materijom u stanju raspadanja. Razviće flebotomina je holometabolno, a stadijumi jajeta, larve i lutke (pupa) razvijaju se u površinskim delovima zemljišta, u šumskoj stelji i raznim oblicima prirodnog organskog đubriva (Lewis 1971).

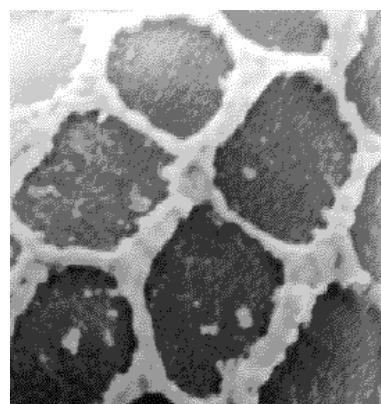


Slika 1. Parenje peščanih mušica
(Izvor: <https://www.researchgate.net/publication/230746494>)

Jaja flebotomina su veoma mala, ovalnog oblika, u proseku oko 300-400 µm duga i prečnika oko 90-150 µm (Slika 2). Po polaganju jaja su bleda i u roku od nekoliko sati dobijaju određenu nijansu braon ili crne boje, što je karakteristično za vrstu. Površina horiona je izbrazdانا a ornamentacija je karakteristična za vrstu (Slika 3). Prepostavlja se da šare na horionu u stvari služe kao plastron kada se jaje nađe u vodenoj sredini. Broj položenih jaja zavisi od vrste, starosti ženke i veličine krvnog obroka ženke (Wolf and Volfova 2011).



Slika 2. Izgled jajeta kod *Phlebotomus* sp.
(Izvor: <http://wellcomeimages.org>)



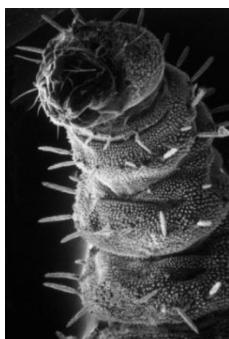
Slika 3. Izgled horiona jajeta
(Izvor:<http://www.scielo.cl>)

U odnosu na jaja, larve zahtevaju nešto suvlju sredinu za svoj razvoj. Nakon izlaska iz jajeta, larva prolazi kroz četiri stupnja pre nego što se transformiše u pupu. Larveni stupnjevi se razlikuju po prečniku glavene kapsule, opštim razmerama tela, dužini dlačica i kaudalnih izraštaja, broju trnova i stepenu pigmentacije slobodnog kraja devetog tergita (Slika 4).

Prvi larveni stupanj je dužine oko 2 mm a poslednji oko 10 mm. Larve su apodne eucefalne. Telo je svetlo sive boje sa lako uočljivom tamnom glavom. Na glavi su smeštene stemate, kratke i listolike antene i usni aparat za grickanje. Torakalne noge nisu razvijene i segmenti toraksa se ne razlikuju puno od segmenata abdomena. Na segmentima abdomena se sa ventralne strane nalaze pseudopodije, tj. evaginacije uz pomoć kojih se larva kreće (Wolf and Volfova 2011).

Po čitavom telu larve nalaze se dlake specifičnog oblika i njihova funkcija još uvek nije jasno utvrđena. Na poslednjem segmentu abdomena nalaze se kaudalne sete. Prvi larveni stupanj ima samo jedan par kaudalnih seta dok larveni stupnjevi 2, 3 i 4 imaju dva para kaudalnih seta i zbog toga ih je veoma teško razlikovati (Slika 5).

Larva je amfipneustična (stupnjevi 2,3,4) i ima stigmalne otvore na protoraksu i na VIII abdominalnom segmentu dok larva 1 stupnja ima samo jedan par stigmalnih otvora na abdomenu (Fausto et al. 1999). Kutikula larve je debela i dosta očvrsla što sprečava gubitak vode i desikaciju.



Slika 4. Larva *P.papatasi*;
(Izvor: <http://wellcomeimages.org>)



Slika 5. Larva *Lutzomyia* sp.
(Izvor: <https://www.flickr.com>)

Nakon pucanja košuljice četvrtog larvenog stupnja oslobađa se pupa koja ostaje pričvršćena za podlogu ostatkom košuljice četvrtog stadijuma iz kojeg su se razvile (Slika 6). Na pupi su ispod tankog integumenta jasno uočljive noge i krila (pupa obtecta). Pupa ima kratke protorakalne respiratorne robove. Nakon izlaska iz košuljice pupa je bledo krem boje, ali sa otvrdnjavanjem kutikule menja se i boja u tamno braon ili crnu (Slika 7). Pupa je napokretna ali reaguje na dodir i u samoodbrani može praviti brze pokrete izvijanjem tela u nazad. Adulti izlaze iz pupe posle 7-9 dana prskanjem omotača u obliku slova T, odnosno ortorafno.



Slika 6. Pupa *Lutzomyia* sp.
(Izvor: <http://entnemdept.ufl.edu>)

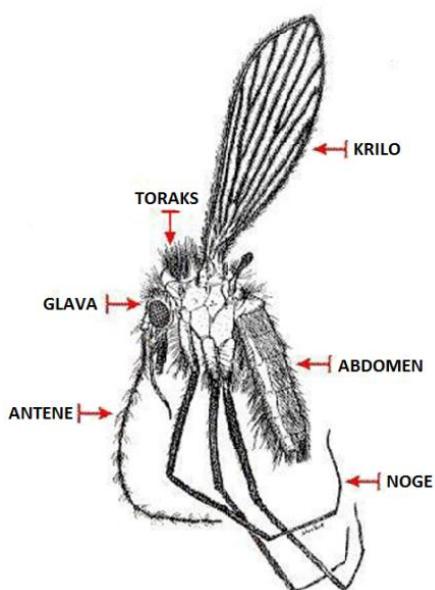


Slika 7. Pupe *P. papatasi* različite starosti zakačene za supstrat (Izvor: <https://www.flickr.com>)

U zavisnosti od prosečne godišnje temperature i vlažnosti, geografskog položaja i drugih makroklimatskih i mikroklimatskih uslova, razviće od stadijuma jajeta do imaga traje između 40-100 dana (Guzmán and Tesh 2000). U umerenim i severnim klimatskim regionima larve, najčešće trećeg ili četvrtog stupnja, ulaze u zimsku dijapauzu.

5.2. Adulti

Odrasle peščane mušice su sitni insekti dimenzija od 2 do 4 mm. Telo im je prekriveno gustim dlakama braonkasto-kafene boje i jasno je podeljeno na tri regionala: glavu, toraks i abdomen (Šema 1; Slika 8) (Davis 1967).



Šema 1. Peščana mušica (Originalni izvor: <http://www.wrbu.org/sfID>)



Slika 8. Peščana mušica (Izvor: <https://www.emaze.com/>)

Glaveni region

Glava peščanih mušica (Šeme 2 i 3) nalazi se u blago opistognatnom položaju u odnosu na telo zaklapajući ugao od 45°. Glavna čaura je izdužena i dorzo-ventralno blago spljoštena. Posmatrano sa dorzalne strane na procefalonu smešten je par jasno uočljivih, krupnih, dobro razvijenih facetovanih očiju. Oči su okrugle, crne i bez očnog mosta. Ocele su slabo razvijene i nisu jasno uočljive, kod većine vrsta nisu prisutne.

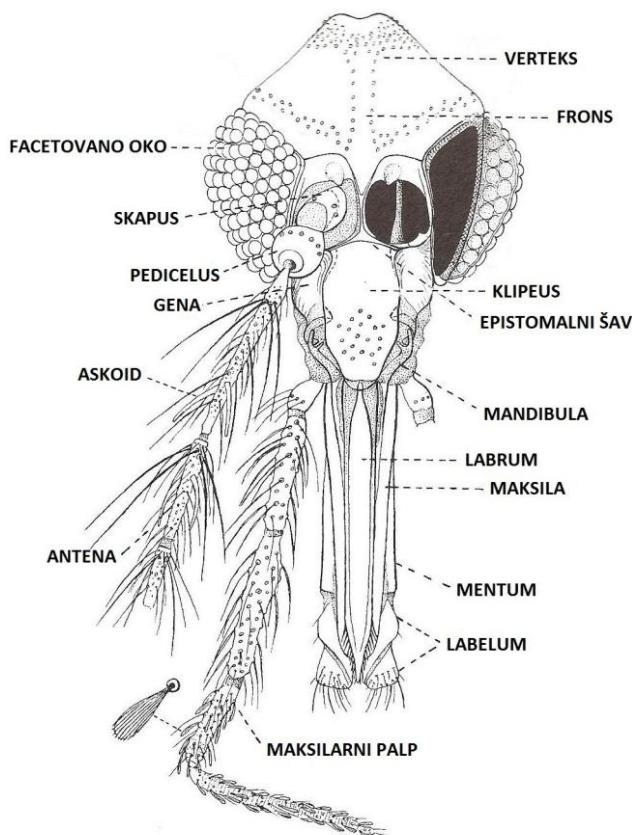
Između facetovanih očiju smeštena su uzglobljenja antena. Antene su veoma dugačke, imaju po 16 segmenata i identične su građe kod oba pola. Prvi segment antena (*scapus*) je veoma kratak i na njega se nastavlja nešto veći i loptastiji *pedicellus*. *Flagellum* čini 14 gotovo cilindričnih segmenata (*flagellomerae*) gusto obraslih dlakom. Na flagelumu antena smeštene su mnogobrojne senzile kao i specijalizovani izraštaji – askoidi koji predstavljaju značajan karakter prilikom identifikacije vrsta. Dužina pojedinačnih flagelomera kao i raspored askoida po flagelomerama imaju taksonomskog značaja i izražavaju se antenalnom formulom.

Epistomalni šav smešten je ispod facetovanih očiju i uzglobljenja antena i odvaja procefalon od gnatocefalona. Od epistomalnog šava, između uzglobljenja antena prostire se čconi region

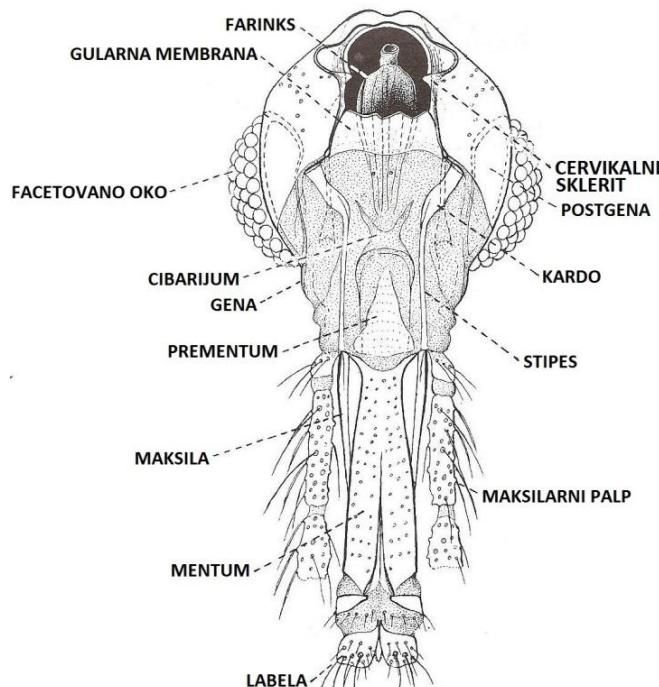
(*frons*) koje se prema vrhu glave širi i prelazi u verteks (*vertex*). Nasuprot fronsu, sa druge strane epistomalnog šava uočava se izduženi klipeus (*clipeus*) koji je sa bočnih strana genalnim šavovima odvojen od kratkih gena (*genae*). Klipeo-labralni šav razdvaja klipeus i tanki uzani labrum koji se nalazi u sklopu usnog aparata.

Posmatrano sa ventralne strane glave uočava se *foramen magnum* koji je ograničen potiljkom (*occiput*) i postgenama (*postgenae*). Na ivicama postgena smešteni su izraštaji uz pomoć kojih se glavena čaura povezuje sa skleritima toraksa (cervikalni skleriti).

Postmentum koji bi trebalo da gradi donju ivicu *foramen magnum* pomeren je ka dole i na njegovom mestu se nalazi membranozna kutikula – gularna membrana. Gularna membrana pokriva region glave između *occiput* i labiuma. Maksile su pričvršćene za glavenu čauru u blizini zadnjeg tentorijalnog uzglobljenja. S obzirom da je kod peščanih mušica došlo do značajnog izduživanja usnog aparata, stipes maksila čine dugi i tanki skleriti koji prolaze duž gularne membrane.

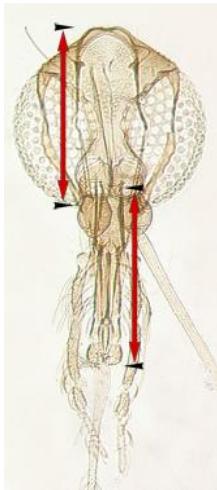


Šema 2. Dorzalna vizija glave peščane mušice (vrsta *P. papatasi*) (Originalni izvor: B. Jobling)

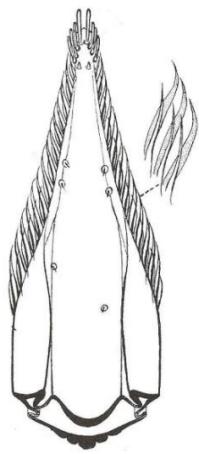


Šema 3. Ventralna vizija glave peščane mušice (vrsta *P. papatasi*) (Originalni izvor: B. Jobling)

Usni aparat peščanih mušica je gotovo iste dužine kao dužina glave (Slika 9). Ženke poseduju usni aparat za bodenje i sisanje koji je prilagođen telmofagnom načinu isharane. Usni aparat je građen iz labiuma u kome su smeštene 2 maksile, 2 mandibule, hipofaringijalni stilet i labralni stilet (Lewis 1975).



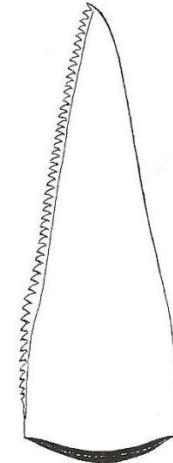
Slika 9. Glava peščane mušice (Izvor: http://www.wrbu.org/VecID_SF.html)



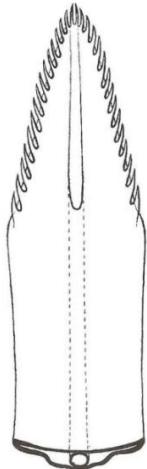
Šema 4. Ventralna vizija vršnog dela labralnog stileta (vrsta *P. papatasi*)
(Originalni izvor: B. Jobling)



Šema 5. Vršni deo lacinije (vrsta *P. papatasi*)
(Originalni izvor: B. Jobling)

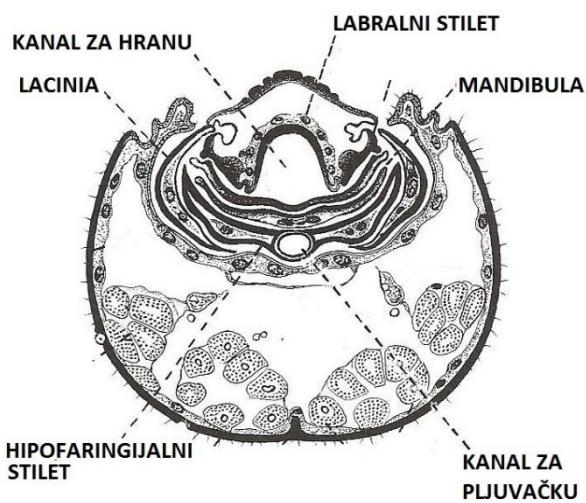


Šema 6. Vršni deo mandibule (vrsta *P. papatasi*)
(Originalni izvor: B. Jobling)



Šema 7. Vršni deo hipofangijalnog stileta (vrsta *P. papatasi*)
(Originalni izvor: B. Jobling)

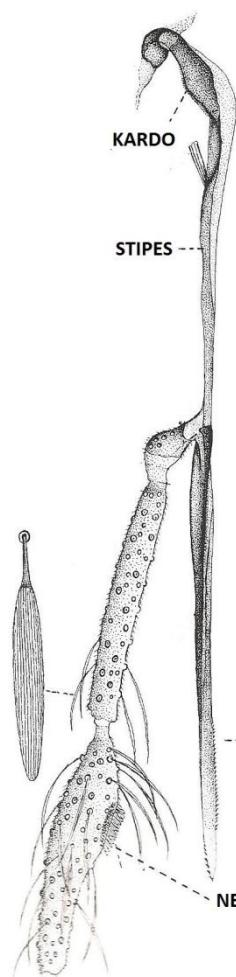
Najveći deo usnog aparata (*proboscis*) čini labium (*labium*) koji je izgrađen iz tri dela: prementum (*praementum*), mentum (*mentum*) i labela (*labela*) (Šeme 2 i 3). Mentum čini najveći deo labiuma, izdužen je, sklerotizovan sa spoljašnje strane i celom dužinom nosi kanal koji kao žljeb obavija stilete (Šema 8). Sa ventralne strane baza mentuma se spaja sa malim trouglastim skleritom – prementumom koji je dalje povezan sa gularnom membranom i maksilama, dok se sa dorzalne strane mentuma uočava izdužen i uzan labrum (*labrum*) tj. labralni stilet (Šema 4). Na distalnom kraju mentuma smeštena su dva proširenja koja grade labelu. Površina labele pokrivena je mnogobrojnim čekinjama koje imaju funkciju hemoreceptora.



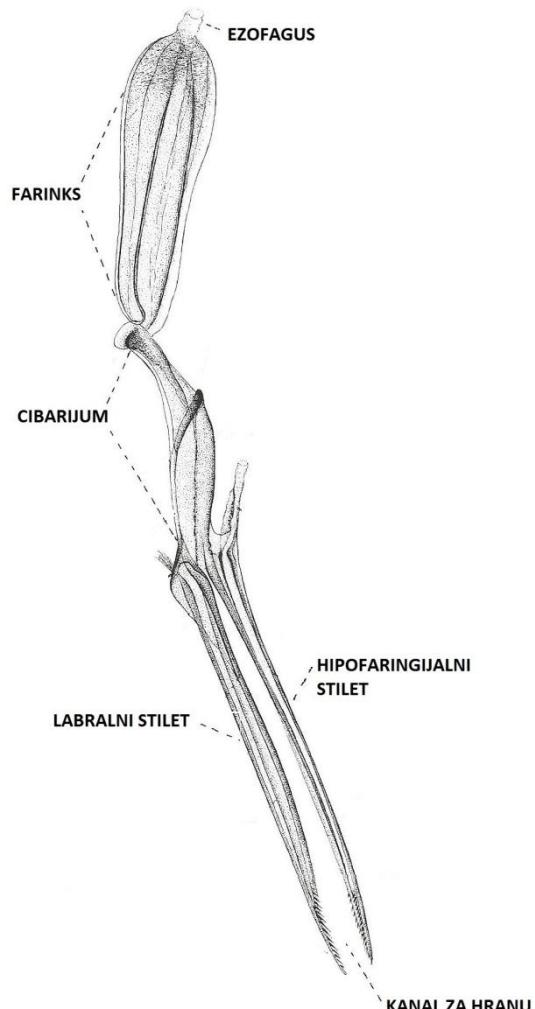
Šema 8. Transverzalni presek proboscisa (Originalni izvor: B. Jobling)

Maksile (*maxillae*) su građene iz *cardo*, *stipes*, maksilarnog palpa (*palpus maxillaris*) i stileta (*lacinia*) (Šema 9). Cardo je povezan sa glavenom čaurom u blizini zadnjeg tentorijalnog uzglobljenja. Na cardo se nastavlja dugačak tanak stipes koji je slične dužine kao gularna membrana i čitavom dužinom se prostire kroz nju. U nivou gde se mentum i prementum povezuju,

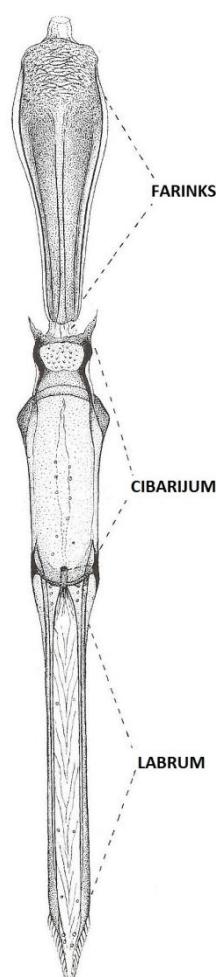
na stipesu se može uočiti lateralno proširenje – palpifer sa koga polazi maksilarni palp obrastao gustim dlakama. Maksilarni palpi su duži od usnog aparata, petočlani su a na 3 segmentu su smešteni specijalni hemoreceptori koji grade Newstead-ov organ koji je u toku hranjenja prislonjen na domaćina. Oblik i dimenzije palpalnih članaka su od taksonomskog značaja pa se relativna dužina segmenata izražava u obliku palpalne formule i to od najkraćeg ka najdužem segmentu. Na stipes se nadovezuje stilet koji je na svom distalnom kraju nazubljen (sa spoljašnje strane nosi seriju velikih zuba, a sa unutrašnje strane nalaze nešto sitniji zubi) (Šema 5). Na poprečnom preseku usnog aparata u stanju mirovanja može se uočiti da su maksilarni stileti srpasti i da obavijaju mandibularne stilete i hipofaringijalni stilet (Šema 8).



Šema 9. Građa maksila (Originalni izvor: B. Jobling)



Šema 10. Građa kanala za hranu (Originalni izvor: B. Jobling)



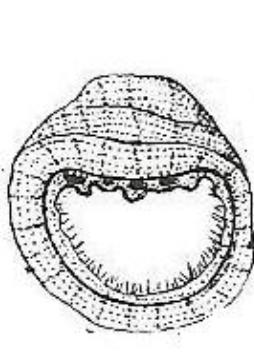
Šema 11. Građa kanala za hranu (Originalni izvor: B. Jobling)

Mandibule (*mandibulae*) ili mandibularni stileti su znatno deblji od maksilarnih i oni su uz pomoć malog sklerita vezani za ivicu gene. Idući od baze tj. uzglobljenja blago se šire ka vrhu gde se uočavaju jaki zubi duž ivica stileta (Šema 6). Izgled mandibula tj. njihova nazubljenost se razlikuje kod vrsta koje se hrane krvlju sisara ili ptica i kod vrsta koje se hrane krvlju gmizavca. Mandibule imaju ulogu u zasecanju kože dok maksile služe za pričvršćivanje. Samo ženke imaju funkcionalne mandibularne stilete i samo one se hrane krvlju. Kod mužjaka mandibularni stileti su odsutni dok su svi ostali delovi usnog aparata znatno nežniji i meksi i prilagođeni su za ishranu biljnim sokovima.

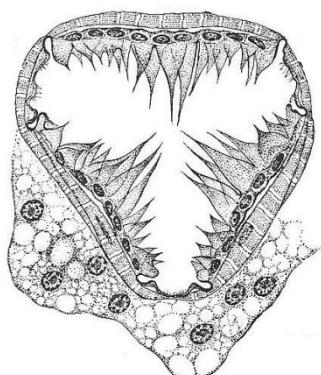
Pljuvačni kanal prolazi kroz hipofaringijalni stilet i otvara se na njegovom vrhu gde se nalazi i serija zubaca (Šema 7). Na vrhu labralnog stileta se takođe nalazi serija zubaca koji su nešto manji nego hipofaringijalni zupci i raspoređeni su tako da se savršeno uklapaju sa hipofaringijalnim zupcima po principu ključ-brava (Šema 10). Kanal za hranu proteže se celom dužinom labralnog stileta koji na poprečnom preseku ima izgled potkovice (Šema 8).

Na usni aparat nastavlja se cibarijum – mišićni organ koji ima funkciju pumpe tj. da potiskuje krv kroz kanal usnog aparata i upumpava je u faringijalnu duplju (Šeme 10-12). Kod određenih rodova peščanih mušica u cibarijumu se može uočiti mnoštvo zubaca i grebenova različitog oblika, veličine i rasporeda. Najčešće se uočavaju dve serije zuba, prednji ili ventralni zubi usmereni ka lumenu cibarijuma i na mikroskopskim preparatima izgledaju kao serija tačkica, i zadnji ili horizontalni zubi usmereni ka hipofarinksu i na mikroskopskim preparatima izgledaju kao kratke linije. Sa dorzalne strane cibarijuma u njegovom apikalnom delu nalazi se mesto vezivanja mišića klipeusa. U ovom regionu cibarijuma se na trajnim preparatima uočava tamno pigmentisana zona najčešće u vidu trake. Prisustvo tj. odsustvo pigmentisane trake, broj, građa i položaj cibarijalnih zubaca su od izuzetno važnog taksonomskog značaja.

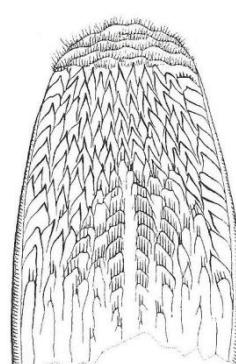
Na cibarijum se nastavlja farinks koji takođe ima ulogu u potiskivanju krvi ka digestivnom traktu. Faringijalna duplja je izgrađena iz tri pločice koje na poprečnom preseku daju trouglastu šupljinu (Šema 13). U svom distalnom delu farinks nosi seriju zuba usmerenih ka lumenu koji obrazuju faringijalnu armaturu (Šema 14). Oblik faringijalne duplje, kao i veličina, oblik i raspored zubaca karakteristični su za vrstu (Šema 15). Funkcija cibarijalnih i faringijalnih zuba još uvek nije tačno utvrđena ali se prepostavlja da oni imaju funkciju u cepanju i razbijanju elemenata krvi.



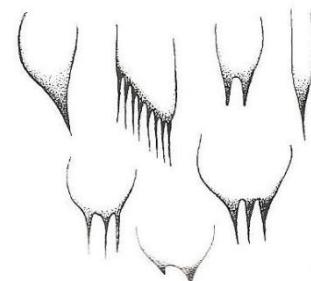
Šema 12. Poprečni presek kroz cibarijum (Originalni izvor: B. Jobling)



Šema 13. Poprečni presek kroz farinks (Originalni izvor: B. Jobling)



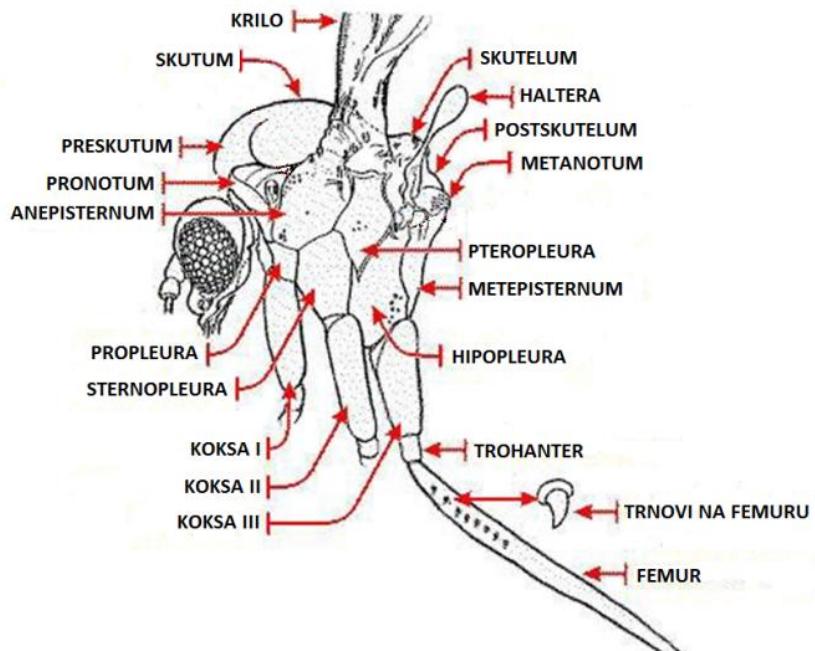
Šema 14. Faringijalna armatura (vrsta *P. papatasii*) (Originalni izvor: B. Jobling)



Šema 15. Izgled faringijalnih zubaca (Originalni izvor: B. Jobling)

Torakalni region

Toraks peščanih mušica je izgrađen od tri segmenta: protoraksa (*prothorax*), mezotoraksa (*mesothorax*) i metatoraksa (*metathorax*) (Šema 16). Kod insekata kod kojih oba para krila učestvuju u letenju mezotoraks i metatoraks su podjednako dobro razvijeni, dok kod reda Diptera, kod kojih su zadnja krila modifikovana u haltere te u pokretima leta učestvuju samo mezotorakalna krila, mezotorakalni segment je srazmerno funkciji i najrazvijeniji. Posmatrano iz lateralne vizije, upravo zbog ovakve građe toraksa telo peščanih mušica ima pogrblijen izgled (Šema 16).



Šema 16. Građa toraksa kod peščanih mušica (Originalni izvor: <http://www.wrbu.org/sfID>)

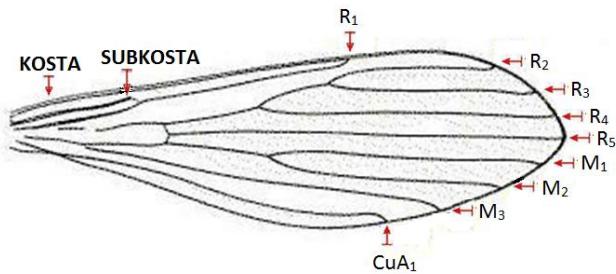
Protoraks je dosta redukovani i čini ga uzani region izgrađen od tankih sklerita *pronotum* i *propleuron*. Sa kolenastog izraštaja na propleuronu polazi cervikalni sklerit uz pomoć kojeg se glavena kapsula povezuje sa protoraksom. Sa donje strane propleurona polaze izdužene tubularne *coxae* protorakalnih nogu (*procoxae*).

Mezotoraks je najrazvijeniji deo toraksa i on nosi drugi par nogu i funkcionalna krila. Sa dorzalne strane može se uočiti veliki *mesonotum* iza kojeg se nalazi mali *metanotum*. *Mesonotum* je poprečnim šavovima nepotpuno podeljen na *prescutum*, *scutum* i *scutellum*. Iza trouglastog skuteluma nalazi se relativno veliki i izbočeni postnotum (*postscutellum*). Mezopleure su dobro razvijene i uzdužnim šavovima podeljene na pleurite. Prednji pleurit je jasno definisan na dorzalnu *anepisternum* (*mesopleuron*) i ventralnu *katepisternum* (*sternopleuron*) pločicu. Zadnji sklerit je takođe podeljen na dorzalnu *anepimeron* (*pteropleuron*) i ventralnu *meropleuron* (*hypopleuron*) pločicu.

Metatoraks je značajno redukovani i nosi par njihalica (haltere). *Metanotum* je u vidu tanke trake smeštene iza postnotuma, i latralno se spaja sa metapleuronom (*metepisternum*). Na gornjoj ivici metapleurona uzglobljene su haltere.

Noge peščanih pušica su veoma dobro razvijene, duge i tanke, prekrivene mnogobrojnim dlačicama i ljuspicama. Sastoje se od 5 članaka: *coxa*, *trochanter*, *femur*, *tibia* i petočlanog *tarsus-a*. Dužina tarzomera opada od prve ka poslednjoj, koja nosi 2 jednake kandžice (*unguis*).

I pored toga što imaju dobro razvijena mezotorakalna krila, peščane mušice nisu dobri letači, te se kreću serijom kratkih skokova a krilima se samo pomažu pri kretanju. Flebotomine se lako mogu razlikovati od ostalih pripadnika familije Psichodidae po tome što krila drže uspravno u odnosu na telo, u karakterističnom „V“ položaju tako da *costa* sa telom formira ugao od 60° (Slika 8). Krila podfamilije Phlebotominae su dosta uža i zaobljenija nego kod ostalih pripadnika familije Psichodidae i često se koriste prilikom identifikacije do nivoa roda (Šema 17; Slika 10). Uz pomoć krila uspešno se mogu razlikovati rod *Sergentomyia* od roda *Phlebotomus*.



Šema 17. Krilo peščane mušice
(Originalni izvor: <http://www.wrbu.org/sfID>)



Slika 10. Krilo peščane mušice
(Izvor: <http://www.wrbu.org/sfID>)

Krila su kopljastog izgleda, obrasla su gustim dlačicama naročito po ivicama i nervima. Karakteristično je prisustvo 9-10 uzdužnih paralelnih nerava dok su poprečni nervi malobrojni. *Costa* je najbolje izražena, gradi gornju ivicu krila i uglavnom je gusto prekrivena dlakama. Ispod nje uočavaju se *subcosta* i prvi radikalni nerv (R_1) koji su proste građe i ne granaju se. Drugi radikalni nerv (R_2) se grana na dva mesta dajući nerve R_3 i R_4 . Mesto grananja R_2 nerva kod Phlebotominae polazi približno sa sredine krila, dok kod svih ostalih pripadnika familije Psychodidae polazi pri bazi krila. Peti radikalni nerv (R_5) je proste građe i ne grana se, polazi sa poprečnog radio-medijalnog nerva (r-m). Prvi medijalni nerv se grana i daje nerve M_1 i M_2 , dok se drugi medijalni nerv ne grana (M_3) i polazi sa medio-kubitalnog (m-c) poprečnog nerva. *Cubitus* i *analis* su prosti nervi bez grananja.

Abdominalni region

Abdomen flebotomina je izduženog cilindričnog oblika. Prvi abdominalni tergit je nešto duži od ostalih, dok je sternit gotovo neuočljiv. Segmenti II-VII su sličnog izgleda ali im veličina postepeno opada idući ka terminalnom delu abdomena. Tergiti i sterniti su dobro razvijeni i povezani pleuralnim membranama. Stigmalni otvori su smešteni sa lateralnih strana I-VII segmenta. Na osnovu izgleda vršnih segmenata abdomena možemo razlikovati polove peščanih mušica (Slike 11 i 12).



Slika 11. Izgled abdomena kod ženki
(Izvor: <http://www.raywilsonbirdphotography.co.uk>)

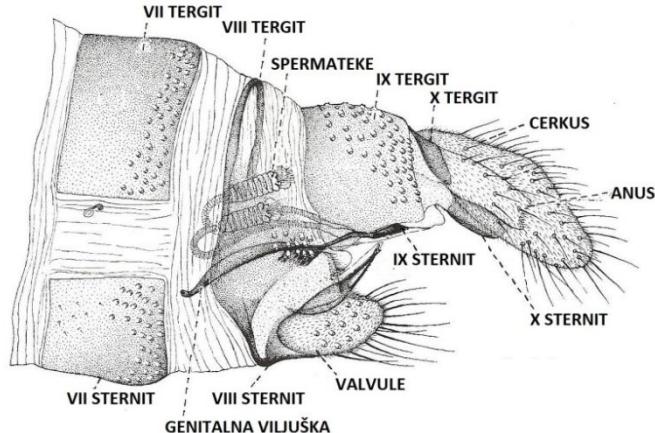


Slika 12. Izgled abdomena kod mužjaka
(Izvor: <http://www.wrbu.org/sfID>)

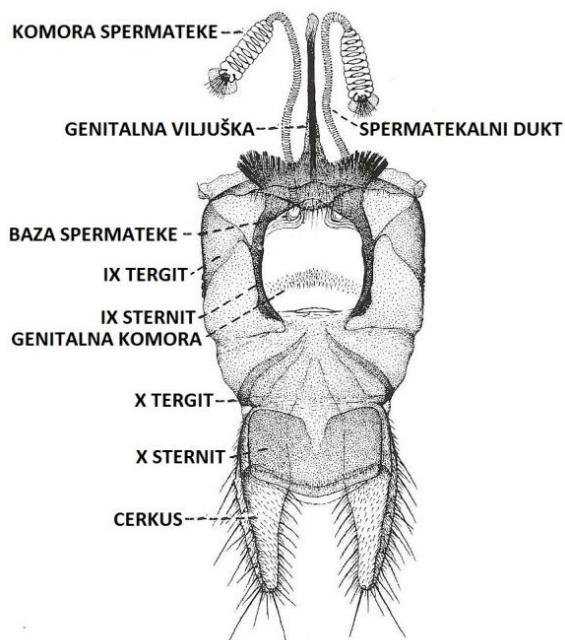
Terminalni deo abdomena ženki i grada polnih organa

Kod ženki peščanih mušica abdominalni segmenti (VIII-X) su fuzionirani i daju apikalnom delu abdomena zaobljeni izgled (Slika 11). VIII segment je značajno redukovani i najčešće je u vidu uzanog prstena sa čije ventralne strane polazi par proširenih lobusa (*valvulae*) koje ujedno čine

jedine spoljašnje genitalije ženke. IX i X segment su dobro razvijeni i na X segmentu se uočavaju parni izrastaji – *cerci* (Šeme 18 i 19).

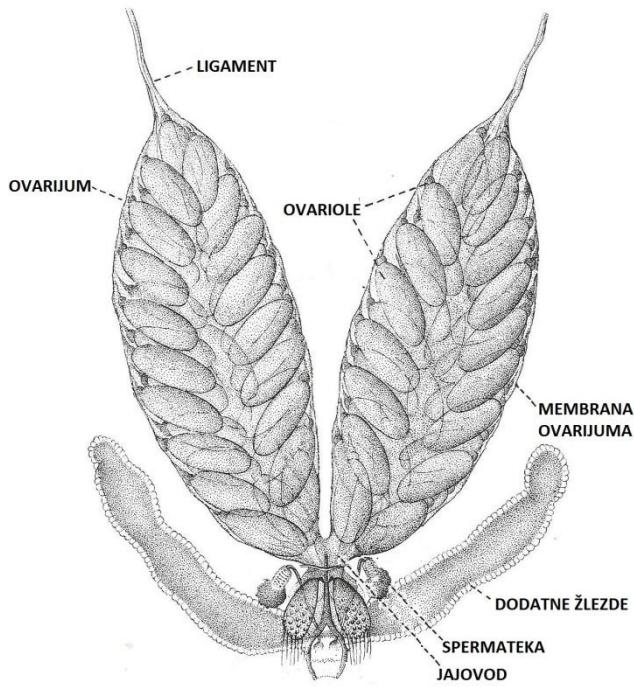


Šema 18. Vršni deo abdomena asa reproduktivnim organima ženke (vrsta *P. papatasi*) (Originalni izvor: B. Jobling)



Šema 19. Ventralna vizija IX i X segmenta abdomena sa reproduktivnim organima ženke (vrsta *P. papatasi*) (Originalni izvor: B. Jobling)

Glavnu komponentu u anatomiji ženskog reproduktivnog sistema čine dva krupna ovarijuma, izgrađena od većeg broja politrofičnih ovariola koje su obavijene zajedničkom membranom. Na ovarijume se nastavljaju kratki parni jajovodi koji se potom ulivaju u genitalnu komoru. Genitalna komora predstavlja jednostavno kesasto proširenje čiji je otvor smešten sa ventralne strane abdomena između VIII i IX segmenta. Sa dorzalne strane genitalne komore polaze parne dodatne žlezde jednostavne građe i dve spermateke koje su od izuzetnog taksonomskog značaja. Potporu spermatekama pruža genitalni sklerit u obliku viljuške (*furca*) smeštena sa dorzalne strane genitalne komore (Šema 20). Prilikom kopulacije, kopulatorni organ mužjaka dopire do baze spermateke i na trajnim preparatima se često može uočiti mesto „udarca“ *aedeagus-a*. Genitalni filamenti ulaze duboko u spermateke i dopiru do komore (Šema 21) gde se deponuju spermatozoidi (jedan genitalni filament-jedna spermateka).



Šema 20. Reproduktivni sistem ženke (Originalni izvor: B. Jobling)

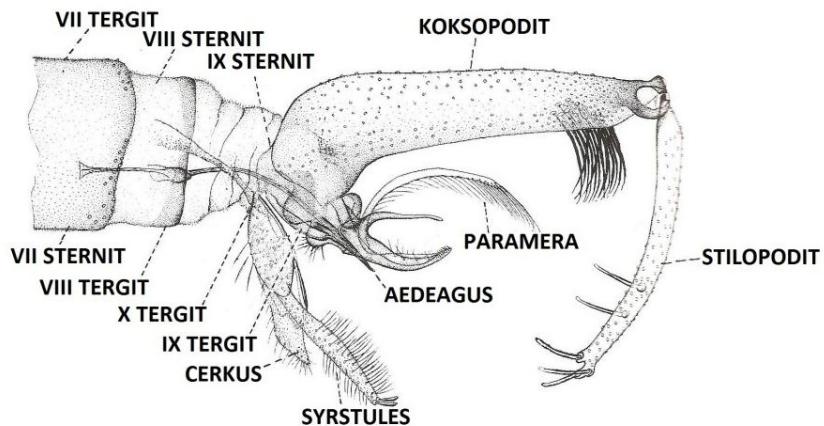


Šema 21. Građa komore spermateke (Originalni izvor: B. Jobling)

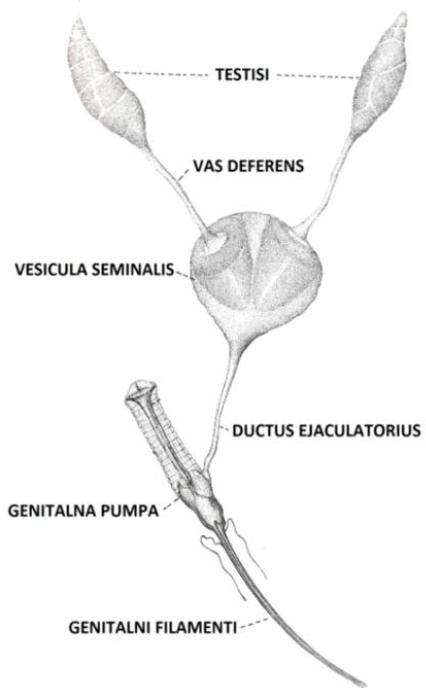
Terminalni deo abdomena mužjaka i grada polnih organa

Abdomen mužjaka je dosta uži nego abdomen ženki i na njegovom kraju se lako uočavaju spoljašnji genitalni organi raspoređeni tako da formiraju slovo „C“ (Slika 12). Terminalni segmenti mužjaka nakon eklozije rotiraju po uzdužnoj osi udesno za 180° , čime se postiže konačan izgled i funkcionalnost genitalne armature. Rotacija započinje odmah posle eklozije mužjaka na VII segmentu koji se uvrće za 40° , dok je već VIII segment potpuno rotiran. IX segment je gotovo u potpunosti redukovani dok je X segment značajno izdužen, spljošten i čini *proctiger*. *Proctiger* nosi par dugačkih i tankih lateralnih lobusa (*syrstules*) i par *cercus*.

Spoljašnje genitalije mužjaka smeštene su iza VIII segmenta i izgrađene su od parnih: klaspeta, *syrstules*, paramera i *aedeagus-a* (parni penisi tj. *corpus intromitans*). Klaspete su zbog rotacije terminalnih segmenata abdomena pozicionirane sa dorzalne strane spoljašnjih genitalija. Svaka klaspeta je građena iz dva članka: *coxopodit* (koksit/koksopodit) i *stylopodit* (stil/stilopodit). Koksopodit je bazalni članak i nosi veliki broj senzitivnih dlačica koje mogu biti raspoređene po čitavom članku ili pak fokusirane na dodatnim izraštajima (lobovima). Na drugom tj. vršnom članku klaspete nalazi se najčešće 4 ili 5 trnova čiji broj, dužina i raspored varira u zavisnosti od vrste. Paramere i edeagusi su fuzionisani svojim bazama i smešteni su u centralnom regionu genitalne armature. Paramere mogu biti građene iz nekoliko članaka, najčešće se mogu uočiti *distimere* koja se nalaze na apikalnom kraju i podvijaju se pod bazalni članak (*basimere*). Edeagusi su sklerotizovani i mogu biti različitog oblika i dužine. Sa ventralne strane genitalne armature smešteni su cerci i lateralni lobovi (*syrstules*) najčešće jedostavne građe (Šema 22).



Šema 22. Građa spoljašnjih i unutrašnjih genitalija mužjaka -lateralna vizija
(Originalni izvor: B. Jobling)



Šema 23. Reproduktivni sistem mužjaka
(Originalni izvor: B. Jobling)

Testisi peščanih mušica su mali i najčešće u obliku žira. Od svakog testisa polazi kratak parni kanal – *vas deferens* (parni semevod) koji se uliva u komoricu *vesicula seminalis*. Prednji zid *vesicula seminalis* je zadebljao i obložen je sa unutrašnje strane žlezdanim epitelom. *Vesicula seminalis* se nastavlja na neparni medijalni kanal, odnosno neparni semevod (*ductus ejaculatorius*) koji se uliva u komoru genitalne pumpe. Genitalna pumpa izgrađena je od komore i kutikularnog štapa koji usled kontrakcije mišića pumpe potiskuje spermu iz komore kroz genitalne filamente. Genitalni filamenti su parni, sklerotizovani i obuhvaćeni zajedničkom membranom sve do edeagusa gde se razdvajaju (Šema 23).

6. MEDICINSKI I VETERINARSKI ZNAČAJ PEŠČANIH MUŠICA

Peščane mušice su nežni i delikatni insekti koji su od davnina privlačili pažnju mnogih istraživača, pre svega zbog hematofagnog ražima ishrane odraslih ženki. Odrasle ženke se hrane krvlju ptica i sisara, a veoma često preferiraju i krv čoveka. Upravo zbog ovakvog režima ishrane, pre svega zbog izražene antropofilnosti, ovi insekti su stekli medicinski i veterinarski značaj.

Ubodi peščanih mušica su veoma bolni a kod osetljivih osoba mogu izazvati i alergijske reakcije koje se manifestuju povećanim crvenilom i svrabom kože. Ukoliko su prisutne populacije visoke brojnosti peščane mušice predstavljaju veoma značajne molestante. U toku svog hranjenja ženke na domaćina mogu da prenesu različite protozoe (genus *Leishmania*) i viruse (*Phlebovirus*, *Bunyaviridae*) i time ugroze zdravlje ljudi i životinja.

6.1. Lajšmanioza

Lajšmanioze pripadaju grupi zaraznih vektorskih bolesti koje se javljaju kod ljudi, domaćih i divljih životinja i izazivaju ih različite vrste parazitskih protozoa iz roda *Leishmania* (Protozoa, Trypanosomatidae). U rod *Leishmania* ubraja se 35 vrsta protozoa, dok je za već 20 vrsta potvrđeno da su od medicinskog i/ili veterinarskog značaja (Shaw 1994). U toku svog složenog životnog ciklusa *Leishmania* sp. promeni dva domaćina: jednog sisara (pas, glodar, čovek) gde ima intracelularan razvoj i nalazi se u formi amastigota, i jednu peščanu mušicu gde se razvija ekstracelularno u formi promastigota (Gossage et al. 2003, Dostálová and Wolf 2012).

Amastigoti su obligatni intracelularni paraziti i najčešće se mogu naći u makrofagu ili u drugim fagocitarnim ćelijama sisara zaduženim za odbranu organizma od patogena (Slika 13). Iako su veoma sitni, veličine svega 2-5 µm, amastigoti se mogu jasno razlikovati od ostalih ćelija. Najčešće su ovalnog oblika sa lako uočljivim loptastim nukleusom i štapićastim kinetoplastom sa čije desne strane je smešten rizoplast tj. rudimentirani bič (Kima 2007).

Promastigoti su ekstracelularni paraziti čiji životni ciklus se odvija unutar digestivnog trakta peščane mušice (Slika 14). U ovoj fazi svog života promastigoti promene nekoliko formi u cilju razvijanja infektivnih jedinki. Možemo razlikovati forme koje su nereplikativne (veoma pokretne sa dugačkim bičem – nektotonadni i metacaklični promastigoti) i replikativne forme (takođe pokretne ali uglavnom sa kraćim bičem – prociklični, leptomonadni i haptomonadni promastigoti). Telo im je manje ili više izduženo, u zavisnosti od trenutne forme razvića. Imaju tipičnu građu tripanozoma, od kojih se razlikuju po tome što nemaju undulentnu membranu te je bič slobodan (Bates 2007).



Slika 13. Amastigoti unutar ćelije;
crvena strelica- nukleus; plava strelica- kinetoplast;
(Izvor: <https://www.cdc.gov/parasites/leishmaniasis/diagnosis>)



Slika 14. *Leishmania donovani* promastigot
(Izvor: <http://classconnection.s3.amazonaws.com>)

Najstariji dokazi o postojanju lajšmanioza kao oboljenja kod ljudi, pronađeni su na grnčariji poreklom iz Ekvadora i Perua koja datira još iz perioda od oko 100. godine nove ere. Prisustvo lajšmanioza registrovano je u drevnim zapisima Inka iz 15. i 16. veka, kao i u tekstovima španskih konkvistadora. Mnogobrojni tekstovi iz perioda kolonizacije centralne Amerike od strane Španaca, svedoče o tome da su se sezonski radnici koji su radili na poljoprivrednim imanjima u podnožju Anda, često vraćali kući sa gnojnim ranama na koži. U to vreme oboljenje je bilo poznato kao dolinska (eng. *valley sickness*) ili andska bolest (eng. *Andean sickness*). S obzirom na to da lajšmanioze izazivaju deformacije nazalnog regiona, te veoma podsećaju na lepru, prema navodima starije literature oboljenje je bilo poznato i kao bela lepra (eng. *white leprosy*) (Slika 15).



Slika 15. Posledice muko-kutane lajšmanioze („bela lepra“) na ostacima starim preko 1000 godina poreklom iz Čilea (Atakama pustinja); (Izvor:<http://anthropology.net/2009/09/10/ancient-leishmaniasis-from-coyo-oriente-cemetery-in-chile/>)

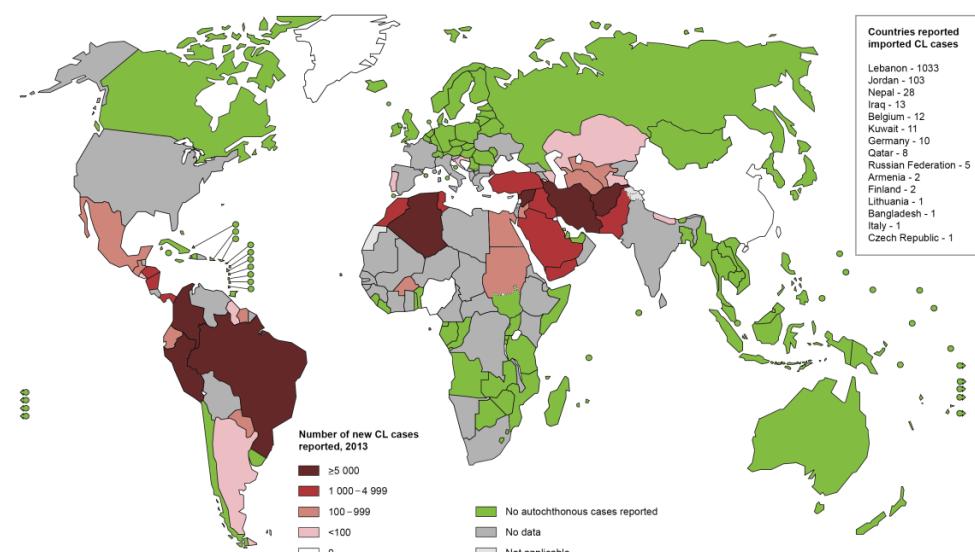
Iako dokazi o prisustvu kožne lajšmanioze u Starom svetu datiraju s kraja prvog milenijuma nove ere, jedan od prvih i najvažnijih kliničkih opisa ovog oboljenja dao je Alexander Russell, 1756. godine prilikom postavljanja dijagnoze kod jednog pacijenta u Turskoj. U to vreme oboljenje je bilo poznato kao Alepo groznica (eng. *Aleppo boil*). Visceralne forme lajšmanioze su od davnina bile poznate i u Indiji pod imenom „kala-azar“, odnosno crna groznica. Početkom dvadesetog veka, tačnije 1922. godine, Archibadi opisuje epidemiju kala-azara u Saudiskoj Arabiji koja je na osnovu pisanih dokumenata zahvatila oblast Asam 1870. godine. Cuuningham po prvi put u svojim izveštajima navodi da je oboljenje kala-azar izazvano parazitima (Steverding 2017).

Parazite lajšmanije, po prvi put je uočio 1901. godine Dr Leishman u bojenim razmazima slezine kod pacijenta koji je preminuo u Indiji od dum-dum groznice. Iste parazite, za koje se u početku smatralo da pripadaju tripanozomama opisao je 1903. godine Donovan, dok je uzročno-posledičnu vezu između parazita i oboljenja kala-azar ustanovio Dr Ross koji je novom parazitu dodelio ime *Leishmania donovani*. Međutim, tek 1942. godine je dokazano da peščane mušice mogu biti vektori parazita lajšmanije (Steverding 2017).

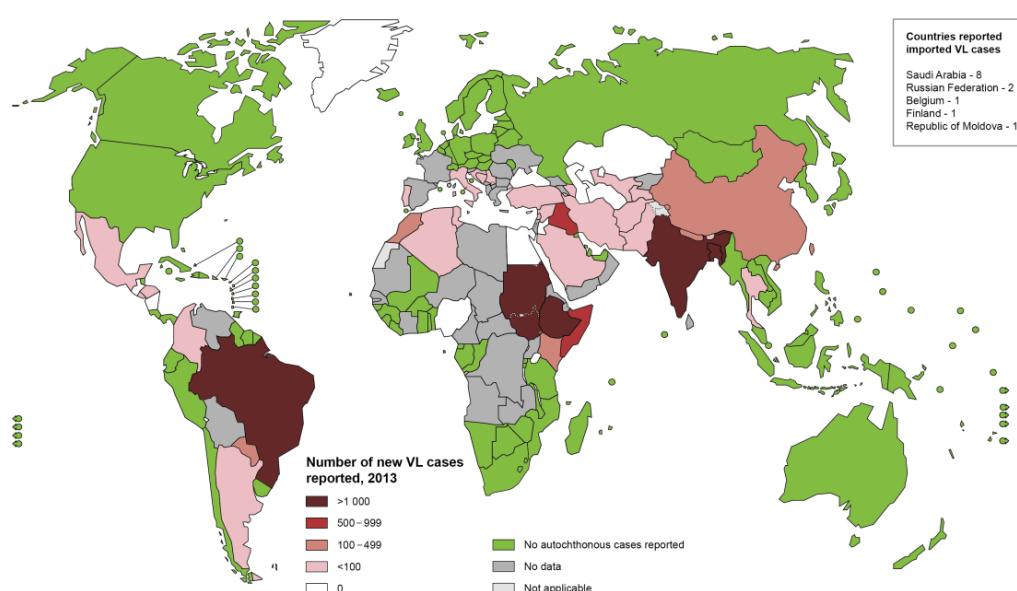
Lajšmanioze su široko rasprostranjene u svim tropskim i subtropskim oblastima izuzev Australije. Ove bolesti su endemične u čak 88 zemalja širom sveta, od kojih se 72 države ubrajaju u zemlje u razvoju, dok je 13 slabo razvijeno. Visceralna lajšmanioza se smatra endemičnim oboljenjem u 65 zemalja, od kojih su najgore pogodjeni Brazil, Etiopija, Indija, Kenija, Somalija i Sudan (90% od ukupnog broja obolelih svake godine su stanovnici ovih zemalja). Kutani oblici

lajšmanioze najviše se javljaju u Americi, Mediteranskom basenu, Bliskom istoku i centralnoj Aziji. Dve trećine registrovanih slučajeva kutane lajšmanioze poreklom je iz Avganistana, Alžira, Brazilia, Kolumbije, Irana i Sirije.

S obzirom na to da veliki broj slučajeva lajšmanioze bude pogrešno dijagnostikovan ili ostaje ne prijavljen, broj obolelih ljudi se do sada procenjuje na 12-15 miliona. Na osnovu izveštaja Svetske zdravstvene organizacije za 2015/2016. godinu, godišnje se beleži između milion i milion i po novih slučajeva. Svake godine je u proseku registrovano između 0,6 i milion novih slučajeva kožne (Slika 16), i oko 200-300.000 novih slučajeva visceralne lajšmanioze (Slika 17) sa preko 20.000 smrtnih slučajeva (World Health Organization 2015).



Slika 16. Distribucija i broj novih slučajeva kutane lajšmanioze registrovanih u toku 2013. godine po podacima Svetske Zdravstvene Organizacije (Izvor: <http://www.intechopen.com/source/html/46248/media/image4.png>) *



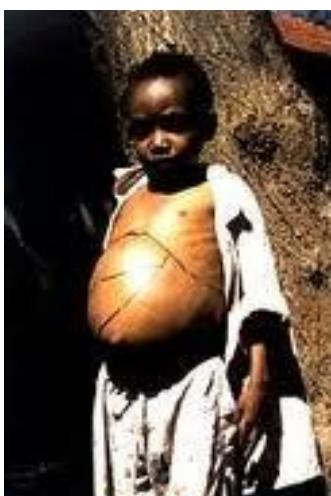
Slika 17. Distribucija i broj novih slučajeva visceralne lajšmanioze registrovanih u toku 2013. godine po podacima Svetske Zdravstvene Organizacije
(Izvor: http://gamapserver.who.int/mapLibrary/Files/Maps/Leishmaniasis_VL_2013.png?ua=1) *

* Grafički prikaz distribucije i broja registrovanih slučajeva kutane i visceralne lajšmanioze dat je za 2013. godinu.
Novije mape distribucije nisu dostupne.

Lajšmanioze su bolesti koje se javlju u nekoliko različitih oblika i čiji simptomi mogu varirati od blagih kožnih upala pa do teških akutnih manifestacija na unutrašnjim organima. Oboljenje se kod ljudi javlja u tri osnovne forme: visceralna, kutana i muko-kutana.

Visceralna lajšmanioza

Visceralna lajšmanioza je u svetu poznata kao kala-azar, dum-dum groznica, crna groznica ili tropска splenomegalija. Uzročnici ovog oblika lajšmanioze su protozoe *L. donovani* i *L. infantum*. Kod ljudi ova bolest se najčešće manifestuje velikim uvećanjem slezine i jetre (Slike 18-20), a kod uznapredovalih stadijuma se pored uvećanja unutrašnjih organa uočavaju i promene u pigmentaciji kože (najizraženije su promene u boji kože lica koja poprima sivkastu nijansu). Ukoliko se ne dijagnostikuje na vreme i bez primene odgovarajuće terapije, visceralna lajšmanioza u 95% slučajeva dovodi do smrtnog ishoda (Ready 2014).



Slika 18. Visceralna lajšmanioza
(Izvor: <http://www.who.int>)



Slika 19. Visceralna lajšmanioza
(Izvor: <http://www.icp.ucl.ac.be>)



Slika 20. Visceralna lajšmanioza
(Izvor: <http://www.stanford.edu>)

Kutana lajšmanioza

U Starom svetu kutanu lajšmaniozu izazivaju *Leishmania tropica*, *L. major* ili *L. aethiopica*. Kao i viscelarna lajšmanioza i kutana ima nekoliko naziva ali u literaturi se najčešće pominje kao orijentalni čir (eng. *oriental sore*).

U slučaju kutane lajšmanioze, paraziti isključivo naseljavaju kožu i ne migriraju u unutrašnje organe. Lokalizovana kutana lajšmanioza (Slika 21) uzrokovana je *L. tropica* a lezije se mogu uočiti na ekstremitetima ili na licu nakon 1-2 meseca od infekcije. Pored lokalizovane kutane lajšmanioze javlja se i difuzni oblik koji obuhvata veliku površinu kože različitih delova tela (Slika 22). Difuzna kutana lajšmanioza javlja se kod ljudi koji imaju defektivi sistem imune odbrane, tj. celije zadužene za prvu fazu borbe imaju neki oblik malformacije. Ovo oboljenje po svom izgledu najviše podseća na lepru, ostavlja trajne ožiljke po telu i nikada se u potpunosti ne može izlečiti (čak i posle nekoliko tretmana bolest se uvek vraća). Zbog svog razarajućeg efekta na organizam pacijenta, kako zbog same bolesti tako i zbog tretmana lekovima, ova bolest je uvrštena u bolesti od posebnog zdravstvenog značaja (Reithinger et al. 2007).



Slika 21. Lokalizovani oblik kutane lajšmanioze na ekstremitetima ruku (Izvor: <http://web.stanford.edu>)



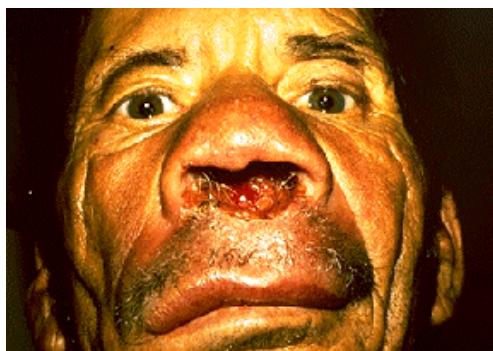
Slika 22. Difuzni oblik kutane lajšmanioze (Izvor: <http://www.ajtmh.org>)

Muko-kutana lajšmanioza

Muko-kutana lajšmanioza je u svetu poznata kao “espundila”. Najčešće se javlja u Novom svetu i uglavnom je uzrokuje *L. mexicana*. Poznata je po tome što izaziva tešku destrukciju nosne i usne duplje (Slike 23 i 24). Ova bolest značajno ugrožava živote ljudi zato što dovodi do deformacija i uništavanja začetka respiratornog i digestivnog trakta (Handler et al. 2015) (Slika 25).



Slika 23. Muko-kutana lajšmanioza - oralna manifestacija
(Izvor:
<http://web.stanford.edu>)



Slika 24. Muko-kutana lajšmanioza - nazalna manifestacija
(Izvor: <http://web.stanford.edu>)



Slika 25. Posledice lečenja muko-kutane lajšmanioze
(Izvor: <http://download.thelancet.com>)

6.1.1. Lajšmanioza u Srbiji

Prvi registrovani slučajevi autohtone visceralne lajšmanioze u Srbiji zabeleženi su u selu Dubovo kod Niša i datiraju još iz 1944. godine. Po navodima tadašnjeg lekara, odmah po otvaranju dečijeg odeljenja bolnice u Nišu 1945. godine registrovani su mnogobrojni slučajevi visceralne lajšmanioze kod odojčadi i to iz nekoliko sela Niškog okruga (Saulic 1949). Već 1946. broj obolelih u ovim selima naglo se povećava a bolest se širi i na druga sela Niškog okruga.

Po navodima Milovanovića i Popovića lajšmanioza se širila Srbijom u tri epidemiološka talasa (Saulic 1949). Prvi talas pogodio je oblast Niša (1945-1948), drugi talas javio se severoistočno u oblasti Zaječara (1949) a treći u oblasti Kragujevca (1953).

Po navodima istoimenih autora bolest su u Srbiju unele strane vojne trupe koje su se povlačile iz Afrike preko Bugarske i Grčke sa zadržavanjem u Srbiji. Povoljni klimatski uslovi, ljudi iznurenii ratom kao i loše posleratno higijensko stanje, omogućili su peščanim mušicama i

lajšmaniji da se razviju u većem broju i izazovu izbijanje prvog talasa epidemije visceralne lajšmanioze u Niškom okrugu.

U toku 1947. godine u oblasti Niša počinju opsežna rezidualna prskanja DDT-jem koja su desetkovala brojnost peščanih mušica, a što je po navodima Milovanovića i Popovića značajno doprinelo smanjenju broja obolelih od lajšmanioze. Rezidualna prskanja su u oblasti Zaječara bila mnogo manja, te je bolest uspela da se proširi na severo-istok izazivajući nešto blaži drugi epidemiološki talas. Vremenom se rezidualno prstanje DDT-jem obavlja samo na određenim lokacijama, što omogućava peščanim mušicama da ponovo povećaju brojnost i lajšmaniji da se proširi na oblast Kragujevca gde 1953. godine izbija najjači epidemiološki talas do sada. Nakon 1953. godine počinje masovna edukacija medicinskog osoblja, a poboljšani životni uslovi i standardi, kao i besplatno lečenje i ponovno pokretanje rezidualnog prskanja DDT-jem imali su uticaja da se smanji broj peščanih mušica a ujedno i broj obolelih od lajšmanioze u Srbiji.

U periodu od 1945. do 1955. godine registrovano je ukupno 930 slučajeva visceralne lajšmanioze sa mortalitetom od 30,4 %. Nakon 1956. broj registrovanih slučajeva drastično opada i u periodu od 1956. do 1959. registrovano je samo 17 novih slučajeva. U narednim godinama javljali su se pojedinačni sporadični slučajevi lajšmanioze. Poslednji prijavljeni slučajevi datiraju iz 1968. godine nakon čega se bolest smatrala iskorenjenom (Živković 1980).

Od 1968. pa sve do danas, u Srbiji je prijavljeno svega nekoliko slučajeva lajšmanioze. Većina registrovanih slučajeva bila je povezana sa nedavnim putovanjem van Srbije u neku od zemalja gde je lajšmanioza endemična bolest. Kod samo dva slučaja se sa sigurnošću može utvrditi da se radi o autohtonom oboljenju. Prvi slučaj zabeležen je kod dvadeset-četvorogodišnjeg muškarca (Dakić et al. 2009) a drugi kod jedanaestomesečne bebe (Dokmanović et al. 2012). Kod oba slučaja ispoljili su se slični simptomi uljučujući groznicu i uvećane unutrašnje organe (slezina i jetra). Serološki strip test u oba slučaja dao je pozitivan rezultat dok je punkcijom koštane srži potvrđeno prisustvo amastigota *Leishmania* sp.

Prema navodima Dokmanovića i saradnika (2012) lajšmanioza u Srbiji nije iskorenjena bolest i trenutno se nalazi u dormantnoj fazi. Pored toga, postoji verovatnoća da je oboljenje prisutno u mnogo većem broju nego što je za sada prijavljeno usled prisustva određenog broja asimptomatičnih slučajeva. S obzirom da se lajšmanioza više ne smatra endemičnim oboljenjem, i da se lekari ne susreću sa datim simptomima toliko često kao pre, sumnja se da određen broj pacijenata biva pogrešno dijagnostikovan. Prema „Zakonu o zaštiti stanovništva od zaraznih bolesti“ lajšmanioza se ne nalazi na listi zoonoza od medicinskog značaja, i prisustvo obog oboljenja nije neophodno prijaviti nadležnim službama. Usled ovoga, bolest uglavnom prolazi neopaženo, posebno u južnijim delovima države, pa se tačan broj obolelih ne zna.

6.2.Flebovirusi i papatačijeva groznica

Papatačijeva groznica ili papatačka groznica je virusno oboljenje koje prenose peščane mušice (papatači) iz podroda *Larroussius* Nitzulescu, 1931 i *Phlebotomus* Rondani & Berté, 1840. Bolest izazivaju virusi iz tri roda: *Phlebovirus* (familija *Bunyaviridae*), *Vesiculovirus* (familija *Rhabdoviridae*) i *Orbivirus* (familija *Reoviridae*) (Tesh 1988).

Papatačijeva groznica se manifestuje mnoštvom različitih simptoma koji mogu varirati od blage groznice pa do encefalitisa. Sa epidemiološkog aspekta najznačajniju ulogu igraju Sicilijanski, Napuljski i Toskana serotip virusa svrstanih u okviru familije *Bunyaviridae* (Elliott and Brennan 2014). U oblasti Mediterana, papatačka groznica izazvana ovim serotipovima flrobovirusa

je uobičajna bolest, ali i pored toga terenska istraživanja na vektorima i mogućim rezervoarima oboljenja, kao i laboratorijska istraživanja na utvrđivanju vektorskog potencijala su u velikoj meri zapostavljena.

Prvi zapisi o papatačijevoj groznici datiraju iz 1943/1944 i odnose se na bolest „sličnu influenci“ koja se javila među američkim vojnicima stacioniranim u Italiji. sicilijanski i napuljski serotip virusa izazivaju takozvanu trodnevnu groznicu prilikom koje pacijent ispoljava simptome gripe koji prolaze u roku od nekoliko dana, dok je Toskana virus jedan od tri najprevalentnija virusa u Evropi koji izaziva meningitis u toku letnje sezone.

Sicilijanski serotip virusa prvi put je izolovan (u prirodi i laboratoriji) iz primeraka *P. papatasi* poreklom iz Mediteranskog ragiona i centralne Azije (Watts et al. 1988). Ovaj virus je nedavno izolovan i iz *P. ariasi* poreklom iz Alžira (Izri et al. 2008). U većini država gde je registrovano prisustvo Sicilijanskog serotipa sumnja se da je *P. papatasi* vektor. Međutim, u Italiji postoji mogućnost da tu ulogu igraju *P. perniciosus*, *P. perfiliewi* i *P. neglectus*. Za sada se sumnja da različite vrste kičmenjaka, pre svega glodara (*Apodemus* spp., *Mus musculus*, *Rattus rattus*, *Clethrionomys glareolus*, *Meriones libycus*, *Gerbillus aureus*), insektivora (Soricidae and Talpidae) i karnivora (*Mustela nivalis*), igraju ulogu u održavanju cirkulacije virusa. Smatra se da je virus endemičan u Evropi, i da su granice širenja determinisane distribucijom vektora (Depaquit et al. 2010).

Napuljski virus je izolovan iz vrsta *P. perniciosus* u Italiji, *P. perfiliewi* u Srbiji i *P. papatasi* u Egiptu. Cirkulacija ovog virusa je zabeležena u Jordanu, dok se sumnja da je prisutna i u Turskoj. Rezervoari ovog virusa još nisu poznati.

Infekcije Toskana virusom u visokom procentu uglavnom prolaze ne zapaženo s obzirom na veliki broj asimptomatičnih slučajeva. Kod određenog broja pacijenata prezentuju se samo obični simptomi gripe, dok se kod manjeg broja obolelih javljaju meningitis i meningo-encefalitis. Epidemije akutnog encefalitisa i meningo-encefalitisa do sada su zabeležene u većini evropskih zemalja poput Italije, Francuske, Španije i Portugala (Charrel et al. 2005). Pored ovih zemalja, prisustvo Toskana virusa zabeleženo je i u Grčkoj, na Kipru i u Turskoj. Virus je izolovan iz vrsta *P. perniciosus* i *P. perfiliewi* koje se smatraju za glavne vektore oboljenja, ali takođe iz vrste *S. minuta* za koju se veruje da ne učestvuje u transmisiji (Charrel et al. 2005). U laboratorijskim uslovima dokazana je mogućnost kako transovarijalne transmisije tako i mogućnost veneralne transmisije sa inficiranih mužjaka na zdrave ženke. Do sada još uvek nije utvrđeno koje životinje su rezervoari oboljenja i postoji sumnja da su sami vektori rezervoari bolesti (Charrel et al. 2005). Međutim, progresivni pad u stopi infekcije iz generacije u generaciju, sugerije da se virus ne može održavati vertikalnom transmisijom u toku dužeg perioda te je stoga neophodno što pre detektovati rezervoare oboljenja. Do sada, Toskana virus je izolovan samo iz slepih miševa vrste *Pipistrellus kuhli* (Charrel et al. 2005).

6.2.1. Flebovirusi i papatačijeva grozica u Srbiji

Prvi slučajevi papatačijeve groznice u Srbiji detektovani su 1946. godine u regionu Niša. Po navodima Simića (Simić 1951) bolest je bila prisutna i pre 1946. godine ali je prolazila neopaženo ili je bila pogrešno dijagnostikovana.

Bolest se 1946. godine javila u velikom broju sela Niškog regiona i odatle se brzo širila ka severo-istoku i severu države pa je za svega par meseci (od polovine juna do polovine oktobra) uspela da dopre sve do južnih delova Banata. Za razliku od lajšmanioze koja nikad nije bila

detektovana severno od Dunava, papatačijeva grozna je 1946. registrovana u južnim delovima Banata. Međutim pošto se oboljenje javilo pred kraj sezone aktivnosti peščanih mušica, broj obolelih je bio dosta nizak.

Usled niske brojnosti peščanih mušica u regionu Vojvodine, broj obolelih je tokom godina bio mali sve do 1950. U toku 1950. godine dolazi do porasta brojnosti peščanih mušica usled čega u većini južno-banatskih sela izbija epidemija papatačijeve grozne. U toku ove epidemije više od 80% stanovništva je bilo obolelo i ona se smatra za jednu od najvećih epidemija u Srbiji i na čitavom Balkanu.

Već 1951. godine broj vektora a ujedno i broj obolelih je drastično smanjen, te su zabeležene samo dve manje epidemije u Sremu na granici sa Beogradom (Guelmino and Jevtic 1952). Nakon 1951. godine nije bilo više prijavljenih epidemija papatačijeve grozne u Srbiji. Sporadični slučajevi registrovani su širom zemlje, ali sa obzirom da se papatačijeva grozna manifestuje sa slabim do umerenim simptomima, većina lekara je zanemarivala simptome ili pogrešno dijagnostikovala bolest.

Virusna istraživanja u tom periodu nisu sprovođena a dijagnoza je postavljana na osnovu kliničke slike, epidemioloških podataka i entomoloških nalaza. Detaljnija istraživanja peščanih mušica i virusa koje prenose sprovedena su tek u periodu 1976-1981 godine u regionu Niša. Tom prilikom su iz *P. perfoliowi* izolovana 3 soja virusa (Gligic et al. 1981). Jedan od izolovanih sojeva je identifikovan kao Napuljski virus (*Bunyaviridae: Phlebovirus*), drugi izolat se morfološki i antigeno pokazao kao novi virus pripadnik familije *Rhabdoviridae*, rod *Vesiculovirus*, sero grupa *Vesicular stomatitis* i koji je imenovan kao Jug Bogdanovac virus (Pfeffer et al. 2013). Treći izolat je ostao neidentifikovan.

Po navodima autora (Gligic et al. 1981) nalaz antitela za viruse i izolacija virusa iz vektora ukazuje na neprestalnu aktivnost ovih virusa u Srbiji. Međutim izostanak epidemija ukazuje na to da se ekologija virusa promenila ili i sugerise da sporadični slučajevi najverovatnije ostaju nedetektovani. Nakon 1981. godine istraživanja virusa u peščanim mušicama su zapostavljena a potom i napuštena.

7. MATERIJAL I METODE RADA

Istraživanje diverziteta i distribucije peščanih mušica na teritoriji Srbije sprovedeno je u periodu od 2013. do 2016. godine po prvi put nakon više decenjske pauze. U toku četiri godine sakupljanje je izvršeno na ukupno 135 lokaliteta širom Srbije (Mapa 1).

Istraživanja su otpočela u regionu Autonomne Pokrajine Vojvodine 2013. godine, nakon čega su već 2014. godine proširena na region istočne i jugoistočne Srbije a potom i na region zapadne Srbije i Šumadije u toku 2015. godine.

Najdetaljnija istraživanja sprovedena su u Vojvodini gde je u periodu od 3 godine (2013-2015) istraženo ukupno 80 lokaliteta. Nešto skromnija istraživanja sprovedena su u regionu istočne i jugoistočne Srbije (2014-2016) gde je ukupno istraženo 18 lokaliteta dok je region zapadne Srbije sa Šumadijom istraživan u toku 2015. i 2016. godine na ukupno 37 lokaliteta.

7.1.Izbor regionala i lokaliteta za uzorkovanje

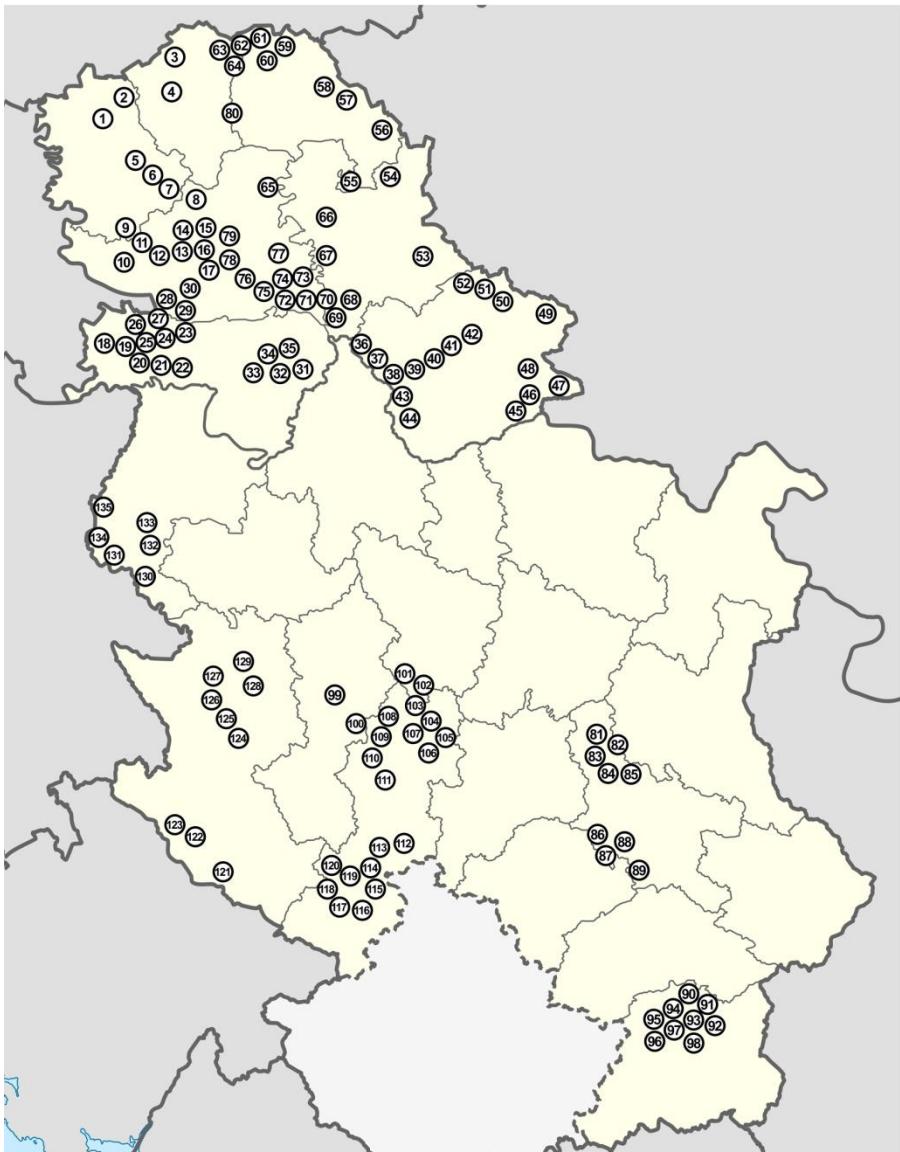
Region Autonomne Pokrajine Vojvodine

Region Autonomne Pokrajine Vojvodine obuhvata severni deo Republike Srbije sa površinom od približno 21.000 km². Vojvodina leži u jugoistočnom delu Panonske nizije i pretežno je ravnicaarski region sa preko 84 % obradivih površina. Reke Dunav, Tisa i Sava dele Vojvodinu na tri veće geografske celine: Banat, Bačku i Srem.

Predhodna istraživanja peščanih mušica u Vojvodini vršena su u periodu od 1949. do 1951. godine i to uglavnom u selima zahvaćenim virusom papatačijeve groznice (Banat). Po navodima literature na prostoru Vojvodine bilo je zabeleženo prisustvo svega tri vrste peščanih mušica – *P. papatasi*, *P. neglectus* i *P. perfoliowi* s.l. (Simić et al. 1951). Iako je prisustvo vektora lajšmanioze na ovim prostorima detektovano, bolest nikada nije registrovana. U periodu od 2006. pa do 2013. godine registrovano je nekoliko slučajeva lajšmanioze kod pasa (Savić et al. 2013). Glavni razlog za pokretanje entomološkog nadzora u ovoj oblasti je pojава autohtonih slučajeva lajšmanioze.

Prilikom planiranja terenskog rada konsultovane su publikacije koje se odnose na ovaj region i izdvojeni su lokaliteti koji su se u prošlosti isticali po brojnosti i raznovrsnosti peščanih mušica. Lokaliteti su takođe birani i prema dostupnim podacima o prijavljenim/sumnjivim slučajevima pseće lajšmanioze za period od 2006. do 2013. U toku istraživanja istraženi su i delovi Vojvodine (Bačka i Srem) u kojim predhodno nisu vršena nikakva entomološka istraživanja niti je bilo slučajeva lajšmanioze.

Na teritoriji Autonomne Pokrajine Vojvodine je u periodu od 2013. do 2015. godine istraženo ukupno 80 lokaliteta, pri čemu je 17 istraženo u 2013. godini, 24 u 2014. i 39 lokaliteta u 2015. Od 80 istraženih lokaliteta 17 je locirano u Sremu, 31 u Banatu a 32 u Bačkoj (Mapa 1).



Mapa 1. Mapa lokaliteta na kojima je vršen monitoring peščanih mušica na teritoriji Republike Srbije u periodu 2013-2016

- | | | |
|------------------------|--------------------------|------------------------|
| 1. Svetozar Miletić | 51. Miletićovo | 101. Beloševac |
| 2. Alekса Šantić | 52. Markovićevo | 102. Guberevac |
| 3. Ljutovo | 53. Sečanj | 103. Leskovac |
| 4. Đurdin | 54. Nova Crnja | 104. Vitanovac |
| 5. Sivac | 55. Bašaid | 105. Stubal |
| 6. Crvenka | 56. Banatsko Veliko Selo | 106. Podunavci |
| 7. Kula | 57. Mokrin | 107. Gornja Ratina |
| 8. Vrbas | 58. Banatski Monoštor | 108. Drakčići |
| 9. Ratkovo | 59. Martonš | 109. Progorelica |
| 10. Tovariševo | 60. Mali Pesak | 110. Bogutovačka banja |
| 11. Parage | 61. Horgoš | 111. Polumir |
| 12. Silbaš | 62. Bački Vinogradi | 112. Radošice |
| 13. Kulpin | 63. Hajdukovo | 113. Nosoljin |
| 14. Ravn Selo | 64. Šupljak | 114. Požežina |
| 15. Zmajevce | 65. Bećej | 115. Novi Pazar |
| 16. Stepanovićevo | 66. Melenci | 116. Sebečevo |
| 17. Kisač | 67. Aradac | 117. Sopoćani |
| 18. Adaševci | 68. Perlez | 118. Vučiniće |
| 19. Kukujevci | 69. Knićanin | 119. Belići |
| 20. Kuzmin | 70. Titel | 120. Pavlje |
| 21. Martinči | 71. Lok | 121. Gostun |
| 22. Lačarak | 72. Višovo | 122. Vinicka |
| 23. Ležimir | 73. Mošorin | 123. Osoje |
| 24. Divoš | 74. Sajkaš | 124. Sirogojno |
| 25. Erdevik | 75. Budisava | 125. Nikojevići |
| 26. Ljuba | 76. Kać | 126. Kačer |
| 27. Vizić | 77. Žabalj | 127. Stapari |
| 28. Lug | 78. Čenej | 128. Lunovo Selo |
| 29. Svilos | 79. Sirig | 129. Ribaševine |
| 30. Begeč | 80. Tornjoš | 130. Uzovnica |
| 31. Stara Pazova | 81. Mozgovo | 131. Crnča |
| 32. Golubinci | 82. Bovan | 132. Likodra |
| 33. Putinci | 83. Subotinac | 133. Krasava |
| 34. Ljukovo | 84. Kraljevo | 134. Mali Zvornik |
| 35. Indija | 85. Prugovac | 135. Banja Koviljača |
| 36. Opovo | 86. Arbanasce | |
| 37. Glogonj | 87. Jug Bogdanovac | |
| 38. Jabuka | 88. Brest | |
| 39. Kačarevo | 89. Šainovac | |
| 40. Banatsko Novo Selo | 90. Žitorade | |
| 41. Vladimirovci | 91. Alakince | |
| 42. Alibunar | 92. Masurica | |
| 43. Pančevo | 93. Suvojnica | |
| 44. Starčevo | 94. Kalabovce | |
| 45. Bantska Palanka | 95. Bačvište | |
| 46. Vračev Gaj | 96. Stubal | |
| 47. Kruščica | 97. Vrbovo | |
| 48. Straža | 98. Bogoševvo | |
| 49. Veliko Središte | 99. Trnava | |
| 50. Margita | 100. Lazac | |

Region istočne i jugoistočne Srbije

Region istočne i jugoistočne Srbije proteže se južno od Dunava sve do granice sa Makedonijom i Kosovom. Na istoku je ograničen Bugarskom a na zapadu rekom Moravom. Ovaj region je pretežno brdovit/planiinski sa razvijenim stočarstvom.

U periodu od 1947. do 1990. godine faunistički sastav peščanih mušica u ovom regionu detaljno je istraživan s obzirom na to da je najveći broj prijavljenih slučajeva lajšmanioze potekao upravo iz ovog regionala. U tom periodu registrovan je bogat faunistički sastav peščanih mušica sa ukupno 7 registrovanih vrsta: *P. papatasi*, *P. perfiliewi* s.l., *P. neglectus*, *P. tobbi*, *P. sergenti* s.l., *P. simici*, *P. balcanicus* (Simić and Živković 1948). Iako se smatra da je lajšmanioza iskorenjena bolest u našoj državi, novi autohtoni slučajevi su prijavljeni u bivšoj endemskoj oblasti (Dakić et al. 2009) ali i u neendemskoj oblasti (Dokmanović et al. 2012) ovog regionala. Iz tih razloga entomološki nadzor peščanih mušica u ovom regionu otpočeo je 2014. godine i trajao je do 2016.

U navedenom periodu istraženo je 18 lokaliteta smeštenih u bivšem endemskom području i potencijalnom endemskom području lajšmanioze. Kao osnovni pokazatelj za izbor lokaliteta korišćena je dostupna literatura. U toku 2014. godine istraživanja su vršena u bivšem endemskom oblastima lajšmanioze i papatačijeve groznice u Nišavskom i Topličkom okrugu (jugoistočna Srbija) kada je istraženo 9 lokaliteta. U toku 2015. godine glavni fokus istraživanja bio je južni deo Srbije u blizini granice sa Kosovom i Makedonijom – Pčinjski okrug (potencijalno zarište lajšmanioze). Tada je takođe istraženo 9 lokaliteta. Naredne, 2016. godine istraživanja su ponovljena na 2 lokaliteta na kojima je zabeležen najveći diverzitet peščanih mušica.

Region zapadne Srbije sa Šumadijom

Region zapadne Srbije sa Šumadijom proteže se južno od Save sve do granice sa Crnom Gorom i Kosovom. Na zapadu se graniči sa Bosnom i Hercegovinom a na istoku je ograničen rekom Moravom i njениm pritokama.

Ovaj region je u prošlosti jako slabo istraživan s obzirom da nije bilo prijavljenih slučajeva lajšmanioze. Na osnovu svega nekoliko publikovanih radova utvrđeno je prisustvo 6 vrsta peščanih mušica – *P. papatasi*, *P. neglectus*, *P. balcanicus*, *P. perfiliewi* s.l., *P. tobbi* i *P. simici* (Živković 1950). Cilj proširenja istraživanja na ovaj region bio je dobijanje preliminarnih podataka o eventualnoj promeni sastava faune, kao i dobijanje prvih informacija o prisutnim vrstama peščanih mušica u južnijim, dosada neistraživanim okruzima (Zlatiborski, Moravički, Raški). Detaljnija istraživanja sprovedena su u toku 2015. godine kada je istraženo ukupno 37 lokaliteta, dok su u toku 2016. istraživanja ponovljena na samo 1 lokalitetu na kojima je predhodno zabeležen najveći diverzitet peščanih mušica.

7.2. Metode uzorkovanja

Uzorkovanje peščanih mušica vršeno je uz pomoć nekoliko različitih tipova klopki. Najčešće korišćene klopke su svetlosne ili takozvane CDC klopke (proizvođač: John W. Hock Company) koje se širom sveta već duži niz godina uspešno primenjuju za prikupljanje peščanih mušica (Slike 26 i 27).



Slika 26. Standardna CDC klopka
(Foto: Slavica Vaselek)



Slika 27. Standardna CDC klopka
(Foto: Slavica Vaselek)

Pored standardnih CDC klopki, korišćene su i svetlosne klopke u kombinaciji sa ugljendioksidom u obliku suvog leda – IMT (Insect Monitoring Trap) klopke (Proizvođač: PeP di Jamal Wehbe) (Slika 28) kao i klopke dizajnirane i konstruisene od strane MSc Slavice Vaselek u okviru projekta „Diversity and spatial distribution of sandflies and pathogens they transmit (leismania, phleboviruses) in Vojvodina province (Serbia) - 13981-1 (Slika 29).



Slika 28. IMT klopka (Foto: Aleksandra Ignjatović Cupina)



Slika 29. CDC/CO₂ klopka (Foto: Slavica Vaselek)

Pored CDC klopki korišćene su i klopke bez svetla sa ugljendioksidom iz suvog leda (NS-2 tip klopke) (Slike 30 i 31), koje su u toku prethodnih godina uspešno korišćene za uzorkovanje hematofagnih insekata poput komaraca, simulida i kulikoida.



Slika 30. NS-2 tip klopke
(Foto: Slavica Vaselek)



Slika 31. NS-2 tip klopke
(Foto: Slavica Vaselek)

Biogents (BG) Sentinel klopke za komarce u kombinaciji sa ugljendioksidom (Slike 32 i 33) primenjivane su na manjem broju lokaliteta uglavnom u regionu južne i jugoistočne Srbije.



Slika 32. Biogents (BG) Sentinel klopka
(Foto: Slavica Vaselek)



Slika 33. Biogents (BG) Sentinel klopka
(Foto: Slavica Vaselek)

Pored primene različitih tipova usisnih klopki korišćene su i lepljive klopke (Slike 34 i 35) kao i asporatori (manuelni i električni).



Slika 34. Lepljive klopke
(Foto: Slavica Vaselek)



Slika 35. Lepljive klopke
(Foto: Slavica Vaselek)

Peščane mušice su hematofagni insekti koji se hrane krvlju različitih domaćina. Većina vrsta se hrani krvlju sisara uključujući i krv čoveka, dok je samo mali broj vrsta visoko specijalizovan za ishranu na samo jednoj vrsti domaćina. Kako bi se povećale šanse ulova klopke su postavljane kako unutar tako i izvan prostorija u kojima su boravile domaće životinje, živina ili ljudi. Od domaćih životinja najprisutnije su bile ovce, goveda, svinje, koze pa čak i zečevi. Od pernate živine najzastupljenije su bile kokoške, patke, guske, morke, čurke i ukrasni golubovi. Posebna pažnja posvećena je tome da psi kao domaćini od posebnog značaja budu prisutni na gotovo svim istraživanim lokalitetima.

CDC klopke bez ugljendioksida su najčešće postavljane unutar štala i obora gde životinje borave u toku noći kao i u unutrašnjosti kuća, dok su sve ostale klopke postavljane van prostorija, na otvorenom prostoru u blizini objekata. Svi tipovi usisnih klopki osim BG Sentinel su postavljane da prosečnu visinu od oko 1,5m od nivoa tla (Slike 26-31), dok su BG Sentinel klopke bile položene na tlu (Slike 32 i 33).

Vodeći računa na veliku osetljivost peščanih mušica na meteorološke uslove (visoke temperature, visoka vlažnost vazduha, padavine, jak vetar) klopke su postavljane na zaštićena mesta zaklonjena od jakog vetra i kiše. Kako bi se ispratila dinamika peščanih mušica klopke su aktivirane u popodnevnim satima (2-3 sata pre sumraka) i sakupljane narednog jutra ne dugo nakon svitanja (2-3 sata). Približno jednako vreme rada klopki je delimično obezbedeno praćenjem i poštovanjem istog redosleda prilikom postavljanja i sakupljanja klopki.

Lepljive klopke izrađivane su od belog papira dimenzija 20x30 cm koji je natapan komercijalnim ricinusovim uljem. Ove klopke postavljane su u pukotine kamenih zidova, šupljine drveća, na zidove koje okružuju kokošnjice i štale kao i na sva pogodna mesta za skrivanje peščanih mušica. Aspiratori su korišćeni za prikupljanje uzoraka sa zidova štala, obora i drugih objekata.

7.3. Metode obrade i pripreme uzorka za laboratorijski rad

U zavisnosti od tipa istraživanja (virusološka/parazitološka/morfološka/Maldi-Tof) razlikovao se i način manipulacije uzorcima nakon prikupljanja mrežica. U slučaju virusoloških ispitivanja, odmah nakon sakupljanja klopki mrežice sa uzorcima su stavljane na suvi led kako ne bi došlo do narušavanja

DNK/RNK strukture usled visokih temperatura na terenu. Po dolasku u laboratoriju uzorci su razvrstavani na suvom ledu, pakovani u mikrotube bez konzervansa, propisno obeležavani i čuvani na -80C do vršenja analiza. U slučaju testiranja na prisustvo *Leishmania sp.* kao i za morfološka ispitivanja, uzorci su nakon usmrćivanja u suvom ledu direktno prebacivanui u 96% etanol i skladišteni u frižideru. Za ispitivanja proteinskog spektra MaldiTof metodom prikupljeni su živi uzorci koji su prebacivani u 80% etanol i skladišteni u frižideru do analiza.

7.4. Morfološka identifikacija uzorka

Morfološka identifikacija prikupljenih primeraka vršena je u Laboratoriji za Medicinsku i Veterinarsku Entomologiju na Poljoprivrednom fakultetu, Univerziteta u Novom Sadu kao i u Laboratoriji za istraživanje ekologije vektora na Biološkom departmanu Fakulteta prirodnih nauka, Hacettepe Univerziteta u Ankari, Turska.

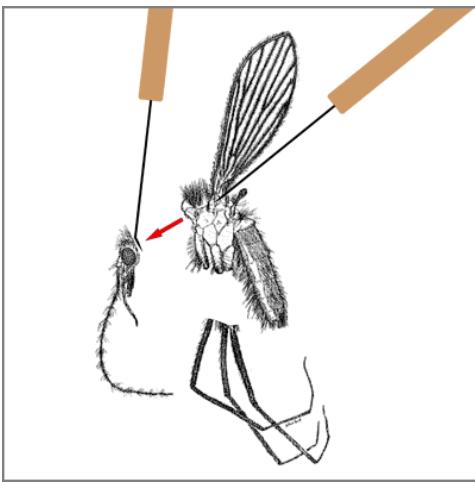
Prilikom morfološke identifikacije sakupljenih peščanih mušica rađena je disekcija svake jedinke i tom prilikom su odstranjeni i analizirani terminalni segmenti abdomena koji nose reproduktivne organe kao i glava u celosti. Ostatak tela bio je pakovan u adekvatno obeleženu mikrotubu i skladišten u zamrzivaču do vršenja molekularnih analiza. Morfološka identifikacija zasnivala se na karakterima glave (izgled cibarijuma i farinksa) i reproduktivnih organa. Prilikom morfološke identifikacije korišćeni su ključevi Theodor (1948), Artemiev (1980), Lewis (1982), Killick-Kendrick et al. (1991).

7.4.1. Disekcija i priprema trajnih preparata

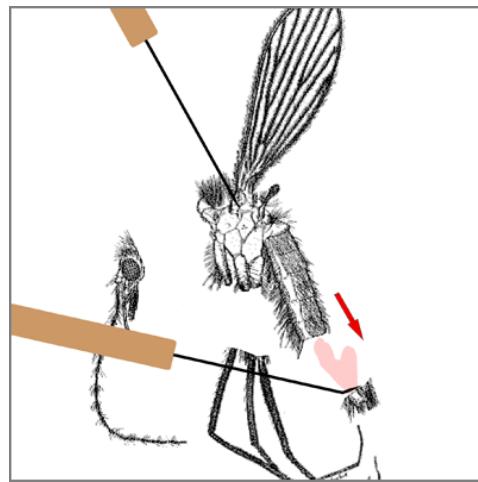
Morfološki posmatrano sve peščane mušice su na prvi pogled veoma slične, i jedina golim ukom uočljiva razlika je između polova. Za preciznu identifikaciju peščanih mušica do nivoa vrste uz pomoć morfoloških karaktera neophodno je izvršiti disekciju i od disekovanih delova pripremiti trajne preparate.

Disekcija podrazumeva odstranjanje terminalnih segmenata abdomena kao i glave u celosti. Čitav proces disekcije i pravljenja trajnih prpararata obavlja se pod binokularnom lupom radi bolje vidljivosti.

Disekcija se vrši na čistoj i sterilnoj predmetnici uz pomoć entomoloških igli. Entomološke igle se pre disekcije svakog pojedinačnog primerka moraju sterilisati nad plamenom ili uranjanjem u alkohol kako ne bi došlo do kontaminacije uzorka ukoliko se radi testiranje na prisustvo patogena. U zavisnosti od tipa istraživanja koji se sprovodi, disekcija se može raditi u kapi alkohola, fiziološkog rastvora ili bez medijuma. Za virusološka testiranja neophodno je da se očuva hladni lanac te se uzorci disekuju na hladnoj površini, sterilnim iglama bez prisustva medijuma. Za morfološka i molekularna testiranja uzorci se ne moraju disekovati na hladnoj površini a disekcija se obavlja u medijumu (alkohol, fiziološki rastvor). Nakon disekcije glave (Šema 24) i vršnog dela abdomena (Šema 25) ostatak tela se sterilisanom pincetom prebacuje u propisno obeleženu mikrotubu sa alkoholom (ili bez alkohola ukoliko se rade virusološka istraživanja) koji se potom odlaže se u frižider.



Šema 24. Disekcija glave
(Izvor: <http://www.wrbu.org>)

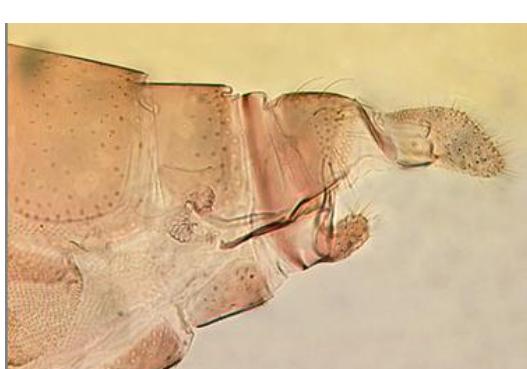


Šema 25. Disekcija vršnog dela abdomena
(Izvor: <http://www.wrbu.org>)

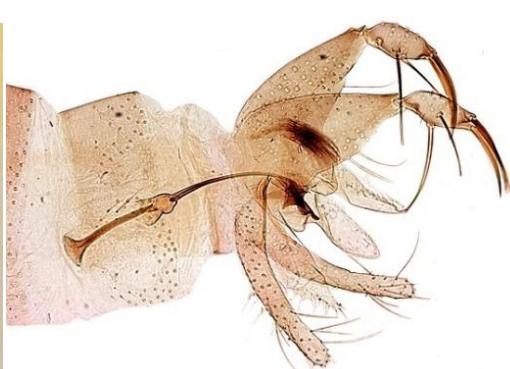
Nakon disekcije glave i abdomena neophodno je pokupiti višak medijuma uz pomoć papirnog ubrusa vodeći pritom računa da disekovani delovi tela ne ostanu potpuno suvi jer će to dovesti do obrazovanja vazdušnih mehurića u preparatu koji sprečavaju vidljivost morfoloških struktura neophodnih za identifikaciju. Nakon uklanjanja medijuma na predmetnicu sa uzorkom se dodaje kap Marc-Andre rastvora (Prilog 1) koji na visokim temperaturama ima funkciju prosvetljavanja hitinskog egzoskeleta. Kap rastvora se pažljivo zagreva na plamenu gotovo do tačke ključanja prilikom čega opet treba obratiti pažnju da disekovani delovi primerka ne ostanu van rastvora. Višak Marc-Andre rastvora koji nije ispario prilikom zagrevanja se odstranjuje papirnim ubrusom nakon čega se dodaje kap SWAN fiksativa (Prilog 2). Fiksativ je nešto gušće konzistencije i omogućava lako nameštanje disekovanih delova u najoptimalniji položaj. Glava se okreće tako da oči i antena koje u velikoj meri smanjuju vidljivost struktura neophodnih za identifikaciju budu okrenute ka dole (Slika 36), dok se terminalni segmenti abdomena okreću tako da se mogu posmatrati iz lateralne vizije (Slike 37 i 38). Nakon nameštanja disekovanih delova spušta se pokrovno staklo i vrhom pincete pažljivo se vrše poslednja podešavanja položaja.



Slika 36. Pravilan položaj glave (Izvor: <http://www.wrbu.org>)



Slika 37. Pravilan položaj abdomena zenke
(Izvor: <http://www.wrbu.org>)

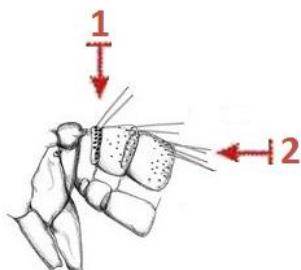


Slika 38. Pravilan položaj abdomena muzjaka
(Izvor: <http://www.wrbu.org>)

7.4.2. Identifikacija do nivoa roda

Za identifikaciju peščanih mušica do nivoa roda bez vršenja disekcije može se posmatrati nekoliko karaktera: veličina i obojenost tela, „nakostrešenost“ dlačica na abdomenu, volumen abdomena, oblik krila kao i položaj trnova na stilopoditima kod mužjaka.

Većina vrsta iz roda *Sergentomyia* su sitnije građe (3-4 mm) sa dlačicama tamnije pigmentacije nego predstavnici roda *Phlebotomus*. Kod vrsta iz roda *Sergentomyia* na prvom tergitu abdomena mogu se uočiti velike okruglaste pore iz kojih polaze izdignite dlake, dok teriti 2-6 imaju pore u obliku suze iz kojih polaze dlake koje nisu izdignite (Šema 26). Vrste iz roda *Phlebotomus* na teritim abdomena od 1 do 6 segmenta nose velike okruglaste pore iz kojih polaze izdignite dlake koje im daju „nakostrešen“ izgled (Šema 27). Abdomen *Sergentomyia* (Slika 39) je mnogo volumenozniji nego abdomen kod *Phlebotomus* (Slika 41). Krila kod vrsta iz roda *Sergentomyia* su uzana i kopljasta, dok su krila kod roda *Phlebotomus* u poređenju sa njima mnogo šira. Mužjaci *Sergentomyia* se mogu lako razlikovati od mužjaka *Phlebotomus*-a po tome što na samom vrhu stilopodita uvek nose samo 4 trna (Slika 40) dok predstavnici *Phlebotomus* imaju 4 ili 5 trnova raspoređenih duž čitavog stilopodita (Slika 42).



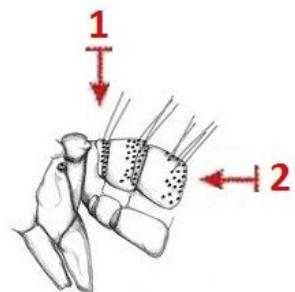
Slika 26. Položaj dlačica na I abdominalnom segmentu (1); ostalim segmentima abdomena (2) kod *Sergentomyia* sp.
(Izvor: <http://www.wrbu.org>)



Slika 39. *Sergentomyia* sp.
(Izvor:
<http://www.wrbu.org>)



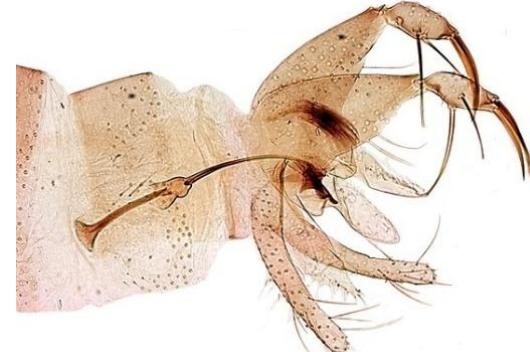
Slika 40. Izgled spoljašnjih i unutrašnjih genitalija mužjaka *Sergentomyia* sp. (Izvor: Leger N.)



Slika 27. Položaj dlačica na I abdominalnom segmentu (1); ostalim segmentima abdomena (2) abdomenu kod *Phlebotomus* sp.
(Izvor: <http://www.wrbu.org>)



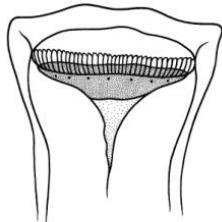
Slika 41. *Phlebotomus* sp.
(Izvor:
<http://www.wrbu.org>)



Slika 42. Izgled spoljašnjih i unutrašnjih genitalija mužjaka *Phlebotomus* sp. (Izvor: Leger N.)

Izgled krila, veličina i pigmentisanost tela nisu pouzdani karakteri koji se mogu koristiti za preciznu identifikaciju i oni se najčešće koriste samo kao orijentacioni pokazatelji prilikom razvrstavanja uzoraka. Za preciznu identifikaciju ipak je neophodno izvršiti disekciju.

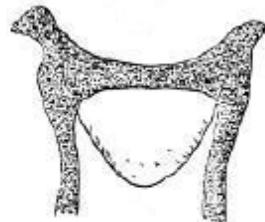
Precizna identifikacija do nivoa roda prilikom disekcije može se izvršiti i samo na osnovu posmatranja karaktera glave i to pre svega cibarijuma. Cibarijum kod *Sergentomyia* poseduje pigmentisanu traku i mnogobrojne jako sklerotizovane zupce (Šema 28; slika 43), dok su ovi karakteri kod *Phlebotomus*-a odsutni (Šema 29; slika 44).



Šema 28. Cibarijum kod
Sergentomyia sp.
(Izvor:
<http://www.wrbu.org>)



Slika 43. Cibarijum kod
Sergentomyia sp. (crvena strelica –
zupci na cibarijumu)
(Izvor: <http://www.wrbu.org>)



Šema 29. Cibarijum kod
Phlebotomus sp.
(Izvor:
<http://www.wrbu.org>)



Slika 44. Cibarijum kod
Phlebotomus sp. (crvena
strelica – odsustvo zubaca
na cibarijumu)
(Izvor:
<http://www.wrbu.org>)

Karakteri za identifikaciju do nivoa roda prikazani su u Tabeli 1.

Karakter	<i>Sergentomyia</i>	<i>Phlebotomus</i>
Veličina tela	3-4 mm	4-5 mm
Obojenost tela	Tamno braon-mrka	Svetlige nijanse braon
Izgled krila	Izdužena i kopljasta	Pri bazi uža, pri vrhu se šire
Zupci na cibarijumu	Prisutni	Odsutni
Pigmentisana traka na cibarijumu	Prisutna	Odsutna
Broj trnova na stilopoditu	4	5
Položaj trnova na stilopoditu	Na terminalnom kraju	Po čitavom članku

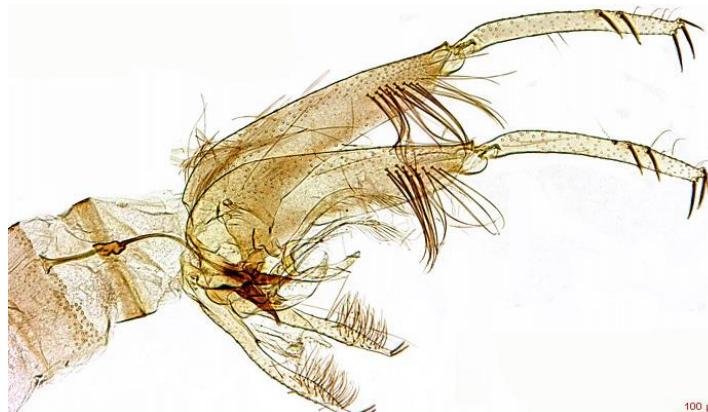
Tabela 1. Karakteri za identifikaciju peščanih mušica do nivoa roda

7.4.3. Identifikacija do nivoa podroda

Podrod *Phlebotomus Rondani & Berté, 1840*

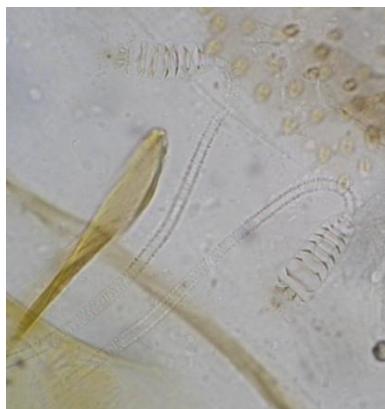
Mužjaci ovog podroda imaju dugačke cilindrične koksopodite. U drugoj polovini koksopodita može se uoštiti grupacija dugih dlaka. Stiliopoditi su duplo tanji i gotovo jednake dužine kao koksopoditi. Stiliopoditi nose 5 kratkih trnova od kojih su tri smeštena na samom vrhu članka a dva su u

njihovoj blizini. Paramere su gusto obrasle dlakama. *Syrstules* na svom terminalnom kraju nose dva kraća trna. Edeagusi su sličnog izgleda kod većine vrsta ovog podroda i uglavnom su kratki (Slika 45).



Slika 45. Spoljašnje i unutrašnje genitalije mužjaka iz podroda *Phlebotomus* (vrsta *P. papatasi*)
(Izvor: <http://bioinfo-web.mpl.ird.fr>)

Spermateke su tipske građe karakteristične za podred. Čine ih slabo sklerotizovane ali uglavnom jasno uočljive baze koje su najčešće zvonastog oblika. Na njih se nastavljaju dugački slabo segmentisani spermatekalni duktovi. Komora spermateke je jasno segmentisana, valjkastog oblika. Kratak vrat je ne uočljiv te sa komore spermateke izviruje krupna glava sa mnogobrojnim žlezdama (Slike 46-48).



Slika 46. Izgled spermateka kod podroda *Phlebotomus* (vrsta *P. papatasi*)
(Foto: Slavica Vaselek)



Slika 47. Izgled spermateka kod podroda *Phlebotomus* (vrsta *P. duboscqui*) (Izvor: <http://bioinfo-web.mpl.ird.fr>)

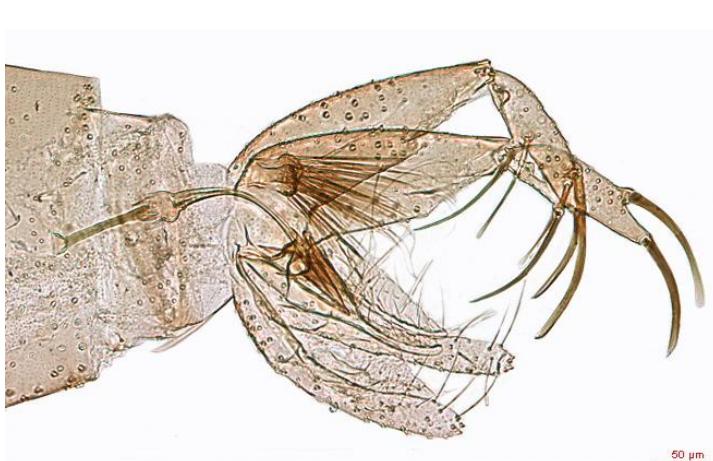


Slika 48. Izgled spermateka kod podroda *Phlebotomus* (vrsta *P. bergeroti*) (Izvor: <http://bioinfo-web.mpl.ird.fr>)

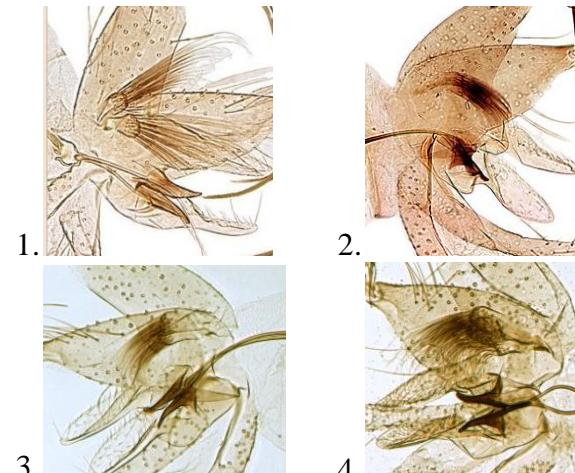
Podrod *Paraphlebotomus* Theodor, 1948

Kod mužjaka ovog podroda karakteristično je prisustvo dodatnog izraštaja na koksopoditima koji se nazivaju lobusi i koji su na svom vrhu gusto obrasli dlačicama. Oblik i veličina lobusa su od taksonomskog značaja (Slika 50). Pored toga, karakteristično je da mužjaci na stilopoditu nose samo 4 trna slično kao predstavnici roda *Sergentomyia*. Kod roda *Sergentomyia* svi trnovi su smešteni na vrhu stilopodita dok su kod predstavnika *Paraphlebotomus* uglavnom 2 trna locirana na terminalnom delu

stilopodita a ostali duž članka. Stilopoditi *Paraphlebotomus* su upola kraći od koksopodita i dosta volumenozni. Paramere su jednostavne građe, dosta krupne. Edeagus može biti različitog izgleda u zavisnosti od vrste, uglavnom su kratki (Slika 49).



Slika 49. Spoljašnje i unutrašnje genitalije mužjaka iz podroda *Paraphlebotomus* (vrsta *P. alexandri*)
(Izvor: <http://bioinfo-web.mpl.ird.fr>)



Slika 50. Izgled lobova na koksopoditim mužjaka iz podroda *Paraphlebotomus*; 1. *P. alexandri*; 2. *P. sergenti* s.l.; 3. *P. similis*; 4. *P. caucasicus*
(Izvor: <http://bioinfo-web.mpl.ird.fr>)

Spermateke su slične građe kao kod podroda *Phlebotomus*. U poređenju sa njima komore spermateke imaju manji broj prstenova i jasno se uočava da je poslednji segment znatno veći nego ostali segmenti. Vrat nije uočljiv i sa vrha komore izviruje samo glava obavijena poslednjim uvećanim segmentom komore (Slike 51-53).



Slika 51. Izgled spermateka kod podroda *Paraphlebotomus* (vrsta *P. alexandri*) (Izvor: <http://bioinfo-web.mpl.ird.fr>)



Slika 52. Izgled spermateka kod podroda *Paraphlebotomus* (vrsta *P. sergenti* s.l.)
(Izvor: <http://bioinfo-web.mpl.ird.fr>)

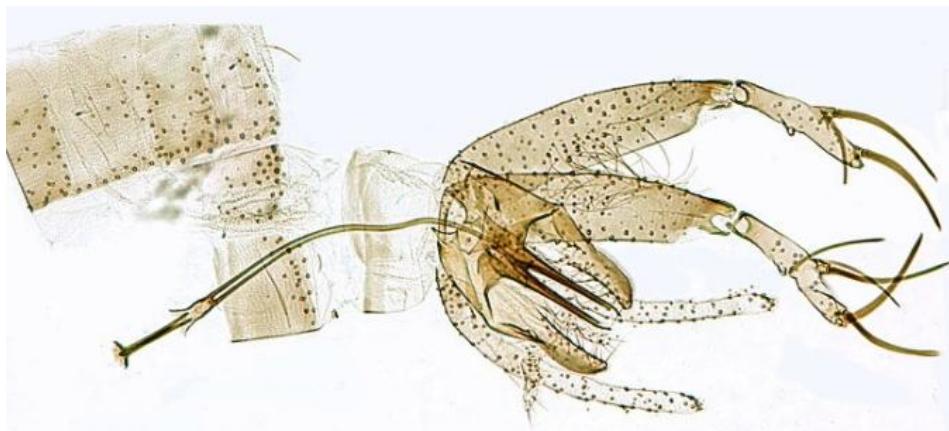


Slika 53. Izgled spermateka kod podroda *Paraphlebotomus* (vrsta *P. similis*) (Izvor: <http://bioinfo-web.mpl.ird.fr>)

Podrod *Larroussius* Nitzulescu, 1931

Za barem 12 vrsta se sumnja ili je potvrđeno da su vektori lajšmanioze. Vrste iz ovog podroda se najčešće mogu naći u Palearktičkom regionu gde su zastupljene sa velikim brojem vrsta u istom području.

Kod mužjaka podroda *Larroussius* prisutni su jaki koksopoditi na kojima se uočavaju čuperci dugačkih dlaka skoncentrisani pri sredini članka. Na koksopodite nastavljaju se skoro upola kraći i volumenozni stilopoditi sa pet dugačkih trnova. Paramere su relativno dugačke jednostavne građe i gusto obrasle dlakama. Od genitalne pumpe polaze filamente koji su 3-5 puta duži od genitalne pumpe. Edeagusi su u zavisnosti od vrste različitog oblika i veličine, u većini slučajeva su dosta dugački (Slika 54).



Slika 54. Spoljašnje i unutrašnje genitalije mužjaka iz podroda *Larroussius* (vrsta *P. orientalis*)
(Izvor: <http://bioinfo-web.mpl.ird.fr>)

Ženke iz podroda *Larroussius* je dosta teško precizno identifikovati do nivoa vrste pošto spermateke imaju tipsku građu karakterističnu za podrod sa veoma malo varijacija. Spermateke su građene iz veoma dobro segmentisane komore koja uglavnom ima veći broj prstenova i na koju se nastavlja dugačak vrat koji na vrhu nosi loptastu glavicu sa mnogobrojnim žlezdanim ćelijama. Spermatekalni duktovi su jače ili slabije segmentisani retko glatke strukture. Baze spermateke kod vrsta ovog podroda su različitog oblika, i predstavljaju najznačajniji taksonomski karakter. Uglavnom su slabo sklerotizovane i dosta teško uočljive na preparatu (Šema 30; slike 55 i 56).

Na osnovu oblika baze spermateke podrod *Larroussius* se može podeliti u četiri grupe:

- Baza spermateke je u obliku zvona tj. okrenute čaše od šampanjca (*P. tobbi*, *P. wui*, *P. guggishbergi*, *P. aculeata*)
- Baza spermateke ima lateralne izraštaje je lateralno proširena (*P. perniciosus*, *P. pedifer*, *P. longicuspis*, *P. perfiliwei*, *P. galilaeus*)
- Baza spermateke je srasla i postoji zajednički kanal (*P. neglectus*, *P. syriacus*)
- Baza spermateke ima distalno proširenje (*P. ariasi*, *P. orientalis*)

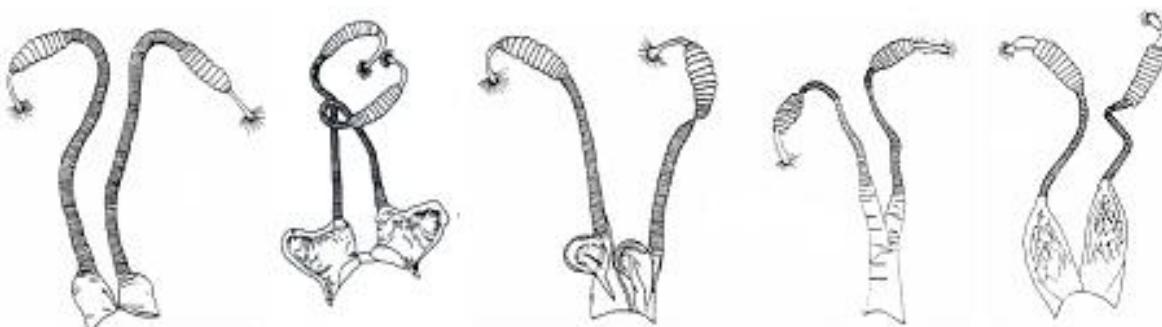
Vrste koje pripadaju pojedinim grupama međusobno se razlikuju po broju prstenova na spermatekama, dužini duktova, lumenu duktova...



Slika 55. Izgled spermateka kod podroda *Larroussius* (vrsta *P. orientalis*) (Izvor: <http://bioinfo-web.mpl.ird.fr>)



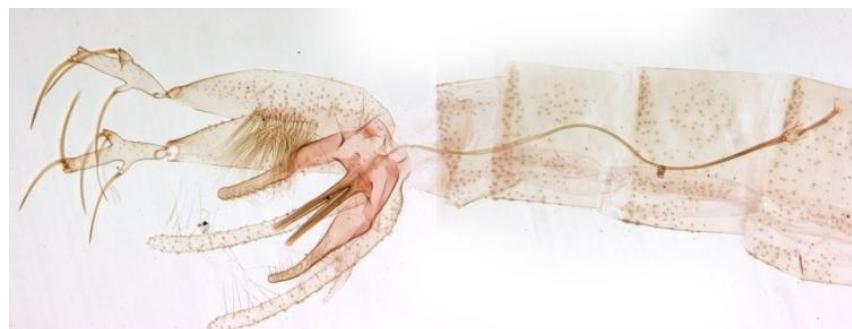
Slika 56. Izgled spermateka kod podroda *Larroussius* (vrsta *P. perniciosus*) (Izvor: <http://bioinfo-web.mpl.ird.fr>)



Šema 30. Izgled spermateka kod različitih vrsta podroda *Larroussius* (vrste: *P. tobbi*, *P. perfiliewi* s.l., *P. perniciosus*, *P. neglectus*, *P. ariasi*) (Izvor: Killick-Kendrick R.)

Podrod *Adlerius* Nitzulescu, 1931

Vrste iz podroda *Adlerius* je ubedljivo najteže identifikovati. Izgled spoljašnjih genitalija mužjaka *Adlerius*-a veoma podseća na predstavnike podroda *Larroussius*. Dlake na koksopoditim su grupisane sa unutrašnje strane ali nisu na lobovima. Koksopoditi su dosta dugački i jaki i njih se nastavljaju relativno dugački i volumenozni stilopoditi sa pet dugačkih trnova. Paramere su relativno dugačke jednostavne građe i gusto obrasle dlakama. Od genitalne pumpe polaze filamente koji su 6-11 puta duži od genitalne pumpe. Edeagusi su u zavisnosti od vrste različitog oblika i veličine, u većini slučajeva su dosta dugački (Slika 57).



Slika 57. Spoljašnje i unutrašnje genitalije mužjaka iz podroda *Adlerius* (vrsta *P. balcanicus*) (Izvor: <http://bioinfo-web.mpl.ird.fr>)

Iako su ženke podroda *Adlerius* su morfološki veoma slične mogu se lako determinisati do nivoa podroda zahvaljujući specifičnoj građi spermateka. Međutim, identifikacija ženki do nivoa vrste na osnovu morfoloških karaktera reproduktivnih organa je dosta subjektivna i u velikoj meri zavisi od kvaliteta trajnog preparata i iskustva posmatrača. Spermateke ženki iz ovog podroda su veoma slabo sklerotizovane i teško se uočavaju na trajnim preparatima pogotovo onim koji su dobro prosvetljeni ili malo stariji. Baza spermateke je gotovo uvek prozirna i izuzetno teško uočljiva. Spermekalni duktovi su slabo segmentisani često gotovo glatki. Pri kraju duktla dolazi do njegovog proširivanja i prelazak u spermekalnu komoru koja nije jasno odvojena. Komora spermateke podseća na jednostavno proširenje spermekalnog duktla, neravnomerne i nepotpune segmentacije. Pri svom vrhu komora se sužava u uglavnom kratak i ne izdiferenciran vrat koji na svom vrhu nosi veoma sitnu glavu. S obzirom na veliku sličnost u izgledu spermateka kao mnogo precizniji karakter koristi se izgled faringealne armature (Slike 58 i 59). Najdetaljniji i najprecizniji ključ za identifikaciju vrsta iz podroda *Adlerius* dao je Artemiev (1980) koji se i danas koristi.



Slika 58. Izgled spermateka kod podroda *Adlerius* (vrsta *P. simici*) (Izvor: <http://bioinfo-web.mpl.ird.fr>)



Slika 59. Izgled spermateka kod podroda *Adlerius* (vrsta *P. arabicus*) (Izvor: <http://bioinfo-web.mpl.ird.fr>)

Podrod *Transphlebotomus* Artemiev & Neronov, 1984

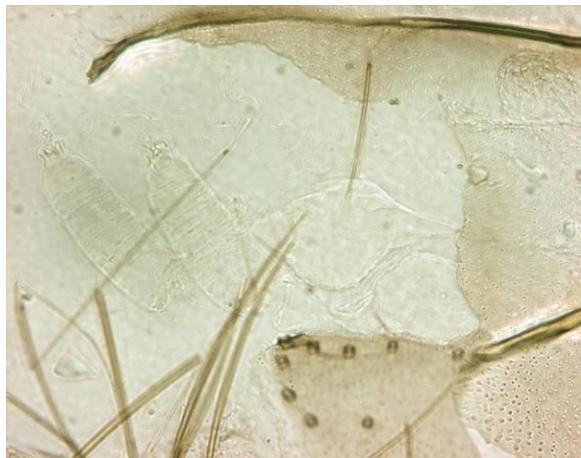
Vrste ovog podroda pokazuju izuzetnu morfološku sličnost i većina naučnika podržava mišljenje da je identifikacija moguća samo na osnovu molekularnih analiza.

Mužjaci imaju veoma jednostavnu građu spoljnih genitalija. Koksiti su dugački i prema terminalnom kraju se sužavaju. Stilopoditi su upola kraći, nose 5 trnova raspoređenih na 3 izraštaja (Slika 60). Paramere, syrstules i edeagusi su jednostavne građe bez dodatnih izraštaja.



Slika 60. Spoljašnje i unutrašnje genitalije mužjaka iz podroda *Transphlebotomus* (vrsta *P. cananticus*)
(Izvor: <http://bioinfo-web.mpl.ird.fr>)

Ženke imaju karakterističan izgled spermateka što im omogućava veoma lako razlikovanje od ostalih podrobova. Spermatekalni duktovi su veoma široki. Komora spermateke nije jasno izdiferencirana i predstavlja kesasto proširenje dukta. Može biti u blago segmentisana ili glatka. Na svom vrhu nosi žlezdanu glavu. Po svojoj građi najviše podseća na spermateke kod roda *Sergentomyia* (Slike 61 i 62).



Slika 61. Izgled spermateka kod podroda *Transphlebotomus* (vrsta *P. mascittii*) (Izvor: Leger N.)



Slika 62. Izgled spermateka kod podroda *Transphlebotomus* (vrsta *P. economidesi*)
(Izvor: Leger N.)

Podrod *Sergentomyia* Franca & Parrot, 1920

Mužjaci roda *Sergentomyia* se lako mogu razlikovati od mužjaka roda *Phlebotomus* po tome što na stilopoditu nose samo 4 trna. Trnovi su kod *Sergentomyia* uvek pozicionirani na samom vrhu segmenta, dok se kod podroda *Paraphlebotomus* dva trna nalaze na vrhu a dva duž stilopodita. Koksopoditi ne nose specijalne izraštaje a dlake su najčešće raspoređene duž čitavog segmenta. U zavisnosti od vrste, razlikuje se oblik i veličina edeagusa, paramera i syrstules (Slika 63).



Slika 63. Spoljašnje i unutrašnje genitalije mužjaka iz podroda *Sergentomyia* (vrsta *S. minuta*)
(Izvor: Leger N.)

Spermateke kod podroda *Sergentomyia* su slabije segmentisane nego kod roda *Phlebotomus* i često se ne mogu jasno uočiti razlike i prelazi između vrata i komore. Segmentacija komora uglavnom nije prisutna ili je slabo uočljiva. Same spermateke su mnogo tanjeg i mekšeg zida što ih čini dosta prozirnim. Na terminalnom kraju spermateke smeštena je glavica sa mnogobrojnim žlezdanim epitelijalnim ćelijama. Izgled žlezdane glavice je izuzetno značajan taksonomski karakter pošto je to često jedini deo spermateke koji se može uočiti na preparatu (Slike 64-67).



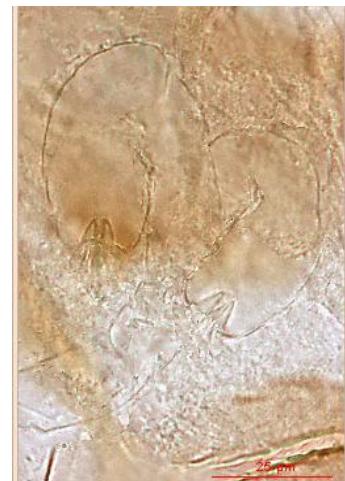
Slika 64. Izgled spermateka kod podroda *Sergentomyia* (vrsta *S. davidsoni*)
(Izvor: <http://bioinfo-web.mpl.ird.fr>)



Slika 65. Izgled spermateka kod podroda *Sergentomyia* (vrsta *S. congolensis*)
(Izvor: <http://bioinfo-web.mpl.ird.fr>)



Slika 66. Izgled spermateka kod podroda *Sergentomyia* (vrsta *S. fallax*)
(Izvor: <http://bioinfo-web.mpl.ird.fr>)



Slika 67. Izgled spermateka kod podroda *Sergentomyia* (vrsta *S. antenatal*)
(Izvor: <http://bioinfo-web.mpl.ird.fr>)

7.4.4. Morfološki karakteri neophodni za identifikaciju do nivoa vrste

Za preciznu identifikaciju peščanih mušica do nivoa vrste posmatra se veliki broj karaktera. Određeni karakter npr. edeagus može imati veoma sličan izgled kod vrsta u okviru istog podroda ali i

različitih podrođova. Ponekad izgled karaktera može da varira i u okviru jedne iste vrste, te je zbog toga prilikom identifikacije neophodno kombinovati više različitih karaktera.

Mužjaci se mogu uspešno identifikovati samo na osnovu pregleda spoljašnjih genitalija čija se struktura lako uočava pod mikroskopom, dok se za identifikaciju ženki obavezno pored karaktera reproduktivnih organa koristite i određeni karakteri glave, te je s toga i njihova identifikacija znatno teža.

Karakteri glave neophodni za identifikaciju:

- Antene – antenalna formula, raspored askoida i čulnih dlaka...
- Usni aparat – dužina, širina i izgled pojedinačnih delova, nazubljenost stileta, palpalna formula, broj Newsted-ovih organa. ...
- Cibarium – prisustvo/odsustvo pigmentisane trake, oblik, veličina i raspored zubača...
- Farinks – oblik, dužina i širina farinksa kao i faringealne armature.

Karakteri reproduktivnih organa ženki bitni za identifikaciju:

- Baza spermateke – oblik, veličina, dodatni izraštaji, da li su baze srasle ili nisu...
- Spermekalni kanali – dužina, prečnik, segmentisanost...
- Komora spermateke – građa, veličina, segmentacija...

Karakteri reproduktivnih organa mužjaka bitni za identifikaciju:

- Dužina pojedinih članaka spoljnih genitalija (kokse, paramera, edeagusa...)
- Dužina genitalnih filamenata i genitalne pumpe
- Raspored dlaka po spoljnim genitalijama (prisustvo/odsustvo lobova)
- Edeagus (dimenzije i izgled)
- Broj, veličina i raspored trnova na pojedinim člancima

7.4.5. Problemi koji utiču na morfološku identifikaciju

Disekcija i pravljenje trajnih preparata predstavljaju prvi i najvažniji korak u laboratorijskoj obradi materijala. Ukoliko disekcija nije obavljena prema gore navedenim pravilima i procedurama i ukoliko nisu ispoštovana pravila sterilizacije može doći do konatminacije uzorka, do pogrešne identifikacije ili nemogućnosti identifikacije jedinke uz pomoć morfoloških karaktera.

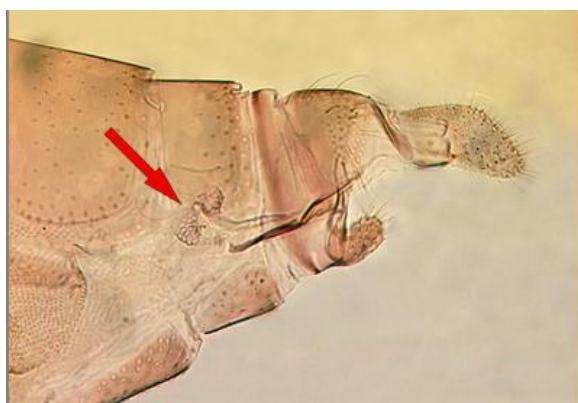
Prilikom pravljenja trajnih preparata neophodno je voditi računa pre svega 1) da se disekcija pravilno obavi tj. da prilikom odstranjuvanja terminalnih segmenata ženke ne dođe do presecanja reproduktivnih organa; 2) da ne dođe do isušivanja disekovanih delova pošto mehurići vazduha u preparatu sprečavaju vidljivost struktura neophodnih za identifikaciju; 3) da se disekovani delovi postave u najoptimalniji položaj koji će omogućiti maksimalnu preglednost unutrašnjih struktura.

Najveći problem svakako predstavlja nameštanje disekovanih delova kako kod mužjaka – spoljašnje genitalije se upletu ili preklapaju (Slike 70 i 71), tako i kod ženki – spermateke nisu uočljive ili su pokidane (Slike 68 i 69).

Identifikacija uzorka uz pomoć morfoloških karaktera često nije moguća. Do ovoga najčeće dolazi usled:

- oštećenja uzorka prilikom uzorkovanja (ventilator klopke, isušivanje uzorka usled dugog stajanja u mrežicama, ne adekvatnog pakovanja i transporta)

- loše disekcije (spermateke su presečene, glava je polomljena...)
- loše pripreme preparata (uzorci nisu dovoljno prosvetljeni, preparat je previše stisnut prilikom pripreme, organi su pokidani, spoljašnje genitalije mužjaka nisu u dobrom položaju – preklapaju se...).



Slika 68. Dobro pripremljen preparat ženke
(Izvor: <http://www.wrbu.org>)



Slika 69. Loše pripremljen preparat ženke
(Izvor: <http://www.wrbu.org>)



Slika 70. Dobro pripremljen preparat mužjaka
(Foto: Slavica Vaselek)



Slika 71. Loše pripremljen preparat mužjaka
(Foto: Slavica Vaselek)

7.5. Molekularne metode za identifikaciju uzorka

Morfološki posmatrano peščane mušice su na prvi pogled gotovo identične. Jedina golim okom uočljiva razlika je između polova. Za identifikaciju peščanih mušica neophodno je uraditi disekciju i pripremiti trajne preparate sa kojih se potom posmatra građa i izgled reproduktivnog sistema. Međutim, u određenim situacijama gotovo je ne moguće odrediti vrstu samo na osnovu morfoloških karaktera. U protekloj deceniji intenzivirala se upotreba molekularnih metoda, pre svega DNK barkodinga u svrhe precizne identifikacije vrsta i određivanja taksonomske pripadnosti. Ova metoda pokazala se kao izuzetno efikasna prilikom identifikacije kako peščanih mušica tako i mnogobrojnih drugih hematofagnih insekata poput komaraca, simulida...

Svi uzorci prikupljeni u toku 4 godine istraživanja koji su bili oštećeni prilikom hvatanja, disekcije ili pripreme preparata ili pak nisu mogli biti precizno identifikovani do nivoa vrste uz pomoć morfoloških karaktera su molekularno analizirani. Molekularna identifikacija vrsta vršena je u

Laboratoriji za istraživanje ekologije vektora na Biološkom departmanu Fakulteta prirodnih nauka, Hacettepe Univerziteta u Ankari, Turska kao i na odeljenju za istraživanje patologije virusa na Medicinskom Fakultetu u Marseju, Francuska.

Svi uzorci bili su konzervirani u alkoholu i držani u zamrzivaču te je pre početka analiza uklonjen višak alkohola i uzorci su ostavljeni 30 minuta na sobnoj temperaturi da ostatak alkohola ispari. Uzorci su homogenizovani uz pomoć Mixer Mill MM300 (Qiagen, Courtaboeuf) mašine i bufera za lizu (Qiagen) nakon čega je 200 μ l homogenata iskorišćeno za DNK/RNK ekstrakciju koja je vršena uz pomoć QIAGEN QiaCube robota. Nakon DNK/RNK ekstrakcije pripremljeni su PCR DreamTag miksevi sa odgovarajućim prajmerima koji bi ciljali region citohrom-b i citohrom-c oksidaze I mitohondrijalnog gena. Totalni volumen PCR uzorka iznosio je 50 μ l (izolovana DNA/RNA – 3 μ l, Dream Taq pufer – 5 μ l, dNTP 10mM – 1 μ l, Prajmer Forward 10 μ M – 2 μ l, Prajmer Reverse 10 μ M – 2 μ l, Dream Taq DNK polimeraza – 0,25 μ l, voda 36,75 μ l). Za amplifikaciju citohroma-b korišćeni su prajmeri CB1-SE (5'-TATGTACTACCCTGAGGACAAATATC-3'); CB-R06 (5'-TAT CTAATGGTTCAAAACA ATTGC-3') (Esseghir et al. 2000, Parvizi et al. 2010). Za amplifikaciju COI korišćeni su prajmeri LCO 1490 (5'-GGTCAACAAATCATAAAGATATTGG-3'); HCO 2198 (5'-TAAACTTCAGGGTGACCA AAAAATC A-3') (Folmer et al. 1994, Nzelu et al. 2015).

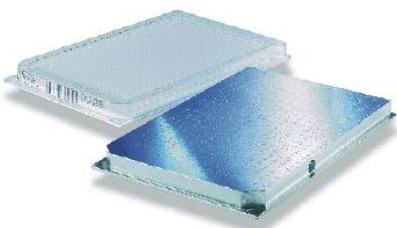
Nakon inicijalnog procesa denaturacije koji se odigrava na 95°C u toku 5 minuta započet je proces amplifikacije koji je tekao u 35 ciklusa. Prvi korak amplifikacije podrazumeva denaturaciju na 95°C u toku 30 sekundi, nakon čega sledi proces vezivanja enzima polimeraze (annealing) na 50°C u toku 30 sekundi, zatim se nastavlja proces elongacije na 72°C u toku 40 sekundi. Proces finalne elongacije se obavlja na 72°C u periodu od 10 minuta.

Rezultati PCR su nakon elektroforeze posmatrani na 2 % agaroznom gelu pod UV svetлом. Pozitivni PCR produkti su prečišćeni uz pomoć QIAquick PCR purification kit (Qiagen) i dati na next-generation sekvencioniranje. Prečišćeni PCR produkti su direktno sekvencionirani u oba smera koristeći EZ1-XL Advanced (Qiagen) mašinu. Dobijeni rezultati su analizirani preko CLC Genomic Workbench programa i upoređeni sa dostupnim sekvencama iz banke gena (GenBank). Manji deo sekvenci je analiziran uz pomoć Bio Edit programa a dobijeni rezultati su takođe upoređeni sa sekvencama iz banke gena.

7.6.Maldi-Tof metoda analize proteinskog spektra za identifikaciju vrsta

Za analizu proteinskog spektra primenom Maldi-Tof metode korišćeni su toraks, krila i noge peščanih mušica. Uzorci iz alkohola su sterilnim iglama direktno prebacivani u 10 ml medijuma za homogenizaciju (25 % mravlja kiselina) gde su ručno mrvljeni uz pomoć plastičnih štapića.

2ul homogenata pomešano je sa 2 μ l Maldi matriksa (60% acetonitril/0.3% TFA rastvor sinapinske kiseline (30 mg/ml; Sigma)). Ukupno 1ul dobijene smeše postavljen na odgovarajuće mesto na metalnim pločicama (Slika 72). Nakon postavljanja svih uzoraka pločice su ostavljene na sobnoj temperaturi da se osuše.



Slika 72. Metalne mikroploče za Maldi-Tof analizu
(Izvor: Maldi-Tof uputstvo za upotrebu)



Slika 73. Ultraflex III MALDI-TOF spektrometar (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) (Izvor: Maldi-Tof uputstvo za upotrebu)

Pozitivni jon spektri mereni su na linearnom modu Ultraflex III MALDI-TOF spektrometrom (Bruker Daltonics, Bremen, Germany) (Slika 73) sa rasponom mase 2–25 kDa. Kalibracija je vršena uz pomoć Bruker Protein Calibration Standard I. Svaki dobijeni spektar odgovarao je akumulaciji od 1000 pogodaka laserom (5x200 pogodaka laserom sa različitim pozicijama u okviru uzorka). Dobijeni spektar je eksportovan u MALDI Biotype 3.1 softver na analizu podataka (normalizacija, biranje vrhova...) i procenu analize grupacije. Maksimum 100 vrhova (odnos signal/šum >3; relativan intenzitet od najmanje 0,1%) je izabrano. Za izradu dendrograma konstruisan je zajednički spektar od svih individualnih spektrova date vrste (Vit et al. 2014).

Maldi-Tof metodom analizirani su uzorci prikupljeni u toku 2016. godine. Analize su vršene na Departmanu za parazitologiju Fakulteta prirodnih nauka na Čarls Univerzitetu u Pragu, Češka Republika. Dobijeni proteinski spektri biće priključeni jedinstvenoj bazi podataka koja je trenutno u fazi osnivanja.

8. KLJUČ ZA IDENTIFIKACIJU VRSTA PEŠČANIH MUŠICA PRISUTNIH NA TERITORIJI REPUBLIKE SRBIJE

8.1. Ključ za identifikaciju mužjaka

1. Na stilopoditu je prisutno 4 ili 5 dugačkih jakih trnova; najčešće dva (ponekad tri) trna su pozicionirana terminalno a ostali su raspoređeni duž stilopodita (Šema 31 i 32).....**rod Phlebotomus** (2)

Na stilopoditu su prisutna 4 dugačka jaka trna (jedna kraća seta može biti prisutna lateralno); svi trnovi su pozicionirani terminalno (Šema 33)**rod Sergentomyia** (11)



Šema 31. Spoljašnje genitalije mužjaka *P. sergenti* s.l. (Izvor: N. Leger)



Šema 32. Spoljašnje genitalije mužjaka *P. mascittii* (Izvor: N. Leger)



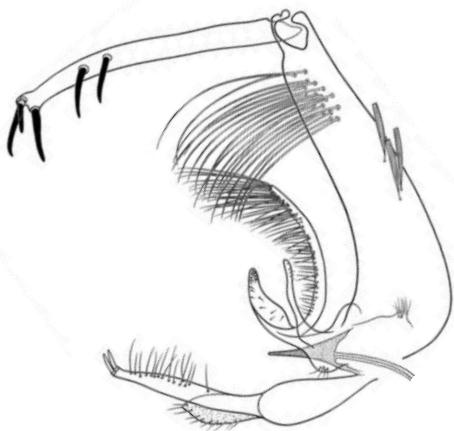
Šema 33. Spoljašnje genitalije mužjaka *S. minuta* (Izvor: N. Leger)

2(1) Koksopodit nema bazalno lateralno proširenje tj. lobus; na stilopoditu je prisutno 5 dugačkih jakih trnova (Šema 32 i 35)(3)

Koksopodit ima bazalni lobus koji je gusto obrastao dlakama; na stilopoditu su uvek prisutna 4 dugačka jaka trna od kojih su dva pozicionirana terminalno a dva lateralno (Šema 31)
.....**podrod Paraphlebotomus** (10)

3(2) Stilopodit je gotovo iste dužine kao koksopodit, duplo je tanji od koksipodita, cilindričnog oblika, nosi kratke jake trnove od kojih su 3 pozicionirana terminalno a 2 lateralno ispod (Šema 34); edeagus je upola kraći od paramera, vršni delovi zaobljeni i zakrivljeni prema koksopoditu (Slika 81)
.....**podrod Phlebotomus, P. papatasi**

Stilopodit je gotovo duplo kraći od koksopodita, uglavnom je tanak i nosi 5 dugačkih jakih trnova; lateralni trnovi polaze sa jasno definisanih izraštaja i/ili trabekula (Šema 32 i 35).....(4)



Šema 34. Spoljašnje genitalije mužjaka *P. papatasi*
(Izvor: N. Leger)

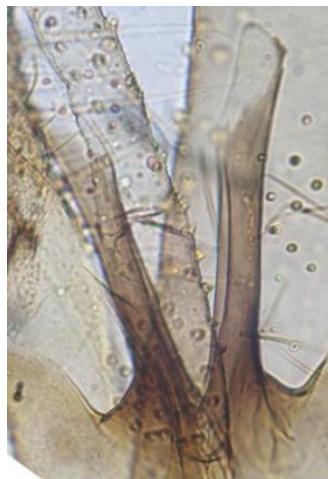


Šema 35. Spoljašnje genitalije mužjaka *P. balcanicus*
(Izvor: N. Leger)

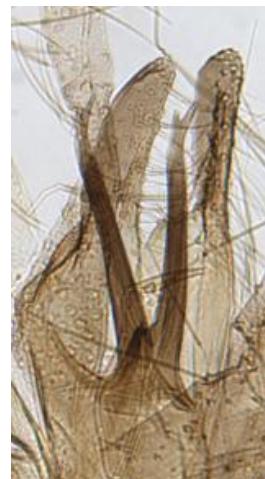
- 4(3) Edeagus je gotovo iste dužine kao paramera, obično duži od 4/5 dužine paramere (Slike 74-77)(5)
Edeagus je primetno kraći, obično nije duži od 4/5 dužine paramere (Slike 78-80)(8)
- 5(4) Apikalni deo edeagusa zaobljen i blago proširen, ili transparentan i ima oblik spatule (Slike 74 i 75)(6)
Apeks edeagusa manje ili više zašiljen, sa subapikalnim izraštajem (manje ili više definisanim zubićem), nije transparentan i nema oblik spatule (Slike 76 i 77)(7)



Slika 74. Izgled edeagusa kod mužjaka *P. neglectus* (Izvor: N. Leger)



Slika 75. Izgled edeagusa kod mužjaka *P. perfiliewi* (Izvor: N. Leger)



Slika 76. Izgled edeagusa kod mužjaka *P. perniciosus* (Izvor: N. Leger)



Slika 77. Izgled edeagusa kod mužjaka *P. simici* (Izvor: N. Leger)

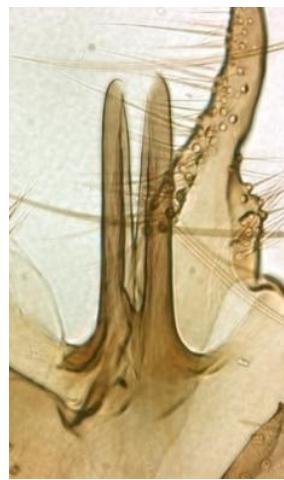
- 6(5) Edeagus tanak, apikalni deo zaobljen i blago proširen (Slika 74)
..... **podrod Larroussius, *P. neglectus***
Edeagus dvostruko širi, apikalni deo je transparentan i ima oblik spatule (Slika 75)
..... **podrod Larroussius, *P. perfiliewi***
- 7(5) Subapikalni izraštaj (zubić) na edeagusu jasno definisan, kraći od apikalnog; oba zubića jako zašiljena (Slika 76) **podrod Larroussius, *P. perniciosus***
Subapikalni izraštaj (zubić) na edeagusu slabo definisan, kraći od apikalnog; oba zubića blago zašiljena (Slika 77) **podrod Adlerius, *P. simici***
- 8(4) Subapikalnim izraštaj (zubić) prisutan (Slike 78 i 79) (9)
Subapikalnim izraštaj (zubić) odsutan (Slika 80) **podrod Transphlebotomus, *P. mascittii***



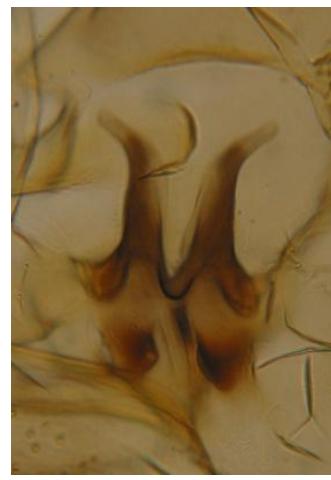
Slika 78. Izgled edeagusa
kod mužjaka *P. tobbi*
(Izvor: N. Leger)



Slika 79. Izgled edeagusa
kod mužjaka *P. balcanicus*
(Izvor: N. Leger)



Slika 80. Izgled edeagusa
kod mužjaka *P. mascittii*
(Izvor: N. Leger)

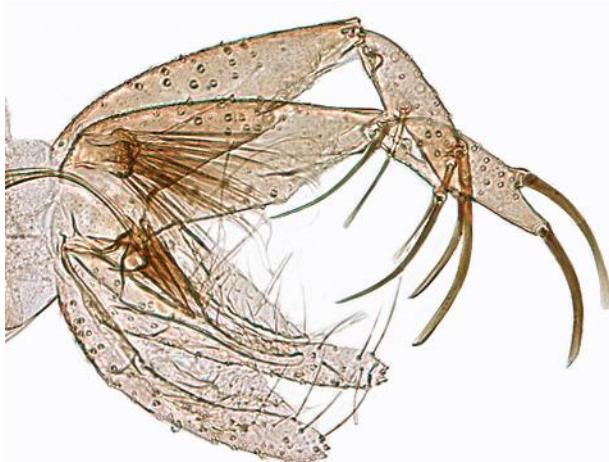


Slika 81. Izgled edeagusa kod
mužjaka *P. papatasi* (Foto:
Slavica Vaselek)

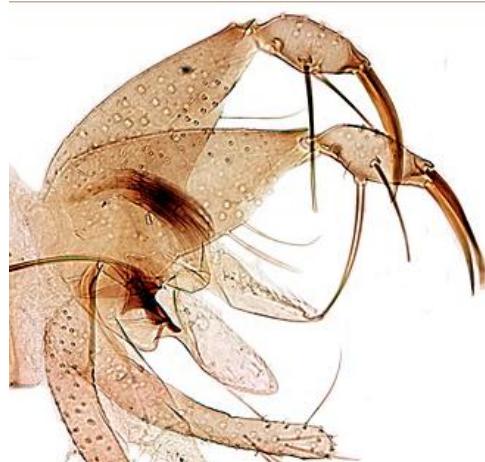
- 9(8) Subapikalni izraštaj (zubić) na edeagusu jasno definisan, kraći od apikalnog, zašiljen (Slika 78) ..
..... **podrod Larroussius, *P. tobbi***
Subapikalni izraštaj (zubić) na edeagusu slabo definisan, kraći od apikalnog; oba zubića blago zašiljena (Slika 79) **podrod Adlerius, *P. balcanicus***

- 10(2) Na koksopoditu je prisutan lobus pečurkastog izgleda koji je gusto obrastao dugim dlakama; stilopodit je za $\approx 1/3$ kraći od koksopodita, voluminozan; na vršnom delu stilopodita jasno se mogu uočiti duži ili kraći izraštaji i trabekule koje nose trnove; jedan izraštaj je pozicioniran apikalno a drugi subapikalno; lateralni trnovi su pozicionirana na trabekulama pri sredini stilopodita (Slika 82); edeagus je upola kraći od paramera; izgled edeagusa je prikazan na slici 84 ***P. alexandri***

Na koksopoditu je prisutan lobus cilindričnog izgleda, može biti kratak i voluminozan ili pak dugačak i blago srpasto povijen; gusto obrastao dugim dlakama; stilopodit je upola kraći od koksopodita, voluminozan; terminalni deo se račva u kratke grane (dva terminalna izraštaja) koje nose trabekule sa trnovima; lateralni trnovi su pozicionirani pri sredini stilopodita (Slika 83); edeagus je upola kraći od paramera; izgled edeagusa je prikazan na slici 85 ***P. sergenti* s.l.**



Slika 82. Izgled spoljašnjih genitalija kod vrste *P. alexandri* (Izvor: N. Leger)



Slika 83. Izgled spoljašnjih genitalija kod vrste *P. sergenti* s.l. (Izvor: N. Leger)



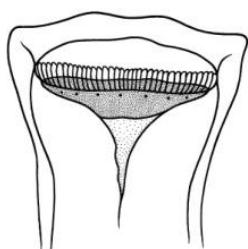
Slika 84. Izgled edeagusa kod mužjaka *P. alexandri*
(Foto: Slavica Vaselek)



Slika 85. Izgled edeagusa kod mužjaka *P. sergenti* s.l.
(Izvor: N. Leger)

11(1) Na cibarijumu je prisutan veliki broj zaobljenih zubića (40-70) slične veličine, raspoređenih u pravoj liniji (Šema 36; Slika 86); izgled edeagusa odgovara slici 88..... *Sergentomyia minuta*

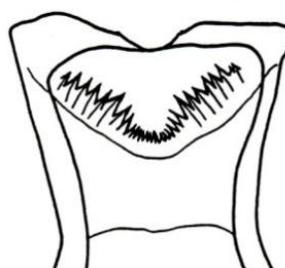
Na cibarijumu se uočava prisustvo krupnih i sitnih zažiljenih zubića, raspoređenih u obliku slova "V" (Šema 37; Slika 87); izgled edeagusa odgovara slici 89 *Sergentomyia dentata*



Šema 36. Izgled cibarijuma kod vrste *S. minuta* (Izvor: N. Leger)



Slika 86. Izgled cibarijuma kod vrste *S. minuta* (Izvor: N. Leger)



Šema 37. Izgled cibarijuma kod vrste *S. dentata* (Izvor: N. Leger)



Slika 87. Izgled cibarijuma kod vrste *S. dentata* (Izvor: N. Leger)



Slika 88. Izgled edeagusa kod vrste *S. minuta*
(Foto: Slavica Vaselek)

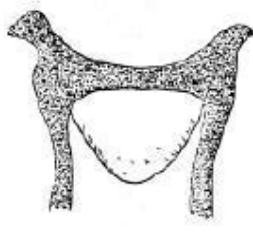


Slika 89. Izgled edeagusa kod vrste *S. dentata*
(Foto: Slavica Vaselek)

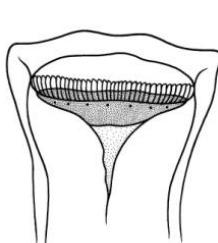
8.2.Ključ za identifikaciju ženki

1. Zubići na cibarijumu nisu prisutni (Šema 38; Slika 90); spermateke su izdiferencirane i mogu se uočiti baze, duktovi i komore (Šema 48-52)**rod *Phlebotomus*** (2)

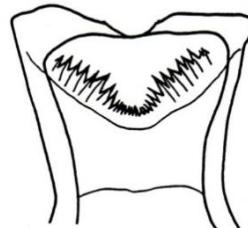
Na cibarijumu se može uočiti prisustvo mnogobrojnih zubića (Šema 39 i 40; Slika 91 i 92); spermateke jednostavne građe, nisu izdiferencirane na regione, transparentne, cevastog izgleda (Šema 57 i 58)**rod *Sergentomyia*** (11)



Šema 38. Izgled cibarijuma kod vrste *P. papatasi* (Izvor: N. Leger)



Šema 39. Izgled cibarijuma kod vrste *S. minuta* (Izvor: N. Leger)



Šema 40. Izgled cibarijuma kod vrste *S. dentata* (Izvor: N. Leger)



Slika 90. Izgled cibarijuma kod vrste *P. papatasi* (Izvor: N. Leger)



Slika 91. Izgled cibarijuma kod vrste *S. minuta* (Izvor: N. Leger)

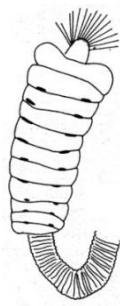


Slika 92. Izgled cibarijuma kod vrste *S. dentata* (Izvor: N. Leger)

2(1) Komore spermateka su jasno segmentisane, prstenaste građe (Šeme 41-44)(3)
Komore spermateke su nepotpuno i neravnomerno segmentisane (Šeme 45 i 46)(9)

3(2) Komora spermateke imaju jasno uočljiv i izduženi vrat koji nosi žlezdanu glavu (Šema 44)
podrod *Larroussius*(4)

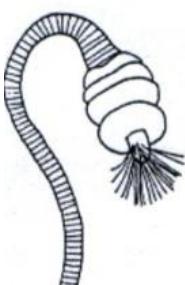
Komore spermateke nemaju izdužen vrat, iz vršnog segmenta spermateke izviruje žlezdana glava (Šeme 41-43)(7)



Šema 41.
Komora
spermateke
kod *P.
papatasi*
(Izvor: N.
Leger)



Šema 42.
Komora
spermateke
kod *P.
alexandri*
(Izvor: N.
Leger)



Šema 43.
Komora
spermateke kod
P. sergenti s.l.
(Izvor: N.
Leger)



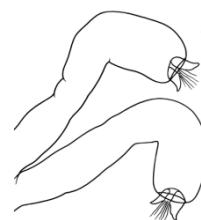
Šema 44.
Komora
spermateke
kod
Larroussius
sp. (Izvor:
N. Leger)



Šema 45.
Komora
spermateke
kod *Adlerius*
sp. (Izvor: N.
Leger)

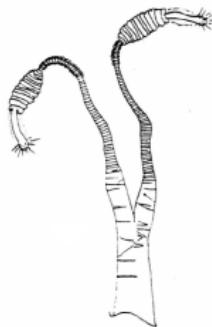


Šema 46.
Komora
spermateke
kod *P.
mascittii*
(Izvor: N.
Leger)

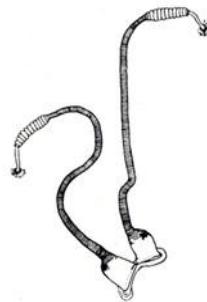


Šema 47. Komora
spermateke kod
Sergentia sp. (Izvor:
N. Leger)

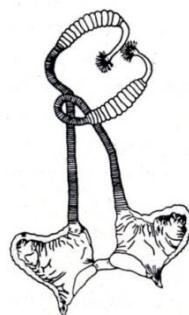
- 4(3) Baze spermateka su srasle (Šema 48) ***P. neglectus***
 Baze spermateka nisu srasle (Šeme 49-51) (5)



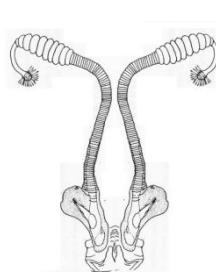
Šema 48. Građa
spermateka kod *P.
neglectus* (Izvor: N.
Leger)



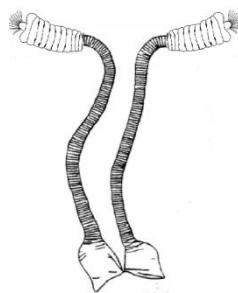
Šema 49. Građa
spermateka kod *P.
tobbi* (Izvor: N. Leger)



Šema 50. Građa
spermateka kod *P.
perfiliewi* (Izvor: N.
Leger)



Šema 51. Građa
spermateka kod *P.
perniciosus* (Izvor:
N. Leger)



Šema 52. Građa
spermateka kod *P.
papatasi* (Izvor: N.
Leger)

- 5(4) Baze spermateka jednostavne građe, u obliku zvona (Šema 49) ***P. tobbi***
 Baze spermateka drugačije (6)
 6(5) Baze spermateka su u obliku kroasana (Šema 50) ***P. perfiliewi* s.l.**
 Baze spermateka nose pečurkasto proširenje (Šema 51) ***P. perniciosus***

- 7(3) Broj prstenova na komori je veći od 8, svi segmenti su približno jednake veličine, na vrhu se uočava žlezdana glava; baza spermateke je u obliku zvona (Šema 41)
 **podrod *Phlebotomus* (*P. papatasi*)**
 Broj prstenova na komori je ≤ 8 , poslednji (vršni) a ponekad i pretposlednji segment komore je proširen i uvećan, na vrhu se uočava žlezdana glava (Šeme 42 i 43); baza spermateke je transparentna
 **podrod *Paraphlebotomus* (8)**

8(7) Broj prstenova na spermatekama je 7-8, poslednji prsten je blago uvećan i obavija žlezdalu glavu poput kragne (Šema 42); zubići na farinksu su gusto zbijeni i pozicionirani u gornjoj četvrtini u zonu pravougaonog oblika (Šema 53; Slika 93) *P. alexandri*

Broj prstenova na spermatekama je 4-6, poslednji segment je značajno uvećan i voluminozan, na vrhu izviruje žlezdana glava (Šema 43); zubići su raspoređeni u gornjoj trećini farinksa i spuštaju se po ivicama ovog organa (Šema 54; Slika 94) *P. sergenti* s.l.



Šema 53. Izgled farinksa kod
P. alexandri (Izvor: N. Leger)



Slika 93. Izgled farinksa
kod *P. alexandri* (Izvor: N.
Leger)



Šema 54. Izgled farinksa
kod *P. sergenti* s.l.
(Izvor: N. Leger)



Slika 94. Izgled farinksa kod
P. sergenti s.l. (Izvor: N.
Leger)

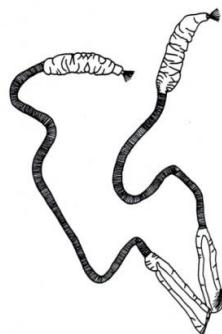
9(2) Spermatekalni duktovi su uzani i ne šire se pre ulaska u komore (Šema 45)
..... **podrod Adlerius** (10)

Spermatekalni duktovi se proširuju pre ulaska u komore, kesastog izgleda i nastavljaju se u plitko segmentisanu komoru (Šema 46) **podrod Transphlebotomus** (*P. mascittii*)

10(9) Baza spermateke je blago proširena i izdužena, nesegmentisana, obavijena gotovo transparentnom kagnom; spermatekalni duktovi su plitko segmentisani; komora spermateke je nepotpuno segmentisana i na svom vrhu nosi sitnu glavu (Šema 55) *P. simici*

Baza spermateke plitko je segmentisana i blago izdužena; spermatekalni duktovi su glatki bez segmentacije; komora na svom vrhu nosi blago izdužen vrat sa sitnom glavom (Šema 56)

P. balcanicus



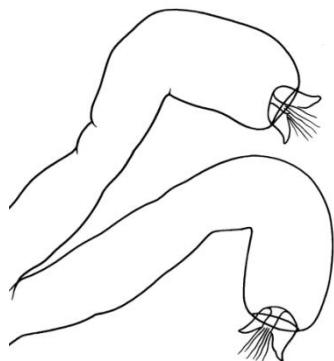
Šema 55. Građa spermateka kod *P. simici*
(Izvor: N. Leger)



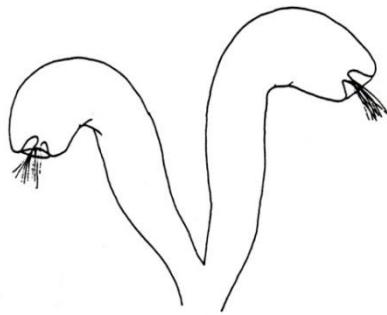
Šema 56. Građa spermateka kod *P. balcanicus*
(Izvor: N. Leger)

11(1) Na cibarijumu se uočava prisustvo velikog broja zaobljenih zubića (40-70) slične veličine, raspoređenih u pravoj liniji (Šema 39; Slika 91); spermateke su cevastog izgleda i na vrhu se može uočiti sitna glava sa žlezdama koja blago izviruje i obavijena je kragnom (Šema 57) *S. minuta*

Na cibarijumu se uočava prisustvo krupnih i sitnih zašiljenih zubića, raspoređenih u obliku slova "V" (Šema 40; Slika 92); spermateke su cevastog izgleda, glava je uvučena u spermateku iz koje izviruju žlezdane dlake (Šema 58) *S. dentata*



Šema 57. Građa spermateka kod *S. minuta*
(Izvor: N. Leger)



Šema 58. Građa spermateka kod *S. dentata*
(Izvor: N. Leger)

9. REZULTATI ISTRAŽIVANJA I DISKUSIJA

U toku višegodišnjeg istraživanja faune peščanih mušica na teritoriji Republike Srbije, koje je sprovedeno u toku sezona 2013-2016. registrovano je prisustvo deset vrsta. Prema predlogu sistematike datom od strane Theodor (Theodor 1948), Artemiev (Artemiev 1980), Lewis (Lewis 1982) i Killick-Kendrick et al. (Killick-Kendrick et al. 1991), identifikovane vrste pripadaju rodovima *Phlebotomus* Rondani & Berté, 1840 i *Sargentomyia* Franca & Parrot, 1920.

Rod *Phlebotomus* je na teritoriji naše države zastupljen sa devet vrsta koje se mogu razvrstati u pet podrobova. Tri registrovane vrste roda *Phlebotomus* pripadaju podrodu *Larroussius* Nitzulescu, 1931; dve vrste podrodu *Adlerius* Nitzulescu, 1931; dve vrste podrodu *Paraphlebotomus* Theodor, 1948; jedna vrsta podrodu *Transphlebotomus* Artemiev & Neronov, 1984 i jedna vrsta podrodu *Phlebotomus* Rondani & Berté, 1840.

Rod *Sargentomyia* zastupljen je sa samo jednom vrstom iz podroda *Sargentomyia* Franca & Parrot, 1920.

Spisak vrsta i njihovo odgovarajuće sistematsko mesto u okviru rodova je sledeće:

Rod: *Phlebotomus* Rondani & Berté, 1840

Podrod: *Phlebotomus* Rondani & Berté, 1840

Phlebotomus papatasi Scopoli, 1786

Podrod: *Paraphlebotomus* Theodor, 1948

Phlebotomus alexandri Sinton, 1928

Phlebotomus sergenti s.l. Parrot, 1917

Podrod: *Transphlebotomus* Artemiev & Neronov, 1984

Phlebotomus mascittii Grassi, 1908

Podrod: *Larroussius* Nitzulescu, 1931

Phlebotomus neglectus Tonnoir, 1921

Phlebotomus perfiliewi s.l. Parrot, 1930

Phlebotomus tobbi Adler, Theodor & Lourie, 1930

Podrod: *Adlerius* Nitzulescu, 1931

Phlebotomus simici Nitzulescu, 1931

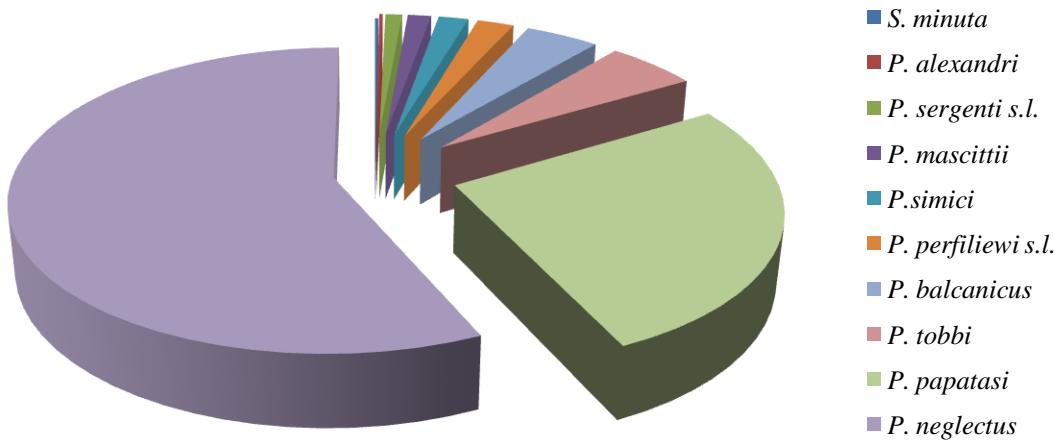
Phlebotomus balcanicus Theodor, 1958

Rod: *Sargentomyia* Franca & Parrot, 1920

Podrod: *Sargentomyia* Franca & Parrot, 1920

Sargentomyia minuta Rondani, 1843

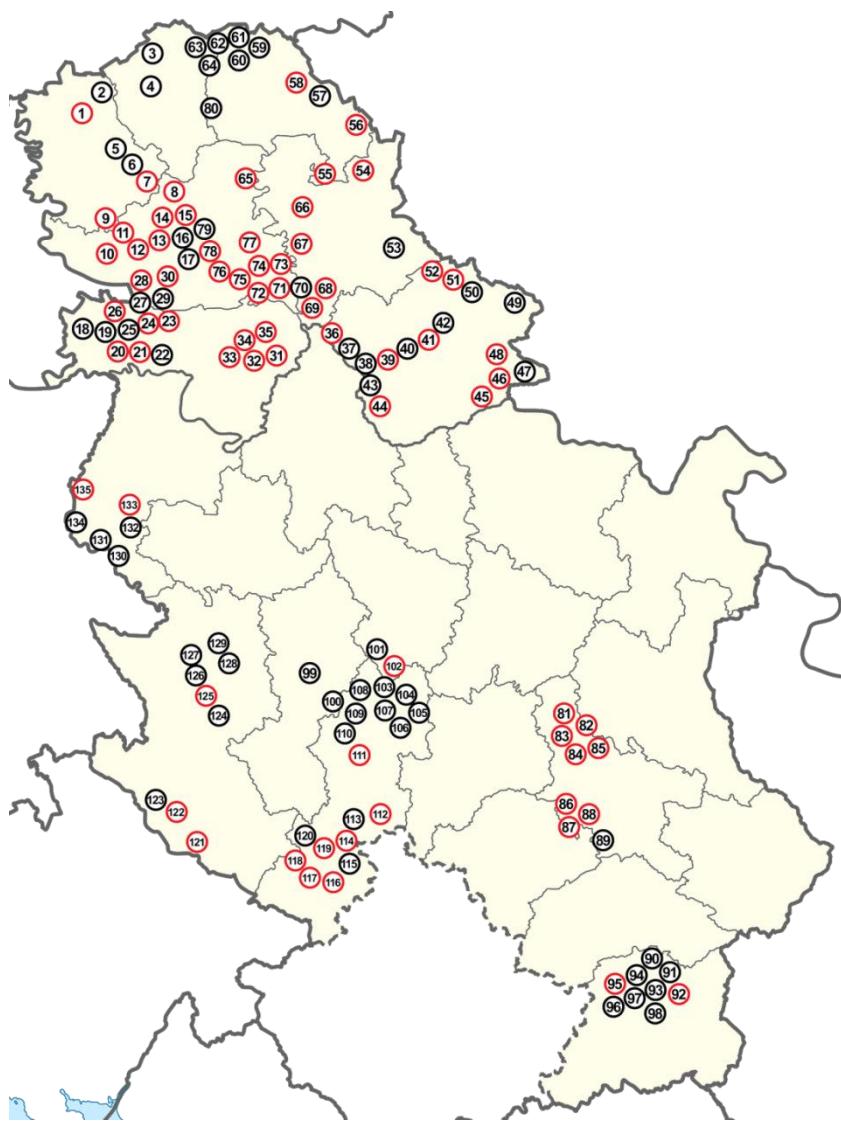
U toku višegodišnjeg monitoringa peščanih mušica prikupljeno je 502 primerka sa 71 od ukupno 135 istraživanih lokaliteta širom Republike Srbije (Mapa 2). Od ukupnog broja prikupljenih peščanih mušica najbrojniju vrstu čini *P. neglectus* zabeležen sa 285 primeraka (56,77%). Nakon *P. neglectus* po brojnosti sledi *P. papatasi* sa 134 primerka (26,69%), *P. tobbi* sa 27 primeraka (5,37%), *P. balcanicus* sa 22 primerka (4,38%), *P. perfiliewi* s.l. sa 11 (2,19%), *P. simici* sa 9 (1,79%), *P. mascittii* sa 7 (1,39%), *P. sergenti* s.l. sa 5 (0,99%), *P. alexandri* i *S. minuta* sa po jednim primerkom (0,19%) (Graf. 1).



Graf. 1. Faunistički sastav peščanih mušica prikupljenih na teritoriji Republike Srbije u periodu od 2013. do 2016. godine

Diverzitet vrsta i njihova brojnost u velikoj meri zavise od istraživanog geografskog regiona. U okviru ove disertacije obrađena su tri regiona Republike Srbije – region Autonomne Pokrajine Vojvodine, region zapadne Srbije sa Šumadijom i region istočne i jugoistočne Srbije.

Najveći diverzitet zabeležen je u regionu istočne i jugoistočne Srbije gde je registrovano ukupno sedam vrsta (Tabela 3; Graf. 5). Nešto manji broj vrsta detektovan je u regionu zapadne Srbije sa Šumadijom (šest vrsta) (Tabela 4; Graf. 4) dok je u regionu Vojvodine nađeno svega četiri vrste (Tabela 2; Graf. 2).

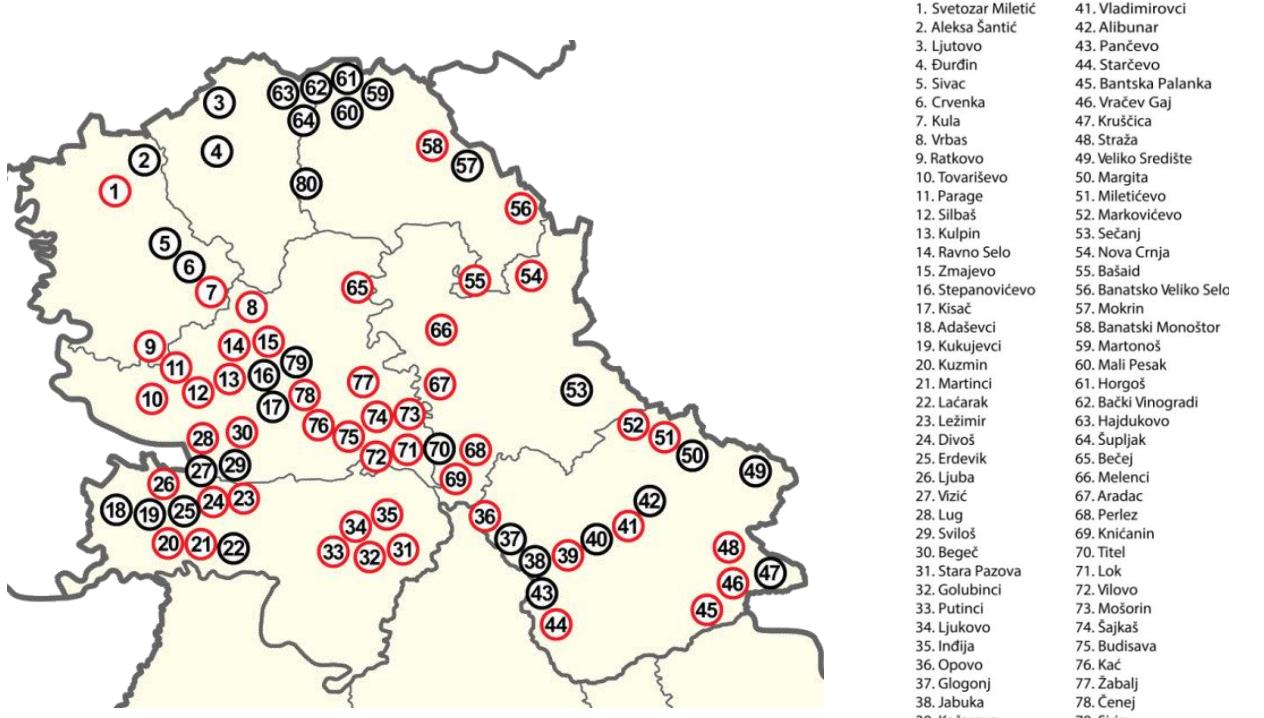


- | | | |
|------------------------|--------------------------|------------------------|
| 1. Svetozar Miletić | 51. Miletićovo | 101. Beloševac |
| 2. Alekса Šantić | 52. Markovićevo | 102. Guberevac |
| 3. Ljutovo | 53. Sečanj | 103. Leskovac |
| 4. Đurdin | 54. Nova Crnja | 104. Vitanovac |
| 5. Sivac | 55. Bašaid | 105. Stubal |
| 6. Crvenka | 56. Banatsko Veliko Selo | 106. Podunavci |
| 7. Kula | 57. Mokrin | 107. Gornja Ratina |
| 8. Vrbas | 58. Banatski Monoštor | 108. Drakčići |
| 9. Ratkovo | 59. Martonoš | 109. Progorelica |
| 10. Tovariševo | 60. Mali Pesak | 110. Bogutovačka banja |
| 11. Parage | 61. Horgoš | 111. Polumir |
| 12. Silbaš | 62. Bački Vinogradi | 112. Radošiće |
| 13. Kulpin | 63. Hajdukovo | 113. Nosoljin |
| 14. Ravno Selo | 64. Šupljak | 114. Požežina |
| 15. Zmajevо | 65. Bećej | 115. Novi Pazar |
| 16. Stepanovićevo | 66. Melenci | 116. Sebečevo |
| 17. Kisač | 67. Aradac | 117. Sopoćani |
| 18. Adaševci | 68. Perlez | 118. Vučiniće |
| 19. Kukujevci | 69. Knićanin | 119. Belići |
| 20. Kuzmin | 70. Titel | 120. Pavlje |
| 21. Martinci | 71. Lok | 121. Gostun |
| 22. Lačarak | 72. Vilovo | 122. Vinicka |
| 23. Ležimir | 73. Mošorin | 123. Osoje |
| 24. Divoš | 74. Šajkaš | 124. Sirogojno |
| 25. Erdevik | 75. Budisava | 125. Nikojevići |
| 26. Ljuba | 76. Kać | 126. Kačer |
| 27. Vizić | 77. Žabalj | 127. Stapari |
| 28. Lug | 78. Čenej | 128. Lunovo Selo |
| 29. Svilos | 79. Sirig | 129. Ribavevine |
| 30. Begeč | 80. Tornjoš | 130. Uzovnica |
| 31. Stara Pazova | 81. Mozgovo | 131. Crnća |
| 32. Golubinci | 82. Bovan | 132. Likodra |
| 33. Putinci | 83. Subotinac | 133. Krasava |
| 34. Ljukovo | 84. Kraljevo | 134. Mali Zvornik |
| 35. Indija | 85. Prugovac | 135. Banja Koviljača |
| 36. Opovo | 86. Arbanasce | |
| 37. Glogonj | 87. Jug Bogdanovac | |
| 38. Jabuka | 88. Brest | |
| 39. Kačarevo | 89. Šainovac | |
| 40. Banatsko Novo Selo | 90. Žitorade | |
| 41. Vladimirovci | 91. Alakince | |
| 42. Alibunar | 92. Maserica | |
| 43. Pančevo | 93. Suvojnica | |
| 44. Starčevo | 94. Kalabovce | |
| 45. Bantska Palanka | 95. Bačvište | |
| 46. Vračev Gaj | 96. Stubal | |
| 47. Kruščica | 97. Vrbovo | |
| 48. Straža | 98. Bogošovo | |
| 49. Veliko Središte | 99. Trnava | |
| 50. Margita | 100. Lazac | |

Mapa 2. Mapa lokaliteta na kojima je vršen monitoring peščanih mušica na teritoriji Republike Srbije u periodu 2013-2016
(Crni okvir – negativan nalaz peščanih mušica; Crveni okvir – pozitivan nalaz peščanih mušica)

Region Autonomne Pokrajine Vojvodine

U Regionu Autonomne Pokrajine Vojvodine je u periodu od 2013. do 2015. godine istraženo ukupno 80 lokaliteta, pri čemu je 17 istraženo u 2013., 24 u 2014. i 39 lokaliteta u 2015. godini (Mapa 3).



Mapa 3. Mapa lokaliteta na kojima je vršen monitoring peščanih mušica na teritoriji Autonomne Pokrajine Vojvodine u periodu od 2013. do 2015. godine

U periodu od tri godine prisustvo peščanih mušica detektovano je na 48 lokaliteta pri čemu je prikupljeno ukupno 135 jedinki (Tabela 2). Utvrđeno je prisustvo četiri vrste iz roda *Phlebotomus* koje su svrstane u tri podroda:

Rod: *Phlebotomus* Rondani & Berté, 1840

Podrod: *Phlebotomus* Rondani & Berté, 1840

Phlebotomus papatasi Scopoli, 1786

Podrod: *Larroussius* Nitzulescu, 1931

Phlebotomus neglectus Tonnoir, 1921

Phlebotomus perfiliewi s.l. Parrot, 1930

Podrod: *Transphlebotomus* Artemiev & Neronov, 1984

Phlebotomus mascittii Grassi, 1908

1. Svetozar Miletić	41. Vladimirovci
2. Aleksić Šantić	42. Alibunar
3. Ljutovo	43. Pančevo
4. Burdin	44. Starčevo
5. Sivac	45. Bantska Palanka
6. Crvenka	46. Vračev Gaj
7. Kula	47. Kruščica
8. Vrbas	48. Straža
9. Ratkovo	49. Veliko Središte
10. Tovariševo	50. Margita
11. Parage	51. Miletićevo
12. Silbaš	52. Markovićevo
13. Kulpin	53. Sečanj
14. Ravnog Selo	54. Nova Crnja
15. Zmajevac	55. Bašaid
16. Stepanovićevo	56. Banatsko Veliko Selca
17. Kisač	57. Mokrin
18. Adaševci	58. Banatski Monoštor
19. Kukujevci	59. Martonovo
20. Kuzmin	60. Mali Pesak
21. Martinci	61. Horgoš
22. Laćarak	62. Bački Vinogradci
23. Ležimir	63. Hajdukovo
24. Divoš	64. Šupljak
25. Erdevik	65. Bećej
26. Ljuba	66. Melenci
27. Vizić	67. Aradac
28. Lug	68. Perlez
29. Svilos	69. Knjičanin
30. Begeč	70. Titel
31. Stara Pazova	71. Lok
32. Golubinci	72. Vilovo
33. Putinci	73. Mošorin
34. Ljukovo	74. Šajkaš
35. Indija	75. Budisava
36. Opovo	76. Kač
37. Glogonj	77. Žabalj
38. Jabuka	78. Čenej
39. Kačarevo	79. Sirig
40. Banatsko Novo Selo	80. Tornioš

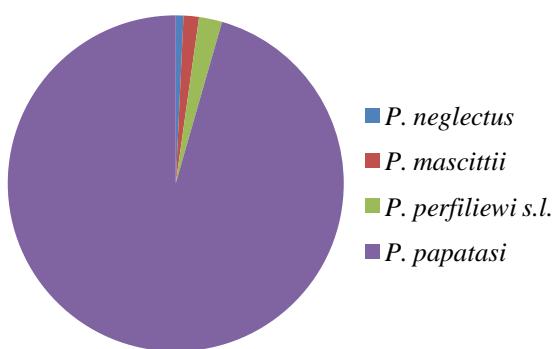
Indija	45.0353556	20.0790806	7	24.08.2013.	<i>P. papatasi</i> (2♂/5♀)
Golubinci	44.9836306	20.0715722	3	24.08.2013.	<i>P. papatasi</i> (2♂/1♀)
Putinci	44.9952167	19.9623000	10	24.08.2013.	<i>P. papatasi</i> (2♂/8♀)
Ljukovo	45.0295639	20.0227056	1	24.08.2013.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
Vladimirovci	45.0322167	20.8762667	20	21.07.2013.	<i>P. papatasi</i> (7♂/13♀)
Kačarevo	44.9623333	20.7128667	1	21.07.2013.	<i>P. perfiliewi</i> s.l. (1♀)
Bečeј	45.6151970	20.0268460	2	24.07.2013.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
				23.08.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
Kać	45.3033710	19.9292900	4	25.07.2013.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
				29.07.2013.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
				30.07.2013.	<i>P. papatasi</i> (1♂/1♀)
Begeč	45.2380420	19.6228380	1	31.07.2013.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
Čenej	45.3692500	19.8042833	1	31.07.2013.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Stara Pazova	44.9839278	20.1797111	2	02.09.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♂/1♀)
Budisava	45.2803167	19.9990833	1	22.07.2014.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Šajkaš	45.2664833	20.0925833	5	17.07.2014.	<i>P. papatasi</i> (1♂/2♀)
				22.07.2014.	<i>P. papatasi</i> (2♂)
Žabalj	45.3755500	20.0761333	5	17.07.2014.	<i>P. papatasi</i> (1♂/1♀)
				22.07.2014.	<i>P. papatasi</i> (3♂)
Mošorin	45.2967333	20.1547333	2	26.07.2014.	<i>P. papatasi</i> (1♂/1♀)
Vilovo	45.2483500	20.1535500	1	26.07.2014.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
Perlez	45.2098500	20.3902333	2	26.07.2014.	<i>P. papatasi</i> (2♀)
Knićanin	45.1883167	20.3164167	2	26.07.2014.	<i>P. papatasi</i> (1♂/1♀)
Ljuba	45.1568333	19.3911167	1	19.08.2014.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Kuzmin	45.3040833	19.9285889	1	30.07.2014.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Vrbas	45.5809000	19.6322000	1	14.08.2014.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Kula	45.6178500	19.5127333	1	14.08.2014.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Lok	45.2183000	20.2113333	4	26.07.2014.	<i>P. papatasi</i> (4♀)
Lug	45.1876667	19.5429667	1	21.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
Divoš	45.1115167	19.5095333	5	02.09.2015.	<i>P. papatasi</i> (2♀)
				21.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (2♂/1♀)
Martinci	45.0132167	19.4452000	1	02.09.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
Ležimir	45.1138333	19.5672500	3	02.09.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
				18.06.2015.	<i>P. mascittii</i> (1♀)
				21.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Bašaid	45.6356500	20.4080500	2	01.06.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
				16.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Nova Crnja	45.6698167	20.6086833	2	14.06.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♂/1♀)
Banatsko Veliko Selo	45.8157167	20.6091500	1	16.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Banatski Monoštor	45.9633000	20.2824167	1	16.07.2015.	<i>P. perfiliewi</i> s.l. (1♀)
Svetozar Miletić	45.8497833	19.1965667	1	20.08.2015.	<i>P. neglectus</i> (1♀)
Aradac	45.3768667	20.3025833	1	03.06.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
Markovićevo	45.3249833	21.0331667	1	05.09.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Miletićeve	45.3037167	21.0601500	1	22.08.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Straža	44.9722500	21.3015000	1	16.06.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♂)

Vračev Gaj	44.8822000	21.3702167	2	22.08.2015.	<i>P. papatasi</i> (1NA*)
				05.09.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
Banatska Palanka	44.8463833	21.3344667	2	14.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (2♂)
Melenci	45.5282972	20.3037944	1	29.07.2015.	<i>P. perfiliewi</i> s.l. (1♀)
Parage	45.4154278	19.4045500	2	16.08.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
				01.08.2015.	<i>P. mascittii</i> (1♀)
Starčevo	45.4045000	19.7076333	1	28.06.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Ravno selo	45.4525200	19.6197600	8	20.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (6♂/2♀)
Ratkovo	45.4482900	19.3300200	3	19.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (3♀)
Silbaš	45.3800600	19.5037600	1	19.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Kulpin	45.3970900	19.5907200	2	20.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (2♂)
Zmajevо	45.4445400	19.6998900	1	20.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
Tovariševo	45.3557600	19.3191400	6	19.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (2♂/4♀)
Ukupno: 48			Ukupno: 135		

*NA – pol primerka nije poznat

Tabela 2. Lokaliteti sa pozitivnim nalazima peščanih mušica u regionu Autonomne Pokrajine Vojvodine u periodu 2013-2015 (kordinate, datuma uzorkovanja, broj jedinki, vrsta i pol)

Dominantna vrsta registrovana na 56,25% od svih istraživanih lokaliteta (91,6% od pozitivnih lokaliteta) je *P. papatasi* sa 129 prikupljenih primeraka (74♀, 54♂, 1 NA). *Phlebotomus perfiliewi* s.l. je registrovan na tri lokaliteta sa po jednim primerkom (3♀), *P. mascitti* na dva lokaliteta sa po jednim primerkom (2♀) dok je *P. neglectus* registrovan samo sa jednim primerkom (1♀) (Graf. 2).



Graf 2. Faunistički sastav peščanih mušica prikupljenih na teritoriji Autonomne Pokrajine Vojvodine u periodu od 2013. do 2015. godine

Rezultati istraživanja sprovedenih sredinom prošlog veka ukazali su na prisustvo svega tri vrste peščanih mušica – *P. papatasi*, *P. neglectus* i *P. perfiliewi* s.l. (Simić et al. 1951). Rezultati dobijeni u okviru ove disertacije pored prednodno registrovanih vrsta potvrđuju prisustvo još jedne dodatne vrste – *P. mascitti*.

Nalaz *P. mascitti* predstavlja prvi nalaz ove vrste kako za faunu Vojvodine tako i za faunu čitave Srbije. Dve ženke, prikupljene u mestima Ležimir (18.06.2015.) i Parage (01.08.2015.) identifikovane su na osnovu morfoloških karaktera spermateka, cibarijalne i faringealne duplje. Morfološka identifikacija je potom potvrđena sekvencioniranjem COI regionala mitohondrijalnog gena. Dobijene sekvene priključene su bazi podataka GenBank pod jedinstvenim registarskim brojem

BankIt1997035 Seq4, KY848831. Pored sekvenci za *P. mascitti*, u jedinstvenu bazu podataka GenBank dodate su i sekvence ostalih vrsta registrovanih u regionu Vojvodine – *P. papatasi* (BankIt1997035 Seq1, KY848828), *P. perfiliewi* s.l. (BankIt1997035 Seq2, KY848829) i *P. neglectus* (BankIt1997035 Seq3, KY848830).

Rezultati predhodnih istraživanja, sprovedenih u periodu 1949-1951, ukazuju na to da je brojnost peščanih mušica u Vojvodini bila veoma niska u toku svih istraživanih godina sa izuzetkom 1950. Prema navodima Čedomira Simića (Simić 1951) u toku 1949. godine bilo je moguće prikupiti svega jedan-dva primerka sa više lokacija u okviru jednog sela, te je sa 30 ispitivanih lokaliteta prikupljeno ukupno 27 primeraka. Već 1950. godine usled povoljnih vremenskih uslova dolazi do naglog uvećanja brojnosti *P. papatasi* što dovodi do izbijanja jedne od najvećih epidemija papatačijeve groznice ikad zabeležene na Balkanu (Simić 1932). U toku leta 1950. godine u jednoj prostoriji moglo se prikupiti više desetina a ponekad i više stotina primeraka *P. papatasi* dok je brojnost ostalih vrsta ostala niska. Već 1951. broj ove vrste vratio se na uobičajeni (nizak) nivo sa po par zabeleženih primeraka (Guelmino and Jevtic 1952). Nizak diverzitet i niska brojnost peščanih mušica, kao i odsustvo lajšmanioze u ovom delu Srbije doveli su do toga da istraživanje peščanih mušica u Vojvodini bude potpuno obustavljeno nakon 1951.

Rezultati dobijeni u toku monitoringa peščanih mušica sprovedenog u periodu od 2013. do 2015. godine predstavljaju prve rezultate nakon pauze duže od 60 godina. Dobijeni rezultati, posebno oni u toku 2015. godine, potvrđuju da se situacija u pogledu niske brojnosti peščanih mušica na teritoriji Vojvodine nije bitno izmenila do današnjih dana. Na većini istraživanih lokaliteta u toku 2015. godine uprkos kontinuiranom postavljanju klopki na istim lokacijama, nije prikupljen ni jedan primerak, dok je na pozitivnim lokalitetima prikupljen uglavnom jedan primerak, retko kada više.

I pored niske brojnosti, u toku trogodišnjeg monitoringa prisustvo peščanih mušica utvrđeno je na više od 61,25% istraživanih lokaliteta. Postoji verovatnoća da su male populacije peščanih mušica prisutne i na drugim istraživanim lokalitetima širom Vojvodine ali da zbog niske brojnosti njihovo prisustvo nije moglo biti registrovano. U prilog ovome idu i usmena predanja ljudi iz Vojvodine na čijim imanjima su postavljane klopke u svrhe monitoringa diverziteta i brojnosti peščanih mušica u periodu 2013-2015, i koji navode da prisustvo “malih sitnih ne vidljivih insekata koji grizu noću i unutar kuća” varira od godine do godine. Prema zapažanjima stanovništva broj ovih insekata je znatno viši ukoliko su leta sušna, topla i duga, dve ili tri godine za redom (sa blagom zimom). Takođe, na određenim istraživanim lokalitetima poput Velikog Središta, na osnovu opisa datih od strane vlasnika imanja, utvrđeno je da su “papatači” prisutni u njihovim kućama, ali ni jedan primerak nije uhvaćen i pored kontinuiranog postavljenja klopki u toku nekoliko meseci.

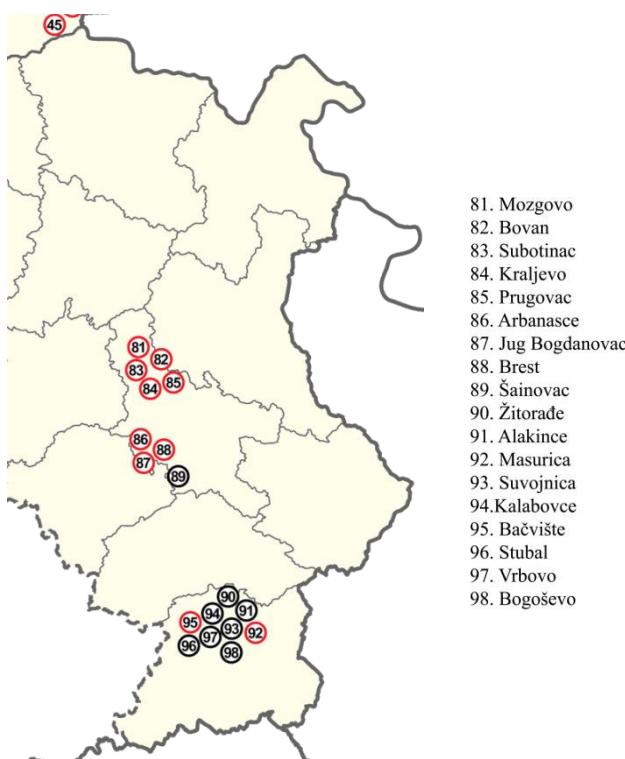
Distribucija, diverzitet i brojnost flebotomina u Vojvodini zavise od nekoliko faktora. Još u prošlom veku Čedomir Simić i Vera Živković (1957) zaključili su da klimatski faktori pre svega temperatura i vlaga, značajno utiču na brojnost flebotomina u ovom regionu. Duga, suva i topla leta, praćena blagim zimama omogućavaju ovim insektima da se razviju i prezime u većem broju. Pored klimatskih faktora, od izuzetnog značaja su topografija terena kao i prisutni biljni pokrivač. Vojvodina je pretežno ravničarski region sa velikim otvorenim prostranstvima pod obradivim površinama. Disperzija flebotomina u ovom regionu Srbije limitirana je prisustvom velikih obradivih površina pod biljnim kulturama koje su redovno izlagane tretmanima insekticidima. S obzirom da su flebotomine veoma loši letači i da su krajnje osetljive na većinu insekticida, populacije ovih insekata uglavnom su

ograničene na urbane ili polu urbane sredine. U skladu sa tim najčešće je i detektovana vrsta *P. papatasi* koja je izraženo antropofilna, hrani se na čoveku i boravi u unutrašnjosti kuća.

Iako je *P. papatasi* najčešće nalažena flebotomina u regionu Vojvodine, njena brojnost je i dalje niska. Brojnost populacija *P. papatasi* u urbanim sredinama je sa jedne strane verovatno kontrolisana od samih domaćina koji koriste različita sredstva za suzbijanje insekata u okviru svojih domaćinstava; a sa druge strane organizovanim nadzorom/kontrolom brojnosti adultnih komaraca koje se organizuje na nivou grada, opštine ili pokrajine i koja takođe utiče na brojnost peščanih mušica.

Region istočne i jugoistočne Srbije

Region istočne i jugoistočne Srbije istraživan je u periodu od 2014. do 2016. godine. Istraženo je 18 lokaliteta od kojih je 9 istraženo u 2014. (okolina Niša i Aleksinca) a 9 u 2015. (okolina Vladičinog Hana). U toku 2016. godine posećena su 2 lokaliteta iz okoline Aleksinca koja su se u toku 2014. istakla po diverzitetu peščanih mušica (Mapa 4).



U periodu od tri godine prisustvo peščanih mušica detektovano je na 10 lokaliteta pri čemu je prikupljeno ukupno 78 primeraka (Tabela 3). Utvrđeno je prisustvo sedam vrsta svrstanih u dva roda i četiri podroda:

Rod: *Phlebotomus* Rondani & Berté, 1840

Podrod: *Phlebotomus* Rondani & Berté, 1840

Phlebotomus papatasi Scopoli, 1786

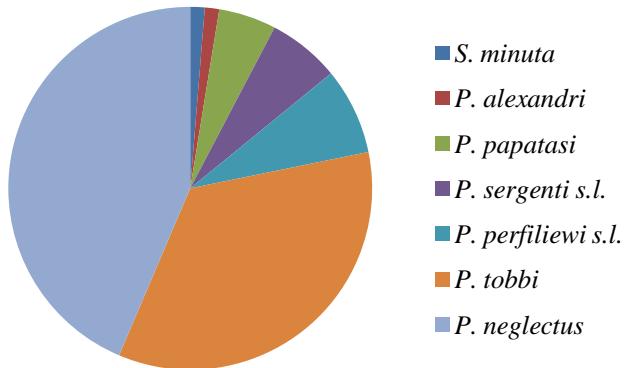
- Podrod: *Larroussius* Nitzulescu, 1931
Phlebotomus neglectus Tonnoir, 1921
Phlebotomus perfiliewi s.l. Parrot, 1930
Phlebotomus tobbi Adler, Theodor & Lourie, 1930
- Podrod: *Paraphlebotomus* Theodor, 1948
Phlebotomus alexandri Sinton, 1928
Phlebotomus sergenti s.l. Parrot, 1917
- Rod:** *Sargentomyia* Franca & Parrot, 1920
Podrod: *Sargentomyia* Franca & Parrot, 1920
Sargentomyia minuta Rondani, 1843

Lokalitet	Kordinate		Broj jedinki	Datum uzorkovanja	Vrsta i pol
Aleksinac	43.5666667	21.7000000	23	23.06.2014.	<i>P. neglectus</i> (6♂/1♀)
				28.06.2014.	<i>P. neglectus</i> (1♂/3♀)
				18.07.2016.	<i>P. neglectus</i> (2♂/1♀)
				23.06.2014.	<i>P. tobbi</i> (1♂/2♀)
				23.06.2014.	<i>P. alexandri</i> (1♂)
				18.07.2016.	<i>P. sergenti</i> s.l. (1♂/2♀)
				18.07.2016.	<i>P. perfiliewi</i> s.l. (1♀)
				18.07.2016.	<i>S. minuta</i> (1♀)
Arbanasce	43.2713528	21.6455306	6	29.06.2014.	<i>P. neglectus</i> (1♂)
				29.06.2014.	<i>P. tobbi</i> (1♀/2NA*)
				29.06.2014.	<i>P. perfiliewi</i> s.l. (1♀)
				24.06.2014.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Brest	43.2797861	21.7318556	7	29.06.2014.	<i>P. tobbi</i> (1♂/5♀)
				29.06.2014.	<i>P. perfiliewi</i> s.l. (1♀)
Prugovac	43.5572000	21.7867000	14	25.06.2014.	<i>P. neglectus</i> (5♂/4♀/1NA*)
				28.06.2014.	<i>P. neglectus</i> (1♂)
				20.07.2016.	<i>P. neglectus</i> (1♂)
				20.07.2016.	<i>P. sergenti</i> s.l. (1♂/1♀)
Mozgovo	43.6571667	21.6628500	1	27.06.2014.	<i>P. neglectus</i> (1♂)
Bovan	43.6348167	21.7181167	2	27.06.2014.	<i>P. neglectus</i> (2♀)
Subotinac	43.6037167	21.6938000	2	27.06.2014.	<i>P. neglectus</i> (1♂/1NA*)
Jugbogdanovac	43.2697167	21.6449000	10	29.06.2014.	<i>P. neglectus</i> (1♀)
				29.06.2014.	<i>P. tobbi</i> (4♀)
				29.06.2014.	<i>P. perfiliewi</i> s.l. (2♀)
				29.06.2014.	<i>P. papatasi</i> (2♂/1♀)
Masurica	42.6638194	22.1636194	2	01.08.2015.	<i>P. neglectus</i> (1♂)
				01.08.2015.	<i>P. perfiliewi</i> s.l. (1♀)
Baćvište	42.6573444	020.0208083	11	02.08.2015.	<i>P. tobbi</i> (7♂/4♀)
Ukupno: 10			Ukupno: 78		

*NA – pol primerka nije poznat

Tabela 3. Lokaliteti sa pozitivnim nalazima peščanih mušica u regionu istočne i jugoistočne Srbije u periodu 2014-2016 (kordinate, datuma uzorkovanja, broj jedinki, vrsta i pol)

Prema dobijenim rezultatima od ukupnog broja prikupljenih peščanih mušica ($n=78$) najbrojniju vrstu čini *P. neglectus* zabeležen sa 34 primerka (12♀, 20♂, 2 NA) (43,58%). Nakon *P. neglectus* po brojnosti sledi *P. tobbi* sa 27 primeraka (16♀, 9♂, 2 NA) (34,61%), *P. perfiliewi* s.l. sa 6 primeraka (6♀) (7,69%), *P. sergenti* s.l. sa 5 primerka (3♀, 2♂) (6,41%), *P. papatasi* sa 4 (2♀, 2♂) (5,12%), *P. alexandri* (1♂) i *S. minuta* (1♀) sa po jednim prikupljenim primerkom (1,28%) (Graf. 3).



Graf 3. Faunistički sastav peščanih mušica prikupljenih u regionu istočne i jugoistočne Srbije u periodu od 2014. do 2016. godine

Istraživanja peščanih mušica u regionu istočne i jugoistočne Srbije sprovođena su u periodu od 1947. do 1990. Za to vreme detektovano je prisustvo sedam vrsta iz roda *Phlebotomus* (*Phlebotomus papatasi*, *P. perfiliewi* s.l., *P. tobbi*, *P. neglectus*, *P. simici*, *P. sergenti* s.l., *P. balcanicus*) (Simić 1950a). U okviru ove disertacije potvrđeno je prisustvo pet predhodno prijavljenih vrsta: *P. papatasi*, *P. perfiliewi* s.l., *P. tobbi*, *P. neglectus* i *P. sergenti* s.l. dok prisustvo *P. simici* i *P. balcanicus* nije registrovano. Pored pet predhodno prijavljenih vrsta, registrovano je prisustvo još dve nove vrste za faunu Srbije – *P. alexandri* i *S. minuta*.

Nalaz *P. alexandri* predstavljaju prvi nalaz ove vrste kako za faunu peščanih mušica datog regiona tako i za faunu čitave Srbije. Jedan uzorak *P. alexandri* (♂) prikupljen u Aleksincu 23.06.2014. identifikovan je na osnovu morfoloških karaktera spoljašnjih genitalija prikazanih na slikama 95-97.



Slika 95. Edeagus *P. alexandri*
(Foto: Slavica Vaselek)



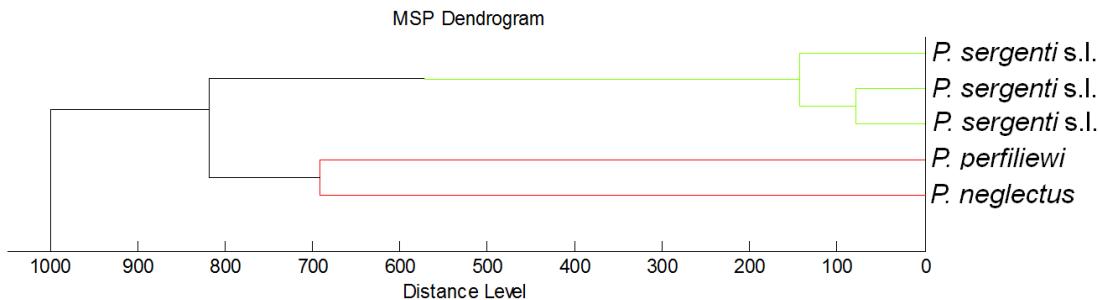
Slika 96 Stilopodit *P. alexandri*
(Foto: Slavica Vaselek)



Slika 97. Lобус *P. alexandri*
(Foto: Slavica Vaselek)

Ženka *S. minuta* prikupljena takođe u Aleksincu 18.07.2016. identifikovana je analizom proteinskiog spektra Maldi-Tof metodom (Graf. 4).

Svi ostali prikupljeni uzorci prvo su identifikovani na osnovu morfoloških karaktera reproduktivnog sistema i glave. Morfološka identifikacija pojedinih primeraka potvrđena je sekvencioniranjem COI regiona mitohondrijalnog gena ili pak analizom proteinskog spektra primenom Maldi-Tof metode. Dobijene sekvene za vrste *P. neglectus*, *P. tobbi* i *P. paptasi* dodata su u banku podataka GenBank. Rezultati Maldi-Tof analize za vrste *P. perfiliewi* s.l., *P. neglectus* i *P. sergenti* s.l. prikazani su na dendrogramu (Graf. 4) a dobijeni proteinski spektri datih vrsta biće priklučeni jedinstvenoj bazi podataka koja je trenutno u procesu izrade.



Graf 4. Dendrogram proteinskog spektra određenih vrsta peščanih mušica prikupljenih u regionu istočne i jugoistočne Srbije (Vizuelni prikaz: Dvorak V.)

Prema navodima Živković (Živkovic 1980) dominantne vrste peščanih mušica u regionu istočne i jugoistočne Srbije u periodu 1947-1990 bile su *P. papatasi* i *P. perfiliewi* s.l.. Ove dve vrste nalažene su na gotovo svim istraživanim lokalitetima u velikom broju. *Phlebotomus neglectus*, *P. simici* i *P. tobbi* bili su prisutni u manjem broju dok je brojnost *P. sergenti* s.l. i *P. balcanicus* bila gotovo zanemarljiva (Simić 1950a).

U periodu od 1990. do 2014. nije sproveden monitoring peščanih mušica u ovom regionu. Za to vreme došlo je promene kako faunističkog sastava tako i do promene brojnosti prisutnih vrsta. Registrovano je odsustvo predhodno prijavljenih vrsta – *P. simici* i *P. balcanicus*, a detektovano je prisustvo dve nove vrste – *P. alexandri* i *S. minuta*. Postoji verovatnoća da su male populacije *P. simici* i *P. balcanicus* prisutne na istraživanim lokalitetima ali da zbog niske brojnosti njihovo prisustvo nije registrovano.

Prema novim podacima dominantna vrsta je *P. neglectus* pronađen na 82% pozitivnih lokaliteta, dok su prethodno brojne vrste *P. papatasi* i *P. perfiliewi* s.l. sada prisutne u malom broju primeraka i na ograničenom broju lokaliteta.

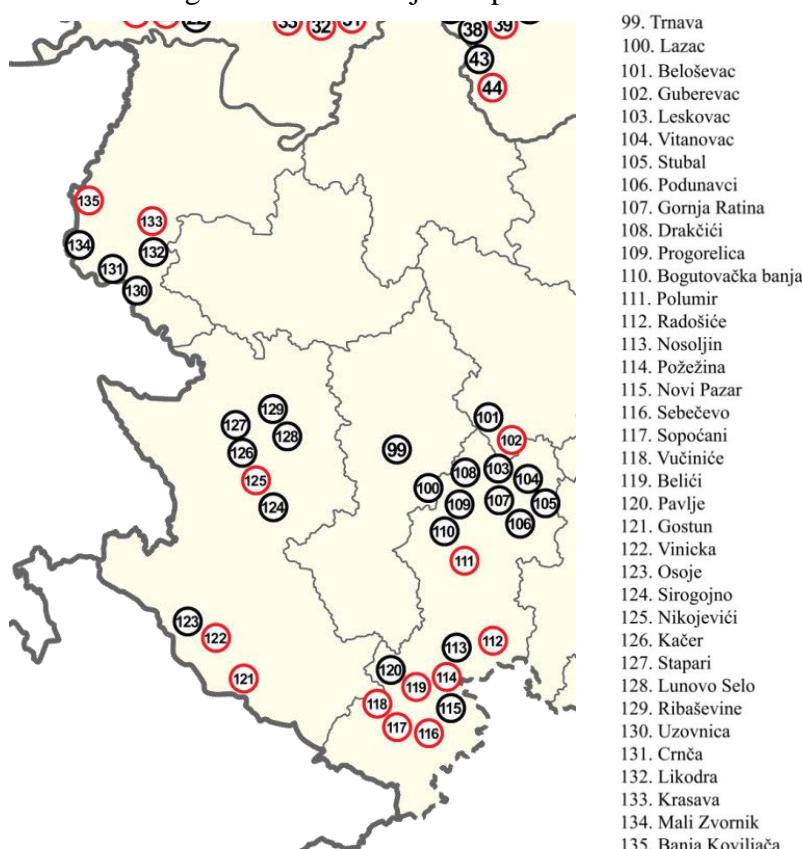
Prema navodima Živković (1980) brojnost peščanih mušica u ovom regionu je sistematski opadala od 1947. godine kada su počela entomološka istraživanja pa sve do 1990. kada su obustavljena. Smanjenje brojnosti flebotomina u ovom regionu pripisano je intenzivnoj upotrebi insekticida, pre svega DDT-ja. U posleratnom periodu socio-ekonomski, higijenski i medicinski uslovi života u Srbiji bili su veoma loši što je dovelo do prenamnožavanja peščanih mušica i do izbijanja epidemija lajšmanioze i papatačijske groznice (Simić 1932). Pored ovih bolesti, u velikom broju bile su zastupljene i druge vektorske zoonoze poput denge i malarije koje su prenosili komarci (Simić 1932). U cilju kontrole vektora, otpočelo je sistemsko prskanje DDT-jem koje je trajalo nekoliko godina i pokazalo je izuzetno dobre rezultate. Iako je prskanje DDT-jem sprovedeno svega nekoliko sezona, brojnost peščanih mušica je drastično opala i prema navodima literature nikad se nije vratila na pređašnji nivo (Milovanović and Popović 1960). Viši stepen obrazovanja ljudi kao i poboljšanje

životnih i higijenskih uslova (bolje održavanje higijene kod životinja, prskanje insekticidima...) verovatno su uticali na to da broj peščanih mušica ostane nizak. Ovo se pre svega odnosi na vrste koje se najčešće mogu naći u domaćinstvima poput *P. papatasi* i *P. perfiliewi* s.l.

Nalaz *P. neglectus* kao dominantne vrste u ovom regionu je krajnje očekivan pošto se radi o polu divljoj vrsti peščane mušice koja preferira vlažnija staništa, malo veću nadmorsku visinu i šumovite regije gde su letnje temperature znatno niže nego na otvorenim prostranstvima.

Region zapadne Srbije sa Šumadijom

Region zapadne Srbije sa Šumadijom istraživan je u periodu od 2015. do 2016. godine. U toku 2015. istraženo je 37 lokaliteta pri čemu je prisustvo peščanih mušica zabeleženo na svega 13 (Mapa 5). U toku 2016. posećen je samo jedan lokalitet – Krasava. Datij lokalitet je izabran za ponovljeno uzorkovanje na osnovu visokog diverziteta i brojnosti primeraka zabeleženih u toku 2015. godine.



Mapa 5. Mapa lokaliteta na kojima je vršen monitoring peščanih mušica u regionu zapadne Srbije sa Šumadijom u periodu od 2015. do 2016. godine

U periodu od dve godine prikupljeno je ukupno 289 primeraka (Tabela 4). Utvrđeno je prisustvo šest vrsta iz roda *Phlebotomus* svrstanih u četiri podroda:

Rod: *Phlebotomus Rondani & Berté, 1840*

Podrod: *Phlebotomus Rondani & Berté, 1840*

Phlebotomus papatasi Scopoli, 1786

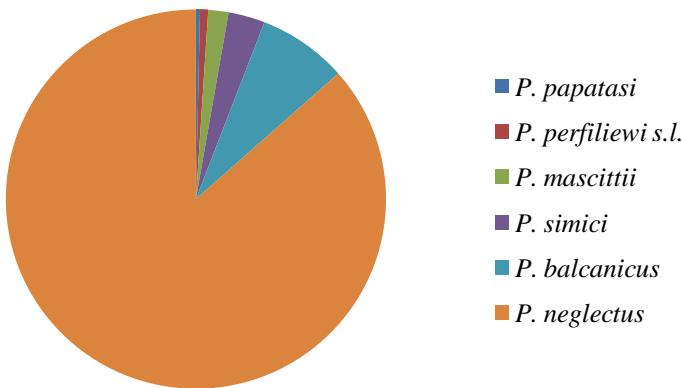
- Podrod: *Transphlebotomus* Artemiev & Neronov, 1984
Phlebotomus mascittii Grassi, 1908
- Podrod: *Larroissius* Nitzulescu, 1931
Phlebotomus neglectus Tonnoir, 1921
Phlebotomus perfiliewi s.l. Parrot, 1930
- Podrod: *Adlerius* Nitzulescu, 1931
Phlebotomus simici Nitzulescu, 1931
Phlebotomus balcanicus Theodor, 1958

Lokalitet	Kordinate		Broj jedinki	Datum uzorkovanja	Vrsta i pol
Guberevac	43.8091500	20.7793000	3	25.07.2015.	<i>P. neglectus</i> (3♀)
Polumir	43.5362900	20.6123300	15	27.07.2015.	<i>P. neglectus</i> (9♂/5♀/1NA*)
Sebečevo	43.0833800	20.4117400	1	29.07.2015.	<i>P. neglectus</i> (1♀)
Sopoćani	43.1156300	20.3816700	2	29.07.2015.	<i>P. neglectus</i> (2♀)
Požežina	43.2180500	20.5518200	2	30.07.2015.	<i>P. neglectus</i> (1♂/1♀)
Radošići	43.2971500	20.6885100	37	30.07.2015.	<i>P. neglectus</i> (1♂/32♀/2NA*)
				30.07.2015.	<i>P. perfiliewi</i> s.l. (2♀)
Vučiniće	43.1636900	20.3748800	1	31.07.2015.	<i>P. neglectus</i> (1♀)
Belići	43.1831800	20.3363800	5	31.07.2015.	<i>P. neglectus</i> (2♂/3♀)
Gostun	43.1884500	19.7649700	1	02.08.2015.	<i>P. neglectus</i> (1♀)
Vinicka	43.3251700	19.6447500	3	02.08.2015.	<i>P. neglectus</i> (1♂/2♀)
Nikoljevići	43.7140900	19.8805000	2	06.08.2015.	<i>P. neglectus</i> (2♀)
Krasava	44.4312500	19.4414100	214	09.08.2015.	<i>P. neglectus</i> (21♂/7♀/2NA*)
				13.07.2016.	<i>P. neglectus</i> (107♂/40♀)
				13.07.2016.	<i>P. balcanicus</i> (12♂/10♀)
				09.08.2015.	<i>P. simici</i> (2♂/6♀)
				09.08.2015.	<i>P. mascittii</i> (1♂/1♀)
				13.07.2016.	<i>P. mascittii</i> (1♂/2♀)
				13.07.2016.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
				13.07.2016.	<i>P. neglectus</i> (1♀)
Banja Koviljača	44.5139800	19.1538300	3	11.08.2015.	<i>P. neglectus</i> (2♀)
				11.08.2015.	<i>P. simici</i> (1♀)
Ukupno: 13			Ukupno: 289		

*NA – pol primerka nije poznat

Tabela 4. Lokaliteti sa pozitivnim nalazima peščanih mušica u regionu zapadne Srbije sa Šumadijom u periodu 2014-2016 (kordinate, datuma uzorkovanja, broj jedinki, vrsta i pol)

Najbrojnija vrsta peščane mušice u regionu zapadne Srbije sa Šumadijom je *P. neglectus* sa 250 (101♀, 144♂, 5 NA) prikupljenih primeraka. Prisustvo *P. neglectus* je detektovano na svih 13 pozitivnih lokaliteta dok je na čak 10 pozitivnih lokaliteta (76,9%) bio jedina prisutna vrsta. Nakon *P. neglectus* po brojnosti sledi *P. balcanicus* sa 22 prikupljena primeraka (10♀, 12♂), *P. simici* sa 9 primeraka (7♀, 2♂), *P. mascittii* sa 5 (3♀, 2♂), *P. perfiliewi* s.l. sa 2 (2♀), i *P. papatasi* sa 1 primerkom (1♂) (Graf. 5).



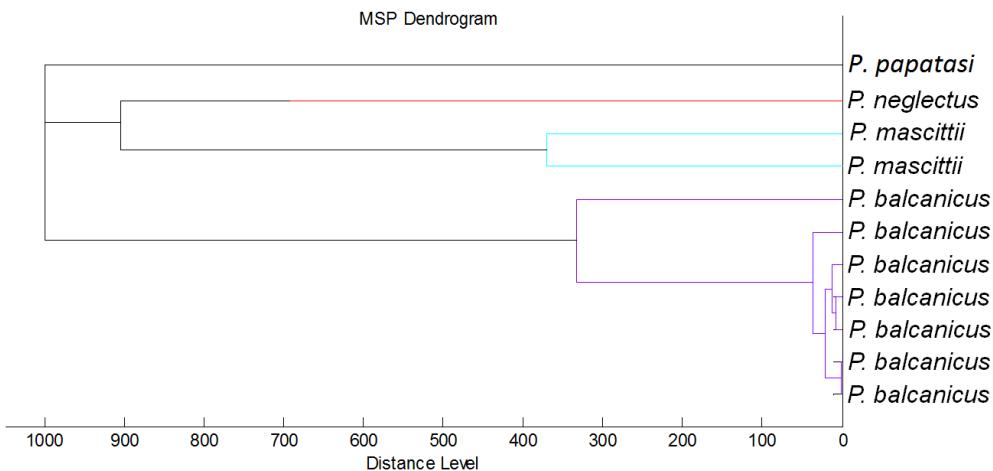
Graf 5. Faunistički sastav peščanih mušica prikupljenih u regionu zapadne Srbije sa Šumadijom u periodu od 2015. do 2016. godine

Faunistička istraživanja zapadne Srbije u prošlosti sprovođena su sporadično i na malom broju lokaliteta pa su dostupne informacije dosta oskudne. Iz dostupne literature (Živković 1950) može se videti da je detektovano prisustvo šest vrsta: *P. papatasi*, *P. neglectus*, *P. balcanicus*, *P. perfiliewi* s.l., *P. tobii* i *P. simici*. Od ukupno šest predhodno prijavljenih vrsta, u okviru ove disertacije detektovano je pet vrsta: *P. papatasi*, *P. neglectus*, *P. balcanicus*, *P. perfiliewi* s.l. i *P. simici* dok prisustvo *P. tobii* nije registrovano. Pored datih vrsta detektovano je prisustvo još jedne vrste – *P. mascittii* koja predstavlja novu vrstu za dati region i Srbiju.

U ovom regionu izražena je izuzetna homogenost uzorka tj. prisutnih vrsta pri čemu je dominantna vrsta *P. neglectus*. Najveći diverzitet vrsta uočen je u Krasavi (četiri). Jedini uzorci *P. balcanicus*, *P. mascittii* i *P. papatasi* prikupljeni u regionu zapadne Srbije uzorkovani su u Krasavi, dok su jedini uzorci *P. perfiliewi* s.l. prikupljeni u selu Radošići nadomak granice sa Kosovom. Uzorci *P. simici* prikupljeni su u Krasavi i Banji Koviljači. Na svim ostalim lokalitetima širom zapadne Srbije detektovano je prisustvo samo jedne vrste – *P. neglectus*.

U okviru ove disertacije istraženi su lokaliteti zapadne Srbije u kojima nikada u prošlosti nisu vršena faunistička istraživanja peščanih mušica. Dobijeni rezultati predstavljaju prve podatke o diverzitetu peščanih mušica u Zlatiborskom, Moravičkom i Raškom okrugu.

Svi uzorci prvobitno su identifikovani na osnovu morfoloških karaktera reproduktivnih organa i glave. Inicijalna morfološka identifikacija primeraka prikupljenih u toku 2015. je potom potvrđena sekvencioniranjem COI regiona mitohondrijalnog gena. Morfološka identifikacija primeraka prikupljenih u toku 2016. podvrgnuta je analizi proteinskog spektra primenom Maldi-Tof metode. Dobijene sekvence za vrste: *P. balcanicus* i *P. mascittii* dodate su bazi podataka GenBank. Rezultati Maldi-Tof analize za vrste *P. neglectus*, *P. balcanicus*, *P. mascittii* i *P. papatasi* prikazani su na dendrogramu (Graf. 6) a dobijeni proteinski spektri datih vrsta biće prikuljučeni jedinstvenoj bazi podataka koja je trenutno u fazi osnivanja.



Graf 6. Dendrogram proteinskog spektra određenih vrsta peščanih mušica prikupljenih u regionu zapadne Srbije (Vizuelni prikaz: Dvorak V.)

Na osnovu pregleda dostupne literature može se zaključiti da je u prošlosti brojnost peščanih mušica u ovom regionu Srbije bila krajnje oskudna. U toku prošlog veka najdominantnija vrsta, po broju prikupljenih primeraka ali i po arealu rasprostranjenja bio je *P. papatasi* (Živković 1980). Ova vrsta bila je detektovana na gotovo svim istraživanim lokalitetima zapadne Srbije sa Šumadijom, međutim njena brojnost je bila značajno niža u poređenju sa detektovanom brojnošću u regionu istočne i jugoistočne Srbije. Nakon *P. papatasi* po svojoj brojnosti sledi *P. neglectus* (Živković 1980), detektovan na većini lokaliteta u značajno nižem broju nego *P. papatasi*. Vrste *P. simici*, *P. balcanicus* i *P. perfiliewi* s.l. registrovane su na svega nekoliko lokaliteta sa zamenarljivim brojem primeraka (Živković 1950), dok je u toku istraživanja prikupljen svega jedan uzorak *P. tobbi* (Živković 1950).

Naši rezultati ukazuju da je u datom regionu kao i u svim ostalim delovima Srbije, došlo do promene diverziteta i brojnosti peščanih mušica. *Phlebotomus neglectus* je sada dominantna vrsta po broju prikupljenih primeraka ali i po arealu rasprostranjenja. *Phlebotomus papatasi*, predhodno dominantna vrsta, sada je izuzetno retka i u periodu od dve godine prikupljen je samo jedan uzorak.

Treba istaći da je od ukupno 289 primeraka prikupljenih u ovom regionu, 214 je uhvaćeno na lokalitetu Krasava (40 u toku 2015, 174 primeraka u toku 2016). Ove vrednosti su krajnje ekstremne ukoliko se uporede sa brojnim vrednostima prikupljenih primeraka sa drugih lokaliteta u datom regionu ali i širom Srbije.

10. PEŠČANE MUŠICE PRISUTNE NA TERITORIJI REPUBLIKE SRBIJE

10.1. *Phlebotomus (Phlebotomus) papatasi* Scopoli, 1786

Sinonimi: *Bibio papatasi* (Scopoli, 1786)
Cinypes molestus (Costa, 1843)
P. breviventris (Ristorcelli, 1941)

Phlebotomus papatasi je prva vrsta peščane mušice koja je opisana. Prve opise dao je Scopoli 1786. godine na osnovu nalaza iz Milana, Italija (Scopoli 1786). Originalni naziv *Bibio papatasi* zamenjen je 1982. godine sa definicijom roda *Phlebotomus* od strane Lewis (Lewis 1982).

Phlebotomus papatasi je domaća vrsta flebotomine sa veoma izraženom antropofilijom te se prevashodno može naći u naseljenim mestima. Primerci ove vrste uglavnom su hvatani u kućama gde borave ljudi, ali i u skloništima za domaće životinje. Prisustvo *P. papatasi* je retko kada zabeleženo na otvorenim prostranstvima ili privremenim skloništima. Iako ima širok areal distribucije širom sveta, ova vrsta preferira područja sa višim letnjim temperaturama i sa manjom količinom padavina.

Geografska distribucija *P.papatasi* u svetu

Phlebotomus papatasi je peščana mušica koja ima najširi areal rasprostranjenja. Prisustvo ove vrste detektovano je u Evropi, Aziji i Africi. Ova peščana mušica registrovana je u svim Mediteranskim zemljama od Portugala (ECDC 2016a) i Španije (Risueño et al. 2017), preko Francuske (Prudhomme et al. 2015), Italije (Dantas-Torres et al. 2014), Slovenije (Ivović et al. 2015), Hrvatske (Bosnić et al. 2006), Bosne i Hercegovine (ECDC 2016a), Crne Gore (Ivović et al. 2003) i Albanije (Velo et al. 2005) do Grčke (Ivović et al. 2007), Kipra i Turske (Hamarsheh et al. 2009). Pored Mediteranskih zemalja *P. papatasi* nađen je i u zemljama Centrale i Jugoistočne Evrope poput Makedonije (Simić and Živkovic 1948), Kosova¹ (Simić and Živkovic 1948), Srbije (Simić and Živkovic 1948), Bugarske (ECDC 2016a), Rumunije (Dancesco 2008) i Mađarske (Farkas et al. 2011).

Na Afričkom kontinentu prisustvo *P. papatasi* detektovano je u Tunisu (Abdeladhim et al. 2012), Maroku, Sudanu, Egiptu, Alžiru (Hamarsheh et al. 2009), Libiji, Etiopiji i Nigeru (WRBU 2016a).

U Azijskim zemljama prisustvo ove vrste zabeleženo je u Turkmenistanu (Bakhshi et al. 2013), Uzbekistanu (Krüger et al. 2011), Kuvajtu (Hussein 1983), Siriji (Haddad et al. 2015), Avganistanu (Krüger et al. 2011), Jermeniji (WRBU 2016a), Azerbejdžanu (WRBU 2016a), Džordžiji (Giorgobiani et al. 2012), Kazahstanu, Omanu (WRBU 2016a), Nepalu, Iraku, Jordanu, Palestini, Pakistanu (Hamarsheh et al. 2009), Saudijskoj Arabiji (Al-Ajmi et al. 2015), Libanu (Haddad et al. 2003), Indiji (Srinivasan et al. 1993), Iranu, Jemenu, Nepalu i Šri Lanki (WRBU 2016a).

Geografska distribucija *P. papatasi* u Srbiji

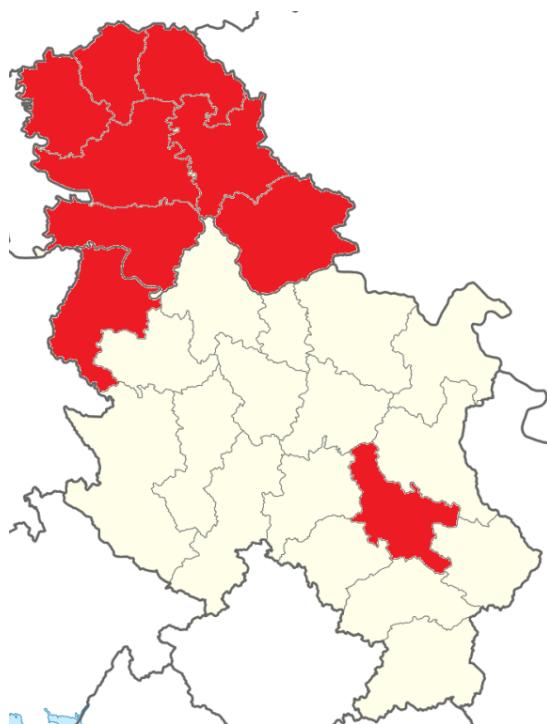
Od svih vrsta peščanih mušica koje su detektovane u Srbiji, *P. papatasi* ima najširu distribuciju. Od 264 istraživana lokaliteta širom Srbije (1947-1990) njegovo prisustvo registrovano je na gotovo svim (Živkovic 1980). Najveća brojnost ove vrste zabeležena je u regionu istočne i jugoistočne Srbije i

¹ Prema ustavu Republike Srbije Pokrajina Kosovo i Metohija je sastavni deo teritorije Srbije i ima položaj suštinske autonomije u okviru suverene države Srbije

to u oblasti Vranja, Leskovca, Niša i Aleksinca. Veći broj primeraka registrovan je i na istraživanim lokalitetima uz Dunav i Moravu. Nešto niži broj primeraka detektovan je u Titovom Užicu, Valjevu i Sicevu. Mali broj uzorakla je registrovan širom Banata (sa izuzetkom 1950). Prema navodima Živković (Živkovic 1980) ova vrsta peščane mušice nikad nije hvatana na otvorenim ili šumovitim prostorima, gde je temperatura niža a procenat padavina viši. U našoj državi *P. papatasi* je pretežno domaća vrsta peščane mušice i najčešće je hvatana u kućama gde borave ljudi kao i u oborima sa životnjama.

U toku višegodišnjeg monitoringa peščanih mušica na teritoriji Republike Srbije prikupljeno je ukupno 134 jedinke *P. papatasi* (Prilog 3). Poredivši starije dostupne podatke sa novim, može se uočiti da je došlo do značajnih promena kako brojnosti tako i geografske distribucije ove vrste. Prema navodima Živković (Živkovic 1980) ova vrsta imala je veoma širok areal rasprostranjenja u Srbiji i bila je prisutna u velikom broju tokom svih godina istraživanja. Rezultati našeg istraživanja ukazuju na to da je brojnost *P. papatasi* drastično opala, kao i da je geografska distribucija krajnje ograničena.

Najveći broj primeraka sakupljen je u regionu Vojvodine gde je u periodu od tri godine registrovano 129 jedinki sa 44 lokaliteta. U regionu istočne i jugoistočne Srbije prikupljeno je svega 4 primerka sa 2 lokaliteta. Najniža brojnost zabeležena je u regionu zapadne Srbije gde je, od ukupno 37 istraživanih u samo jednom detektovana svega 1 jedinka *P. papatasi*. Svi uzorci prikupljeni su u naseljenim mestima, prevashodno u kućama gde su boravili ljudi, dok su malobrojni primerci uhvaćeni u skloništima gde su boravile životinje (Mapa 6).



Mapa 6. Distribucija *P. papatasi papatasi* Scopoli, 1786 po okruzima Republike Srbije *

* Grafički prikaz distribucije vrsta peščanih mušica na teritoriji Republike Srbije dat je po uzoru na Evropski Centar za prevenciju i kontrolu bolesti - ECDC (NUTS3 nivo (prikaz po okruzima) predstavlja najpovoljniju administrativnu jedinicu za prikaz distribucije vektorskih vrsta)

Svi prikupljeni uzorci identifikovani su na osnovu morfoloških karaktera reproduktivnih organa i organa glave prikazanih u daljem tekstu. Identifikacija je potvrđena sekvencioniranjem COI regionalnog mitohondrijalnog gena i analizom proteinskog spektra Maldi-Tof metodom.

Uzorci prikupljeni u toku 2013. godine analizirani su u Laboratoriji za istraživanje ekologije vektora na Biološkom departmanu Fakulteta prirodnih nauka, Hacettepe Univerziteta u Ankari, Turska. Dobijene sekvene priključene su bazi podataka GenBank pod jedinstvenim registarskim brojem BankIt1997035 Seq1, KY848828.

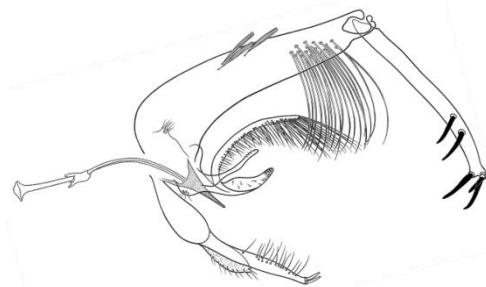
Uzorci prikupljeni u toku 2014. i 2015. godine analizirani su u Laboratoriji za istraživanje patologije virusa na Medicinskom Fakultetu u Marseju, Francuska a dobijene sekvene priključene su bazi podataka GenBank.

Uzorci prikupljeni u toku 2016. godine analizirani su na Departmanu za parazitologiju Fakulteta za nauku na Čarls Univerzitetu u Pragu, Češka Republika. Dobijeni proteinski spektri će biti priključeni jedinstvenoj bazi podataka koja je trenutno u izradi.

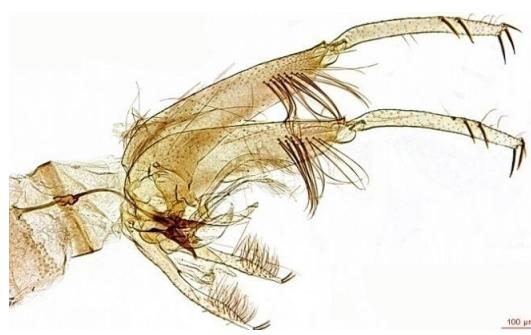
Na osnovu dostupnih podataka može se uočiti da je brojnost ove vrste niska u svim istraživanim regionima Srbije sa prosekom 1-2 jedinke po lokalitetu. Takođe se može uočiti da je vrsta široko rasprostranjena u regionu Vojvodine, dok se sporadični primerci mogu pronaći južnije od Dunava. Ovakva geografska distribucija je u skladu sa navodima Živković (1980) da je *P. papatasi* u našoj zemlji domaća vrsta flebotomine, koja preferira topla i suva leta.

Morfološke i anatomske karakteristike reproduktivnih organa mužjaka *P. papatasi*

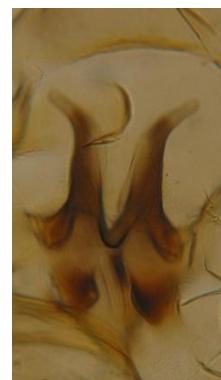
Koksopoditi mužjaka *P. papatasi* su dosta dugački. Pri bazi koksopodita uočava se mala blago pečurkasta izraslina sa kratkim grupisanim dlačicama. U drugoj polovini članka može se jasno uočiti grupacija dugačkih dlaka. Stiliopoditi su duplo tanji i gotovo jednake dužine kao koksopoditi. Stilopoditi nose 5 kratkih trnova od kojih su tri smeštena na samom vrhu članka a dva su u njihovoj blizini. Paramere su izgrađene od tri članka: bazalnog koji je spljošten, medijalnog koji je tanak i izdužen i terminalnog koji je gusto obrastao dlakama i koji se pruža u vidu srpa. *Syrstules* su slične dužine kao koksopoditi, dosta su kratke i na svom terminalnom kraju nose dva kraća trna (Šema 59; Slika 98). Edeagusi su kratki, pri vrhu blago zaobljeni ka spoljašnjoj strani (Slika 99).



Šema 59. Spoljašnje i unutrašnje genitalije mužjaka *P. papatasi* (Izvor: Leger N.)



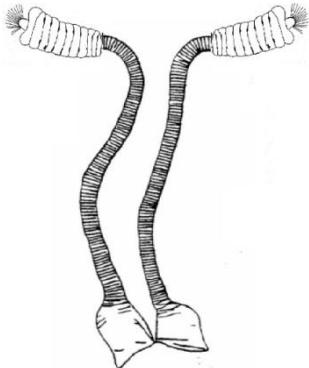
Slika 98. Spoljašnje i unutrašnje genitalije mužjaka *P. papatasi* (Izvor: <http://bioinfo-web.mpl.ird.fr>)



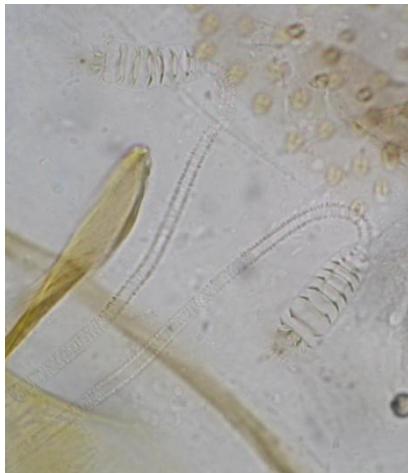
Slika 99. Edeagus *P. papatasi* (Foto: Slavica Vaselek)

Morfološke i anatomske karakteristike reproduktivnih organa ženki *P. papatasi*

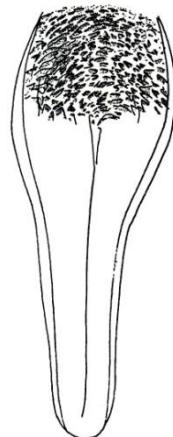
Spermateke *P. papatasi* čine slabo sklerotizovane ali uglavnom jasno uočljive baze zvonastog oblika. Na njih se nastavljaju dugački plitko segmentisani spermatekalni duktovi koji nose cilindrične prstenasto segmentisane komore. Vrat spermateke se ne može uočiti, tako da sa vrha komore spermateke izviruje krupna glava sa mnogobrojnim žlezzdama (Šema 60; Slika 100). Kao dopunski karakter prilikom identifikacije koristi se izgled faringijalne armature koji je prikazan na šemi 61 i slici 101.



Šema 60. Spermateke *P. papatasi* (Originalni izvor: Killick-Kendrick R.)



Slika 100. Spermateke *P. papatasi* (Foto: Slavica Vaselek)



Šema 61. Farinks *P. papatasi* (Izvor: Leger N.)



Slika 101. Farinks *P. papatasi* (Foto: Slavica Vaselek)

Vektorski potencijal vrste *P. papatasi*

Phlebotomus papatasi je specifični vektor *L. major* (Dostálová and Wolf 2012) – druge vrste *Leishmania* sp. ne završavaju svoj razvoj u potpunosti tj. ne dolazi do obrazovanja infektivnih formi promastigota; promastigoti bivaju izbačeni iz organizma sa ostacima nesvarene krvi (Dostálová and Wolf 2012). *Leishmania major* je glavni uzročnik kutanog oblika lajšmanioze u svetu i smatra se da je *P. papatasi* glavni vektor ovog parazita. Pored *L. major* iz *P. papatasi* su do sada izolovani Napuljski i Sicilijanski serotip flebovirusa (Jennings and Boorman 1983).

10.2. *Phlebotomus (Larroussius) neglectus* Tonnoir, 1921

Sinonim: *P. major* (Tonnoir, 1921)

Vrstu *P. neglectus* prvi put je opisao Tonnoir 1921. godine na osnovu materijala poreklom iz Albanije, Bosne i Hercegovine, Dalmacije i Italije koji je bio deponovan u Prirodnjačkom muzeju u Beču (Tonnoir 1921). Iako je vrsta opisana još davne 1921. ona je ostala relativno nepoznata te je do sredine osamdesetih još uvek identifikovana kao *P. major*. Ovaj naziv se u našoj drzavi zadržao sve do 1996. godine i može se pronaći u svoj dostupnoj literaturi.

Phlebotomus neglectus je na osnovu morfoloških karaktera svrstan u rod *Phlebotomus* i podrod *Larroussius*. U taksonomskom pregledu roda *Phlebotomus* Lewis (Lewis 1982) smatra da su *P. major neglectus*, *P. major krimensis* i *P. major syriacus* podvrste vrste *P. major*. Lewis date podvrste razlikuje na osnovu relativne veličine tela, proporcije faringelne duplje i izgleda armature kao i broja dlačica na bazalnim koksitima gornjih gonapofiza mužjaka. Artemiev i Neronov (Artemiev and Neronov 1984) u svom ključu za flebotomine Starog sveta sve tri pomenute podvrste definišu kao jednu vrstu – *P. neglectus*. Godinu dana kasnije Leger (Leger et al. 1985) svrstava *P. major neglectus* i *P. major krimensis* u jednu istu vrstu – *P. neglectus*, dok *P. syriacus* izdvaja u posebnu vrstu.

Većina istraživača je prihvatile sistematsku kategorizaciju datu od strane Leger et al. (Leger et al. 1985) međutim konačan filogenetski status *P. neglectus* mora biti potvrđen detaljnog genetičkom i morfometrijskom analizom svih populacija, s obzirom na to da postoje neslaganja i u tradicionalnom morfološkom i molekularno biološkom pristupu sistematici ove vrste (Di Muccio et al. 2000).

P. neglectus je poludivlja vrsta peščane mušice što znači da se može naći kako u naseljenim mestima tako i na otvorenim prostorima. Razvojni ciklus *P. neglectus* je vezan za staništa sa povećanom vlažnošću (Chaniotis and Tselentis 1996) te se ova peščana mušica veoma često može naći u blizini vodenih tokova i jezera, kao i na malo većoj nadmorskoj visini gde ima dosta šumovitijih regiona pa letnje temperature nisu toliko visoke.

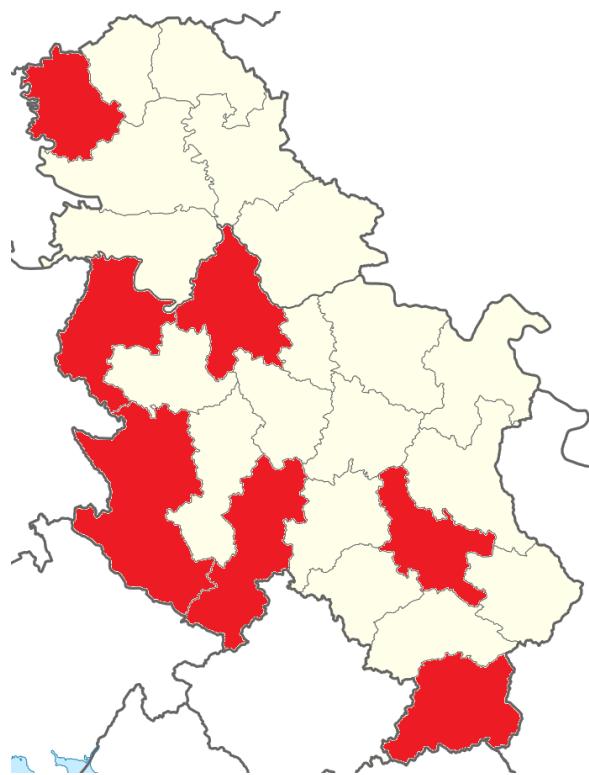
Geografska distribucija *P. neglectus* u svetu

Današnje granice rasprostiranja *P. neglectus* obuhvataju oblast centralnog i istočnog Mediterana, od istočnih obala Sredozemnog mora (Leger and Depaquit 2002) preko severne Italije i Balkana sve do jugoistočne Turske. *Phlebotomus neglectus* je značajno zastupljen u priobalnim oblastima centralnog Mediterana i može se naći na Malti (Leger et al. 1991), Italiji (Maroli et al. 2002), Sloveniji (Ivović et al. 2015), Hrvatskoj (Bosnić et al. 2006), Bosni i Hercegovini (Simić et al. 1951), Crnoj Gori (Ivović et al. 2003), Kosovu (Simić and Živkovic 1948), Makedoniji (Simić and Živkovic 1948), Albaniji (Velo et al. 2005). U istočnom Mediteranu zastupljen je na većini Grčkih ostrva (Papadopoulos and Tselentis 1998) kako u Jonskom (Papadopoulos and Tselentis 1998) tako i u Egejskom moru (Pesson et al. 1984), u Turskoj (Simsek et al. 2007) i u Libanu (Haddad et al. 2003). Postoje literaturni podaci da je ova vrsta nalažena i na Krimskom poluostrvu i Gruziji gde se pominje kao podvrsta *krimensis* (Perfiliev P.P. 1966). Prateći slivove velikih reka duboko zalazi u kopno uglavnom u granicama submediteranske klime pa se može naći čak i u Bugarskoj (ECDC 2016b) kao i u rumunskom Podunavlju (Dancesco 2008). Do sada nije nalažen na Afričkom kontinentu, kao ni na Kipru (Léger and Depaquit 2001).

Geografska distribucija *P. neglectus* u Srbiji

Prema literaturnim navodima vrsta *P. neglectus* se u Srbiji mogla naći gotovo u svim istraživanim regionima i po broju pozitivnih lokaliteta je odmah iza *P. papatasi* (Simić 1950a). Malobrojni primerci uhvaćeni su u južnim delovima zemlje oko Vranja, Leskovca i Vladičinog Hana kao i u centralnoj Srbiji u selima oko Velike i Zapadne Morave (Simić 1950a). Sporadični primerci nalaženi su u regionu Velike Plane, Velikog Gradišta, Negotina, Brze Palanke, Kladova i na nekoliko mesta u Banatu (Vojvodina) (Simić et al. 1951). Veći broj primeraka hvatan je u istočnoj Srbiji u regionu Knjaževca, Zaječara kao i uz sliv Nišave i u oblasti između Niša i Prokuplja (Simić 1950a). U zapadnoj Srbiji ova vrsta peščane mušice je pronalažena u Loznicama, Vranju, Krupnju i na gotovo svim istraživanim lokalitetima gde je ujedno bila i dominantna vrsta (Živković 1950).

Na osnovu rezultata dobijenih u periodu 2013-2016. (Prilog 4) može se zaključiti da je vrsta *P. neglectus* široko rasprostranjena u regionu zapadne Srbije sa Šumadijom kao i u regionu istočne i jugoistočne Srbije, što je i u skladu sa dostupnim literaturnim podacima. U regionu istočne i jugoistočne Srbije je u toku 2014. i 2016. godine prikupljeno ukupno 35 primeraka ove vrste. Prisustvo ove peščane mušice je registrovano na 7 od ukupno 9 istraživanih lokaliteta (77,8%), dok je na čak 4 lokaliteta *P. neglectus* bio jedina prisutna vrsta. U regionu zapadne Srbije sa Šumadijom *P. neglectus* je dominantna vrsta sa 249 prikupljenih primeraka. Od ukupno 13 pozitivnih lokaliteta njegovo prisustvo registrovano je na svim, dok je na 10 lokaliteta bio jedina prisutna vrsta. Utvrđeno je da je *P. neglectus* prisutan u severnim i južnim delovima države u manjem broju što se takođe poklapa sa dostupnim podacima. U Vojvodini je u periodu od 3 godine (2013-2015) sa 80 istraživanih lokaliteta prikupljen samo jedan primerak i to 20.08.2015. godine u mestu Svetozar Miletić. U južnim delovima države takođe je prikupljen samo jedan primerak 02.09.2015. u mestu Masurica (Mapa 7).



Mapa 7. Distribucija *P. neglectus* Tonnoir, 1921 po okruzima Republike Srbije

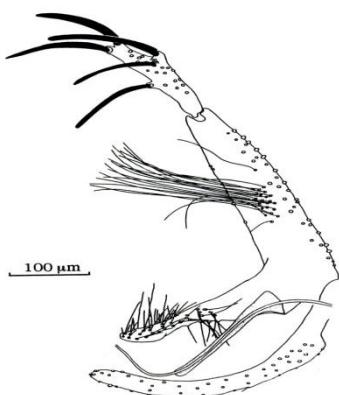
Svi prikupljeni primerci identifikovani su na osnovu morfoloških karaktera reproduktivnih organa i organa glave prikazanih u daljem tekstu. Identifikacija je potvrđena sekvencioniranjem COI regiona mitohondrijalnog gena i analizom proteinskog spektra Maldi-Tof metodom.

Uzorci prikupljeni u toku 2014. i 2015. godine analizirani su u Laboratoriji za istraživanje patologije virusa na Medicinskom Fakultetu u Marseju, Francuska. Dobijene COI sekvene priključene su bazi podataka GenBank.

Uzorci prikupljeni u toku 2016. godine analizirani su na Departmanu za parazitologiju Fakulteta za nauku na Čarls Univerzitetu u Pragu, Česka Republika. Dobijene COI sekvene priključene su GenBank. Dobijeni proteinski spektri biće priključeni jedinstvenoj bazi podataka koja je trenutno u izradi.

Morfološke i anatomske karakteristike reproduktivnih organa mužjaka *P.neglectus*

Spoljašnje genitlije mužjaka *P. neglectus* (Slika 102) imaju tipičnu građu i njihov grafički prikaz dat je na šemi 62. Prisutni su jaki koksopoditi na kojima se uočavaju čuperci dugačkih dlaka skoncentrisani pri sredini članka. Na koksopodite se nastavljaju skoro upola kraći stilopoditi sa pet dugačkih trnova. Paramere su nešto kraće od koksopodita i gusto obrasle dlakama. *Syrstules* su tanki i dosta duži od koksopodita. *Corpus intromitans* (parni penis) kod *P. neglectus* ima ovalno proširene krajeve i najviše podseća na palice za doboš (Slika 103).



Šema 62. Spoljašnje genitalije *P. neglectus* (Izvor: Leger N.)



Slika 102. Spoljašnje i unutrašnje genitalije *P. neglectus* (Izvor: Leger N.)

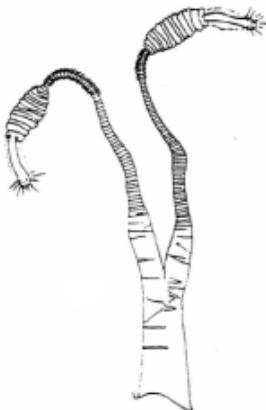


Slika 103. Edeagus *P. neglectus* (Izvor: Leger N.)

Morfološke i anatomske karakteristike reproduktivnih organa ženki *P. neglectus*

Spermateke *P. neglectus* ženki su tipske građe za podrod *Larroussious* i sastoje se iz baze, prstenasto segmentisane komore i izduzenog vrata sa žlezdanom glavom na vrhu. Kod *P. neglectus* baze parnih spermateka su srasle u jedinstveni kanal koji je bez dodatnih izrastaja, glatke i transparentne strukture. Jedinstveni kanal baze spermateke je relativno kratak i ubrzo se razdvaja na dva zasebna kanala koji su pri svom početku iste glatke strukture kao baza. Parni kanali spermateke ubrzo se nabiraju pa se na njima mogu uočiti zgušnuti plitki prstenasti nabori koji se protežu sve do komore. Komora tj. telo spermateke može imati 14-15 prstenova, jasno izdiferenciranih i uočljivih. Na komoru se nastavlja izduženi vrat koji na svom terminalnom kraju nosi glavu sa žlezdanim

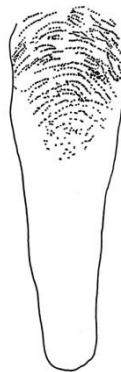
“čupercima”. Dužinu vrata kod *P. neglectus* nikada ne prelazi 22 µm a vrat obavlja fini veo u obliku kragne. Izgled spermateka *P. neglectus* je grafički prikazan na šemama 63 i 64 i slikama 104 i 105.



Šema 63. Spermateke *P. neglectus* (Originalni izvor: Killick Kendrick R.)



Šema 64. Spermateka *P. neglectus* (Originalni izvor: Killick Kendrick R.)



Šema 65. Farinks *P. neglectus* (Originalni izvor: Killick Kendrick R.)



Slika 104. Spermateke *P. neglectus* (Izvor: Leger N.)



Slika 105. Spermateka *P. neglectus* (crvena strelica – komora; plava strelica – veo koji obavlja vrat) (Izvor: Leger N.)



Slika 106. Farinks *P. neglectus* (Izvor: Leger N.)

Najveći problem u identifikaciji *P. neglectus* javlja se na istočnim granicama areala ove vrste, na području južne Turske, Sirije, Libana i Izraela, gde dolazi do preklapanja sa arealom *P. syriacus*. *Phlebotomus syriacus* je vrsta koja je opisana na osnovu specifičnosti u građi faringealne duplje kod ženki. Faringealnu duplju ženki *P. syriacus* karakteriše veoma izražena armatura u obliku zubaca i grebenića koja obuhvata 1/3 dužine ovog organa, dok se faringealna armatura kod *P. neglectus* proteže na 2/3 ovog organa (Šema 65; Slika 106). Takođe, ženke *P. syriacus* je moguće razlikovati na osnovu dužine vrata spermateke (duži od 26 µm), kragna oko vrata je odsutna a poslednji segment komore spermateke je malo više udubljen tako da vizuelno daje izgled upalog vrata.

Kod podroda *Larroussius* baza spermateke je jedan od najvažnijih karaktera za identifikaciju ženki obzirom da broj prstenova na komori spermateke u okviru vrste može da varira, i da se broj prstenova kod različitih vrsta često preklapa. Ukoliko se baza spermateke ne može jasno videti, kao dopunski karakter neophodno je pogledati izgled farinksa.

Vektorski potencijal vrste *P. neglectus*

Phlebotomus neglectus kao i mnogobrojni drugi predstavnici podroda *Larroussius* ispoljava sposobnost razvoja infektivnih formi promastigota i ujedno transmisije parazita lajšmanije. U Evropi *P. neglectus* je dokazani vektor *L. infantum* – uzročnikom visceralne i kutane pseće lajšmanioze (Antoniou et al. 2013), dok je u Srbiji (potencijalno i u drugim zemljama bivše Jugoslavije) ovu ulogu delio sa *P. perfiliewi* s.l. (Živković 1982, Živkovic 1983). *Phlebotomus neglectus* je označen kao glavni vector *L. infantum* na Krfu (Léger et al. 1988) i Kritu (Christodoulou et al. 2012), dok je nedavno utvrđeno da ova vrsta igra značajnu ulogu u transmisiji *L. infantum* u oblasti Bara u Crnoj Gori (Ivović et al. 2003).

10.3. *Phlebotomus (Larroussius) perfiliewi* s.l. Parrot, 1930

- Sinonim: *P. macedonicus* (Adler & Theodor, 1931)
Podvrste: *P. perfiliewi transcaucasicus* (Perfiliev, 1937)
P. perfiliewi galilaeus (Theodor, 1958)

Vrsta *Phlebotomus perfiliewi* prvi put je opisana na osnovu četiri primerka (δ) sa Krima koje je prikupio Perfiliev 1930. godine (Parrot 1930). Već 1931. godine Adler i Theodor (Adler and Theodor 1931) na osnovu primeraka prikupljenih u Makedoniji opisuju novu vrstu pod nazivom *P. macedonicus*, koja na osnovu morfološke građe reproduktivnih organa veoma podseća na *P. perfiliewi*. Dve godine kasnije prisustvo *P. macedonicus* detektovano je u Italiji (Nitzulescu 1933), a na osnovu nalaza date vrste u Mađarskoj dobijeni su prvi opisi ženki i detaljniji opisi mužjaka. Zbog izuzetne sličnosti morfoloških karaktera ove dve vrste Parrot 1935. predlaže da *P. macedonicus* i *P. perfiliewi* budu sinonimi.

Poredivši poziciju srednjeg (medijalnog) trna na stilopoditu, dužinu distalnog dela paramera i obojenost edeagusa kod *P. perfiliewi* sa uzorcima prikupljenim na Kavkazu u Bakuu i Azerbejdžanu, Perfiliev 1937. opisuje varijetet pod nazivom *P. perfiliewi var. transcaucasicus* (Perfiliev P.P. 1937). Theodor 1958. na osnovu pregleda antenalne formule, prisustva izuzetno dugog i uzanog edeagusa koji je na vrhu zaobljen, opisuje podvrstu *Phlebotomus perfiliewi galilaeus* (Theodor 1958) koja se mogla naći u Izraelu, Palestini i Kipru.

Uočivši da su *P. perfiliewi*, *P. perfiliewi var. transcaucasicus* i *Phlebotomus perfiliewi galilaeus* morfološki izuzetno slični, Perfiliev 1966. godine predlaže da *P. macedonicus* bude sinonim za vrstu *P. perfiliewi* a da *P. perfiliewi var. transcaucasicus* i *Phlebotomus perfiliewi galilaeus* budu označene kao podvrste *P. perfiliewi* (Perfiliev P.P. 1966).

Artemiev i Neronov 1984. (Artemiev and Neronov 1984) date podvrste izdižu na nivo vrste pri čemu *P. perfiliewi* jasno izdvajaju na osnovu izgleda transparentne zone na edeagusu, dok se prema istoimenim autorima vrste *P. transcaucasicus* i *P. galilaeus* razlikuju na osnovu antenalne formule. Morfometrijskim analizama populacija sve tri vrste uočeno je da postoje određene morfološke razlike koje su u skladu sa predloženom taksonomijom kao i geografskom distribucijom vrsta. Međutim, sekvencioniranjem citohroma b, kao i analizom ITS2 utvrđeno je da postoje određena preklapanja između vrsta (Depaquit et al. 2013). Iz tih razloga taksonomski predlog Artemieva i Neronova 1984. nije prihvaćen od strane svih autora.

Taksonomski status vrste *P. perfiliewi* još uvek nije jasno definisan. Mnogi autori smatraju da se radi o varijetetima i podvrstama vrste *P. perfiliewi* dok (Seccombe et al. 1993) drugi čak smatraju da su *P. p. transcaucasicus* i *P. p. galilaeus* sinonimi, ili pak da se radi o kompleksu vrsta.

Phlebotomus perfiliewi je poludivilja vrsta peščane mušice i njeno prisustvo je registrovano kako na otvorenim prirodnim prostranstvima tako i u urbanim sredinama. Najčešće se može naći sa *P. papatasi* pa izgleda da ova vrsta preferira više temperature i manji procenat vlažnosti.

Geografska distribucija *P. perfiliewi* s.l. u svetu

Današnje granice rasprostiranja *P. perfiliewi* s.l. obuhvataju oblast centralnog i istočnog Mediterana, od jugo-istočnih obala Francuske preko Italije, Balkanskih zemalja i Turske sve do

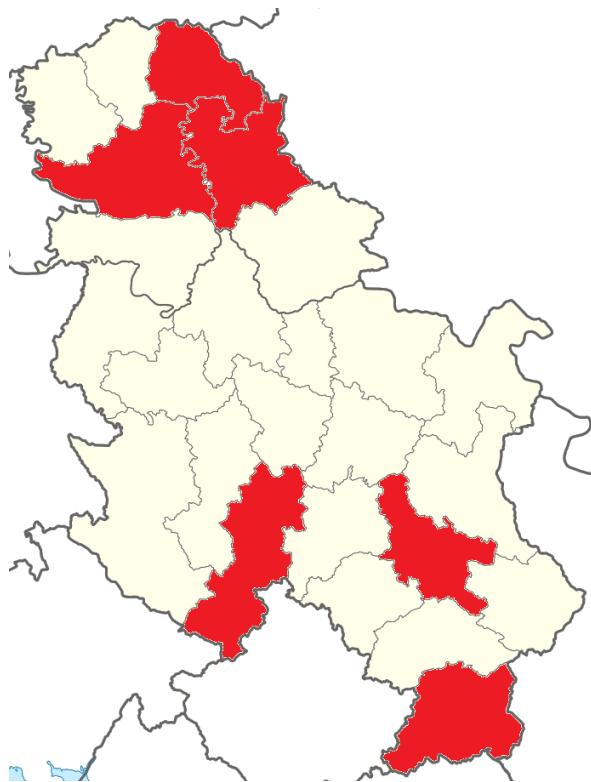
Ukraine i Krima. Prisustvo ove vrste do sada detektovano je u Francuskoj (Izri et al. 1994), Italiji (Phillips et al. 1990), Hrvatskoj (Bosnić et al. 2006), Mađarskoj (Farkas et al. 2011), Crnoj Gori (Ivović et al. 2003), Srbiji, Kosovu, Makedoniji (Simić et al. 1951), Grčkoj (Ivović et al. 2007), Rumuniji (Dancesco 2008), Albaniji (Velo et al. 2005), Turskoj (Ajaoud et al. 2013), Džordžiji (Alten et al. 2016), Ukraini (WRBU 2016b), Krimu (Depaquit, Bounamous, Akhoundsi, Augot, Sauvage, Dvorak, Chaibullinova, Pesson, Volf, and Léger 2013) kao i u Alžiru (Izri and Belazzoug 1993), Maroku (Martinez-Ortega and Conesa-Gallego 1987) i Tunisu (Barhoumi et al. 2015).

Geografska distribucija *P. perfiliewi* s.l. u Srbiji

Phlebotomus perfiliewi s.l. je vrsta koja je u našoj zemlji u prošlosti bila veoma brojna. Po broju lokaliteta na kojima je registrovan i po broju prikupljenih primeraka *P. perfiliewi* s.l. dolazi odmah posle *P. papatasi* (Živković 1983). Najučestaliji i najbrojniji nalazi zabeleženi su u regionu istočne i jugoistočne Srbije (Živković 1983). Veliki broj primeraka prikupljen je sa svih ispitivanih mesta u regionu Niša, posebno na teritoriji između Prokuplja i planine Mali Jastrebac (region Dobriča). Veliki broj primeraka zabeležen je i oko Zaječara i Knjaževca. Manji broj primeraka registrovan je na gotovo svim istraživanim lokalitetima u regionu Vranja i Leskovca, dok je nalaz ove flebotomine u krajnjim jugoistočnim oblastima (Dimitrovgrad, Bela Palanka) gotovo neznatan (Živković 1983). Brojnost vrste takođe opada ka severu države i već u regionu Dunava na potezu Veliko Gradište-Donji Milanovac mogu se naći samo sporadični primerci. U regionu Vojvodine kao i u zapadnoj Srbiji nalaz ove vrste je neznatan (Živković 1983).

Prema navodima Živković (Živković 1983) *P. perfiliewi* s.l. preferira otvorena prostranstva sa slabom vegetacijom, visokim letnjim temperaturama i niskom vlažnošću. To je polu divlja vrsta flebotomine, ali je u našoj državi uglavnom hvatana u urbanim sredinama.

U okviru ove disertacije prikupljeno je svega 11 primeraka *P. perfiliewi* s.l. sa 9 lokaliteta (Prilog 5). Veoma mali broj prikupljenih jedinki jasno sugerije da je došlo do promene brojnosti ove vrste. U regionu istočne i jugoistočne Srbije, pre svega u oblasti Dobriča gde je ova vrsta u prošlosti bila izuzetno brojna (nekoliko desetina ili stotina jedinki po pregledanoj prostoriji) sada je detektovano samo 5 primeraka. U regionu Vojvodine je u periodu 2013-2015 godine prikupljeno samo tri primerka ove vrste. Neznatan broj primeraka prikupljen je u južnim krajevima države (jedan primerak) i u regionu zapadne Srbije sa Šumadijom (dva primerka) (Mapa 8).



Mapa 8. Distribucija *P. perfiliewi* Parrot, 1930 po okruzima Republike Srbije

Svi prikupljeni uzorci identifikovani su na osnovu morfoloških karaktera reproduktivnih organa i organa glave prikazanih u daljem tekstu. Identifikacija je potvrđena sekvencioniranjem COI regionalnog mitohondrijalnog gena i analizom proteinskog spektra Maldi-Tof metodom.

Uzorci prikupljeni u toku 2013. godine analizirani su u Laboratoriji za istraživanje ekologije vektora na Biološkom departmanu Fakulteta prirodnih nauka, Hacettepe Univerziteta u Ankari, Turska. Dobijene sekvence priključene su bazi podataka GenBank pod jedinstvenim registarskim brojem BankIt1997035 Seq2, KY848829.

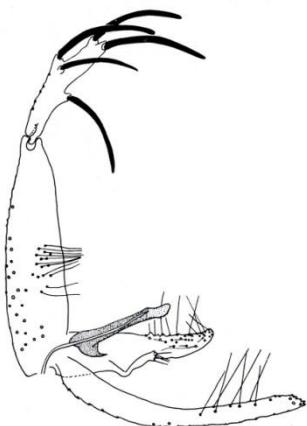
Uzorci prikupljeni u toku 2014. i 2015. godine analizirani su u Laboratoriji za istraživanje patologije virusa na Medicinskom Fakultetu u Marseju, Francuska. Dobijene sekvence priključene su bazi podataka GenBank.

Uzorci prikupljeni u toku 2016. godine analizirani su na Departmanu za parazitologiju Fakulteta za nauku na Čarls Univerzitetu u Pragu, Češka Republika. Dobijene COI sekvence priključene su GenBank. Dobijeni proteinski spektri će biti priključeni jedinstvenoj bazi podataka koja je trenutno u izradi.

Morfološke i anatomske karakteristike reproduktivnih organa mužjaka *P. perfiliewi* s.l.

Spoljašnje genitlije mužjaka *P. perfiliewi* s.l. (Slika 107) imaju tipičnu građu i njihov grafički prikaz dat je na šemici 66. Prisutni su jaki koksopoditi na kojima se uočavaju čuperci dugačkih dlaka skoncentrisani pri sredini članka. Na koksopodite nastavljaju se skoro upola kraći stilopoditi sa pet dugačkih trnova od kojih su 2 pozicionirana na terminalnom kraju, 2 imaju subterminalnu poziciju a jedan je smešten medijalno. Paramere su relativno dugačke i gusto obrasle dlakama. Izgrađene su iz krupnog bazalnog članka i drugog manjeg članka koji je pri vrhu gusto obrastao dlakama. *Corpus*

intromitans (parni penis) kod *P. perfiliewi* s.l. ima proširene krajeve na kojima se uočava transparentna zona karakterističnog oblika (Slika 108). Oblik i veličina transparentne zone je od izuzetnog taksonomskog značaja.



Šema 66. Spoljašnje genitalije *P. perfiliewi* s.l. (Izvor: Leger N.)



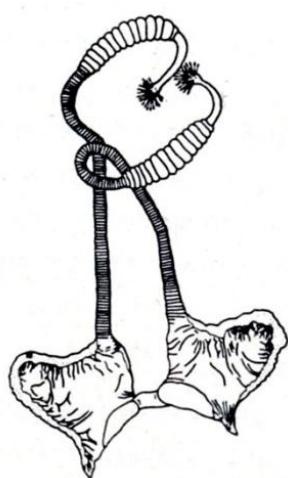
Slika 107. Spoljašnje genitalije *P. perfiliewi* s.l. (Izvor: Leger N.)



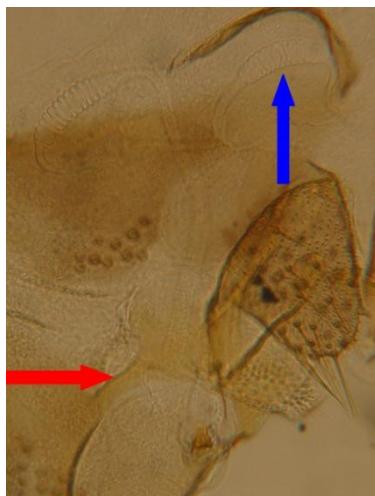
Slika 108. Edeagus *P. perfiliewi* s.l. (Foto: Gizem Oguz)

Morfološke i anatomske karakteristike reproduktivnih organa ženki *P. perfiliewi* s.l.

Spermateke *P. perfiliewi* s.l. ženki su tipske građe za podrod *Larroussious* i sastoje se iz baze, prstenasto segmentisane komore i izduzenog vrata sa žlezdanom glavom na vrhu. Kod *P. perfiliewi* s.l. baze parnih spermateka su veoma proširene i naborane te imaju izgled kroasana. Spermatekalni duktovi su plitko prstenasto nabrani. Komora tj. telo spermateke može imati 14-15 prstenova, jasno izdiferenciranih i uočljivih. Na komoru se nastavlja izduženi vrat koji na svom terminalnom kraju nosi glavu sa žlezdanim "čupercima". Izgled spermateka *P. perfiliewi* s.l. je grafički prikazan na šemi 67 i slici 109. Kao dopunski karakter koristi se izgled farinksa koji je prikazan na šemi 68 i slici 110.



Šema 67. Spermateke *P. perfiliewi* s.l. (Originalni izvor: Killick Kendrick R.)



Slika 109. Spermateke *P. perfiliewi* s.l. (Izvor: Leger N.)



Šema 68. Farinks *P. perfiliewi* s.l. (Originalni izvor: Killick Kendrick R.)



Slika 110. Farinks *P. perfiliewi* s.l. (Izvor: Leger N.)

Morfološka identifikacije *P. perfiliewi* s.l. od ostalih vrsta podroda *Larroussius* nije zahtevna. Međutim, s obzirom da broj prstenova na komorama spermateka može da bude isti kod različitih vrsta ovog podroda, pre svega pažnju treba obratiti na izgled baze spermateka. Najveći problem prilikom identifikacije kako ženki tako i mužjaka, javlja se kod podvrsta *P. perfiliewi galilaeus* i *P. perfiliewi transcaucasicus* te je za preciznu identifikaciju neophodno obaviti molekularne analize.

Vektorski potencijal vrste *P. perfiliewi* s.l.

Phlebotomus perfiliewi s.l. je jedan od glavnih vektora *L. infantum* u Mediteranskom basenu i centralnoj Aziji. Njegova uloga kao vektora potvrđena je u Alžиру (Azizi et al. 2006), Tunisu (Dancesco et al. 1970), Grčkoj (Ntais et al. 2013), Mađarskoj (Farkas et al. 2011), Italiji (Maroli et al. 1987), Rumuniji (Duport et al. 1971). Flebovirusi su detektovani u uzorcima iz Italije – Arabia virus (Verani et al. 1988) i iz Srbije – Napuljski serotip, Jug Bogdanovac virus (Gligic et al. 1981).

10.4. *Phlebotomus (Larroussius) tobbi* Adler, Theodor & Laurie, 1930

Sinonim: *P. pirumovi* (Burakova & Mirzayan, 1934)

Prvi pisani zapis koji se odnose na vrstu *Phlebotomus tobbi* datiraju iz 1930. godine. Usled velike sličnosti u morfološkoj građi mužjaka sa vrstom *P. perniciosus* sve do druge polovine XX veka, dok nisu opisani prvi primerci ženke, *P. tobbi* je smatran za varijetet vrste *P. perniciosus*. I pored toga što je vrsta opisana još davne 1930. godine, i činjenice da je potvrđeni vektor *Leishmania infantum*, vrsta je ostala relativno zanemarena.

Geografska distribucija *P. tobbi* u svetu

Phlebotomus tobbi je vrsta koja ima relativno uzani areal distribucije u Evropi. Prisustvo ove vrste detektovano je prevashodno u zemljama južne i istočne Evrope. Istraživanja vršena u toku predhodnog veka ukazala su na njeno prisustvo u Hrvatskoj (Simić et al. 1950), Crnoj Gori (Ivović et al. 2003), Bosni i Hercegovini (Simić et al. 1951), Makedoniji (Živković et al. 1973), Kosovu i Srbiji (Simić and Živković 1949). Prema dostupnoj literaturi utvrđeno je da je vrsta prisutna i u Italiji (WRBU 2016c), Albaniji (Velo et al. 2005), Azerbejdžanu (Oshaghi et al. 2013), Grčkoj (Ivović et al. 2007), Džordžiji (Giorgobiani et al. 2012), Iranu (Bahrami et al. 2014), Izraelu (Müller et al. 2011), Libanu (Haddad et al. 2003), Siriji (Haddad et al. 2015), Palestini (Sawalha et al. 2017), Turskoj (Svobodová et al. 2009).

Geografska distribucija *P. tobbi* u Srbiji

U granicama bivše Jugoslavije prisustvo ove flebotomine registrovano je u Hrvatskoj, Crnoj Gori, Bosni i Hercegovini, Makedoniji, Kosovu i Srbiji (Simić 1950a). *Phlebotomus tobbi* je poludivlja vrsta flebotomine i u svim istraživanim zemljama regiona bio je zastupljen u populacijama niske brojnosti. Prema navodima Simića najsevernija granica rasprostranjenja *P. tobbi* u našoj zemlji je Brestovac (Simić 1950a). Prisustvo ove vrste nije detektovano u regionu Vojvodine, dok je u regionu zapadne Srbije sa Šumadijom prikupljen samo jedan primerak u mestu Mali Zvornik (Živković 1950). Najveći broj primeraka zabeležen je u okolini Vranja, a pored Pčinjskog okruga prisustvo ove peščane mušice zabeleženo je u okolini Leskovca (Živković 1969).

U okviru ove disertacije prisustvo *P. tobbi* zabeleženo je na pet lokaliteta (Prilog 6) u regionu istočne i jugoistočne Srbije pri čemu je prikupljeno 27 primeraka (Mapa 9).

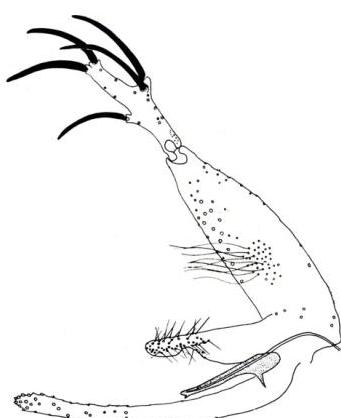
Vrsta je identifikovana na osnovu morfoloških karaktera spoljašnjih genitalija mužjaka, spermateka, cibarijalne i faringijalne duplje. Morfološka identifikacija potvrđena je sekvencioniranjem COI regiona mitohondrijalnog gena. Analize su vršene u Laboratoriji za istraživanje patologije virusa na Medicinskom Fakultetu u Marseju, Francuska. Dobijejne sekvence su dodate u GenBank.



Mapa 9. Distribucija *P. tobbei* Adler, Theodor & Laurie, 1930 po okruzima Republike Srbije

Morfološke i anatomske karakteristike reproduktivnih organa mužjaka *P. tobbei*

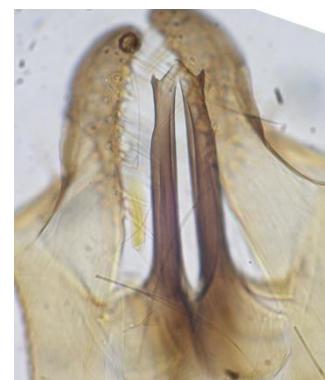
Grafički prikaz spoljašnjih genitlija mužjaka *P. tobbei* dat je na Šemici 69. Prisutni su jaki koksopoditi na kojima se uočavaju čuperci dugačkih dlaka skoncentrisani pri sredini članka. Na koksopodite se nastavljaju skoro upola kraći stilopoditi sa pet dugačkih trnova. Medijalni trn je okrenut više ka ventralnoj tj. unutrašnjoj strani genitalnog aparata i smešten je na posebnom izraštaju. Dva subterminalna trna okrenuta su ka dorzalnoj tj. spoljašnjoj strani i smešteni su na posebnom izraštaju sa dva jasno odvojena nodusa. Dva trna su smeštena terminalno sa jasno odvojenim osnovama. Paramere su relativno dugačke (2/3 dužine koksopodita) i gusto obrasle dlakama. Syrstules su tanki i dosta duži od koksopodita (Slika 111). *Corpus intromitans* (parni penis) kod *P. tobbei* na svom vršnom delu nose izraštaj u vidu zubaca koji je još poznati kao "subapikalna tuberkula" (Slika 112).



Šema 69. Spoljašnje genitalije
P.tobbei (Izvor: Leger N.)



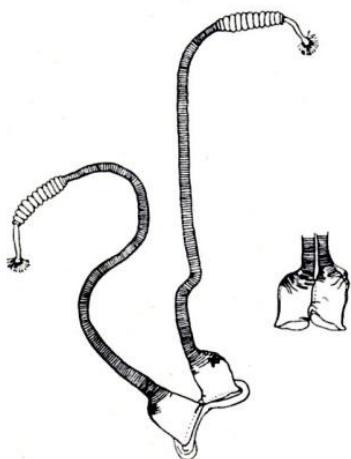
Slika 111. Spoljašnje i unutrašnje genitalije
P.tobbei (Izvor: Leger N.)



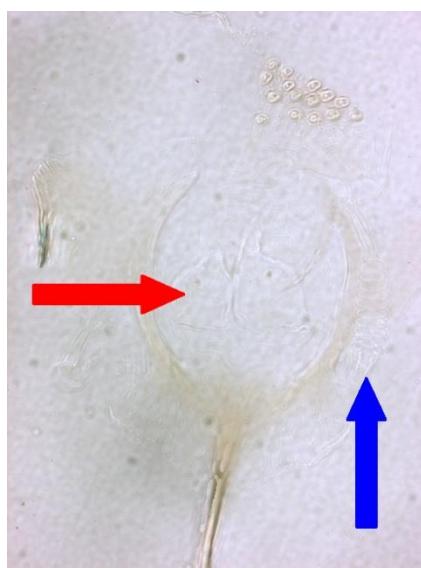
Slika 112. Edeagus *P.tobbei*
(Izvor: Leger N.)

Morfološke i anatomske karakteristike reproduktivnih organa ženki *P.tobbi*

Spermateke *P. tobbi* ženki su tipske građe za podrod *Larroussious* i sastoje se iz baze, prstenasto segmentisane komore i izduzenog vrata sa žlezdanom glavom na vrhu. Baza spermateke je slabo sklerotizovana i dosta transparentna, ima izgled zvona tj. čaše za šampanjac. Na spermatekalnim duktovima mogu se uočiti zgasnuti plitki prstenasti nabori koji se protežu sve do komore. Komora tj. telo spermateke najčešće ima najčešće 11 prstenova, ali je zabeležen i veći broj (13-14). Prstenovi su jasno izdiferenciranih i uočljivi. Na komoru se nastavlja izduženi vrat koji na svom terminalnom kraju nosi glavu sa žlezdanim "čupercima". Izgled spermateka *P. tobbi* je grafički prikazan na šemci 70 i slici 113. Kao dopunski karakter prilikom morfološke identifikacije koristi se izgled farinksa koji je prikazan na šemci 71 i slici 114.



Šema 70. Spermateke *P. tobbi*
(Originalni izvor: Killick
Kendrick R.)



Slika 113. Spermateke *P. tobbi*
(crvena strelica – baze; plava strelica
– komora)
(Originalni izvor: Leger N.)



Šema 71. Farinks *P. tobbi*
(Originalni izvor: Killick
Kendrick R.)



Slika 114. Farinks *P. tobbi*
(Izvor: Leger N.)

Vektorski potencijal vrste *P. tobbi*

P. tobbi je dokazani vektor *L. infantum* u Iranu (Bahrami et al. 2014), Grčkoj (Leger et al. 2000) i Turskoj (Svobodová et al. 2009). Ova vrsta peščane mušice u Srbiji nije imala značajniju ulogu u transmisiji lajšmanioze obzirom da je bila zastupljena u malom broju. Istraživanja Seblova et al. (2015) ukazala su na to da je *P. tobbi* ne specifični vektor i da omogućava razvoj infektivnih formi promastigota za nekoliko vrsta *Leishmania* sp. Zbog relativno ograničenog areala distribucije, i često niskog broja prikupljenih primeraka, istraživanja vektorskog potencijala ove vrste su u velikoj meri zanemarena.

10.5. *Phlebotomus (Paraphlebotomus) alexandri* Sinton, 1928

Sinonim: *P. borovskii* (Khodukin & Softer)

Prve primerke *Phlebotomus alexandri* prikupio je Newsted 1920. godine u Amari (nekadašnja Mesopotamija) (Newstead 1920) i zbog velike sličnosti sa vrstom *P. sergenti* daje joj naziv *P. sergenti var.* Sinton 1928. godine opisuje vrstu na osnovu mužjaka prikupljenih u Waziristan-u (Sinton 1928). Zbog izuzetne sličnosti u opštoj građi i izgledu spoljašnjih genitalija mužjaka sa vrstom *P. sergenti*, novootkrivenu vrstu označava kao njen varijetet pod nazivom *P. sergenti var. alexandri* (po Aleksandru Velikom s obzirom da se teritorijalna rasprostranjenost datog varijeteta poklapala sa granicama tadašnjeg Aleksandrovog carstva). Uočene razlike između *P. sergenti* i novog varijeteta ogledale su se u obliku stilopodita, poziciji terminalnog i sub terminalnog stileta kao i u dužini dlačica na bazalnom lobusu koksopodita. Druga značajna razlika uočena je u dužini trećeg antenalnog segmenta koji je kod novo opisane vrste bio nešto kraći nego u odnosu na isti segmenat kod *P. sergenti*.

Parrot 1936. godine (Sinton 1928) pronalazi prve primerke ženki datog varijeteta u Alžиру i uočava da postoje značajne razlike kod ženki vrsta *P. sergenti* i *P. sergenti var. alexandri*. Na osnovu uočenih razlika Parrot predlaže da dati varijetet bude izdignut na nivo vrste što je ubrzo i prihvaćeno a novoj vrsti dodeljeno je ime *P. alexandri*. Theodor 1947 (Theodor 1938) potvrđuje status vrste na osnovu morfometrijskih analiza dužine krila.

Phlebotomus alexandri je poludomaća vrsta peščane mušice. Njegovo prisustvo je registrovano prevashodno u naseljenim mestima gde je uočeno da preferira da se hrani ljudskom krvlju (antropofilija). Međutim, primerci ove vrste hvatani su i na otvorenim prostranstvima širom sveta.

Geografska distribucija *P. alexandri* u svetu

Phlebotomus alexandri je široko rasprostranjena vrsta peščane mušice. Prisustvo ove vrste registrovano je u Španiji (Risueño et al. 2017), Rumuniji (Dancesco 2008), Bugarskoj (ECDC 2016c), Kosovu (ECDC 2016c), Makedoniji (ECDC 2016c), Grčkoj (Ivović et al. 2007), Kazahstanu (WRBU 2016d), Alžиру (Bounamous et al. 2014), Etiopiji (WRBU 2016d), Maroku (Ouanaimi et al. 2015), Tunisu (Zhioua et al. 2007), Sudanu (El et al. 2007), Mongoliji (Muller et al. 2003), i Kini (Guan Li-Ren et al. 1986). Prisustvo *P. alexandri* potvrđeno je u mnogobrojnim zemljama bliskog istoka: Avganistan, Jermenija, Azerbejdžan, Kipar, Egipat, Indija, Iran, Irak, Izrael, Jordan, Kuvajt, Kirgistan, Liban, Oman, Pakistan, Kvatar, Saudijska Arabija, Sirija, Tadžihistan, Turkmenistan, Turska, Ujedinjeni Arapski Emirati, Uzbekistan i Jemen (Colacicco-Mayhugh et al. 2010).

Geografska distribucija *P. alexandri* u Srbiji

Pored činjenice da *P. alexandri* ima veoma širok areal rasprostranjenja njegovo prisustvo u Srbiji nije registrovano sve do 2014. godine. Pored obimnih i detaljnih istraživanja vršenih u toku prošlog veka, prisustvo ove vrste nije utvrđeno na teritoriji bivše Jugoslavije.

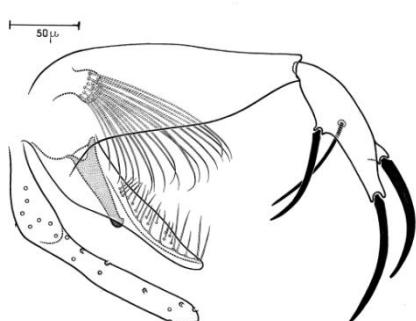
U okviru ove disertacije prikupljen je samo jedan primerak *P. alexandri* (mužjak) i to u Kraljevu kod Aleksinaca (23.06.2014.) (Mapa 10). Uzorak je identifikovan na osnovu tradicionalnih morfoloških karaktera spoljašnjih genitalija mužjaka čiji opis je dat u nastavku.



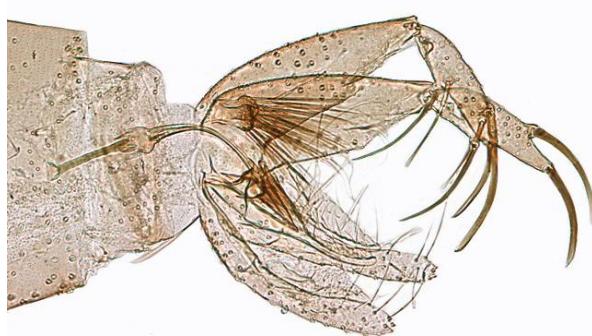
Mapa 10. Distribucija *P. alexandri* Sinton, 1928 po okruzima Republike Srbije

Morfološke i anatomske karakteristike reproduktivnih organa mužjaka *P. alexandri*

Kod mužjaka *P. alexandri* (Šema 72) kao i kod ostalih predstavnika podroda *Paraphlebotomus* karakteristično je prisustvo dodatnog izraštaja na koksopoditim. Ovi izraštaji se nazivaju lobusi, njihov oblik i veličina su od izuzetnog taksonomskog značaja. Lobusi su uglavnom pozicionirani u bazalnom delu koksopodita i na svom vrhu su gusto obrasli dlačicama. Lobusi kod *P. alexandri* su pečurkastog izgleda i obrasli su dugim i gustim dlakama koje se šire poput lepeze. Izgled lobusa pa i broj prisutnih dlačica može da varira u okviru vrste u odnosu na njenu geografsku distribuciju (Slika 115). Stilopoditi su gotovo upola kraći od koksopodita i dosta volumenozni. Stilopoditi nose 4 trna (slično kao predstavnici roda *Sergentomyia*) pri čemu su 2 trna locirana na terminalnom delu stilopodita a dva u medijalnom delu članka. Paramere su jednostavne građe, izgrađene iz jednog članka, dosta su krupne i volumenozne. Edeagus *P. alexandri* je dosta kratak i po izgledu veoma sličan edeagusu vrste *P. papatasi* (Slika 116).



Šema 72. Spoljašnje genitalije *P. alexandri* (Izvor: Leger N.)



Slika 115. Spoljašnje i unutrašnje genitalije *P. alexandri* (Izvor: Leger N.)



Slika 116.
Edeagus *P. alexandri*
(Izvor: Leger N.)

Morfološke i anatomske karakteristike reproduktivnih organa ženki *P. alexandri*:

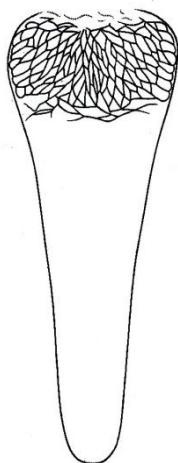
Spermateke *P. alexandri* su tipske građe za podrod *Paraphlebotomus* i sastoje se iz dobro diferencirane komore izgrađene od 8 ili 9 prstenova (Šema 73; Slika 117). Vrat je kratak a na njegovom vrhu se uočava sitnija glava sa mnogobrojnim žlezdanim ćelijama. Vrat i glava su delimično obavijeni vršnim segmentom spermateke. Poslednji (ponekad i predposlednji) segment spermateke mogu biti značajno deblji u odnosu na ostale segmente. Spermatekalni duktovi su plitko segmentisani a baza spermateke je gotovo transparentna.



Slika 73. Spermateka *P. alexandri* (Izvor: Leger N.)



Slika 117. Spermateke *P. alexandri* (Izvor: Leger N.)



Šema 74. Farinks *P. alexandri* (Izvor: Leger N.)



Slika 118. Farinks *P. alexandri* (Izvor: Leger N.)

Kao najpouzdaniji dopunski karakter prilikom morfološke identifikacije *P. alexandri* treba posmatrati izgled faringealne duplje (Šema 74). Farinks kod *P. alexandri* je karajnje karakterističnog izgleda, pri čemu su krupni zupci veoma gusto zbijeni u gornjoj četvrtini farinksa (Slika 118).

Vektorski potencijal vrste *P. alexandri*

Phlebotomus alexandri je dokazani vektor visceralne lajšmanioze uzrokovane *L. donovani* u Kini (Guan Li-Ren et al. 1986). Pored toga on je označen kao potencijalni vektor kutane (*L. major*) i visceralne lajšmanioze (*L. infantum*) u Iranu (Fakhar et al. 2008) i kao potencijalni vektor *L. tropica killicki* u Tunisu (Killick-Kendrick 1990).

10.6. *Phlebotomus (Paraphlebotomus) sergenti* s.l. Parrot, 1917

Prvi originalni opis mužjaka vrste *Phlebotomus sergenti* dao je Parrot 1917. godine, na osnovu materijala poreklom iz Alžira (Parrot 1917). Godinu dana kasnije (1918) Franca daje prvi opis ženke iz primeraka poreklom iz Kolaresa, Portugal (Franca 1918). 1929. godine Adler i Theodor daju prepravljene i mnogo detaljnije opise mužjaka i ženki na osnovu jedinki iz Palestine i Sirije (Adler and Theodor 1929).

Na osnovu pregledanog materijala iz južne Ukraine, Krima i Kavkaza, Perfiliev 1963. godine deli vrstu *P. sergenti* na dve pod vrste – *P. sergenti similis* i *P. sergenti sergenti*. U svom radu on daje prvi opis podvrste *P. sergenti similis* i ističe da se data podvrsta razlikuje od *P. sergenti sergenti* na osnovu izgleda bazalnog lobusa koksopodita i dužine procesusa stilopodita, što je dodatno potvrđeno u radu istoimenog autora iz 1968 (Perfiliev 1968). Lewis 1982. godine a potom i Artemiev i Neronov 1984. godine prihvataju predloženu podelu i dve podvrste izdižu su na nivo vrste – *P. similis* i *P. sergenti*.

Depaquit et al. (1998) detaljnim morfološkim i morfometrijskim analizama potvrđuje taksonomski status ovih vrsta. Pored morfoloških i morfometrijskih istraživanja isti autor (Depaquit et al. 2002) vrši sekvencioniranje ITS2 rDNK kod obe vrste čime utvrđuje da među njima postoje i značajne genetičke razlike. Prema navodima Depaquit et al. (2002) vrste *P. similis* i *P. sergenti* su monofiletske vrste koje su u alopatriji. Na osnovu dobijenih rezultata istoimeni autor predložio je hipotezu o evolutivnoj disperziji i distribuciji *P. similis* i *P. sergenti* u Starom Svetu. Prema datoj hipotezi obe vrste su se razvile iz zajedničkog pretka a do njihovog razdvajanja došlo je najverovatnije u miocenu u toku migracije zajedničkog pretka iz regionala istočne Azije ka zapadnoj Evropi. Tada su se jasno odvojile dve grane, severna iz koje se razvio *P. similis* (što objašnjava i njegovu distribuciju severno od Kavkaza, u Azerbejdžanu, Rusiji, Ukrainsi, Krimu, Rumuniji, zemljama bivše Jugoslavije, Albaniji, Grčkoj i severo-zapadnim delovima Turske); i južna grana iz koje se razvio *P. sergenti*. *Phlebotomus sergenti* je kolonizovao južnu Aziju i istočnu i zapadnu Evropu kao i severnu Afriku, ima veoma širok areal rasprostranjenja i može naći u: Pakistanu, Libanu, Siriji i južnim delovima Turske, na Kipru, u Egiptu, Maroku, Siciliji, Spaniji i Portugalu.

Sa druge strane, laboratorijsko ukrštanje populacija *P. sergenti* i *P. similis* nisu ukazala na postojanje reproduktivne barijere (Dvorak et al. 2006). Na osnovu rezultata sekvenci citochroma b, ove dve vrste smeštene su u istu kladu (Dvorak et al. 2011). Na osnovu dobijenih rezultata autor zaključuje da je *P. sergenti* polimorfna vrsta a ne kompleks dve jasno odvojene kriptične vrste.

Problem oko precizne identifikacije ove vrste u Srbiji javio se još kod naučnika koji su istraživali faunu peščanih mušica u toku prošlog veka. Na osnovu opisa i datih šematskih prikaza vrste detektovane na teritoriji Srbije koju su autori označili kao *P. sergenti*, može se posumnjati da se zaista radi o vrsti *P. similis* (Živković 1948). Pregledom grafičkih prikaza jasno se može videti da lobovi na koksopoditima nisu povijeni niti tanki, već su pravi i relativno debeli što je u skladu sa morfološkim opisom vrste *P. similis* koji je dao Depaquit. Jedan od takođe značajnih karaktera koji je posebno istaknut od strane naših autora je prisustvo "podupirača" na vršnom delu genitalne pumpe. Data karakteristika nije uočena kod predstavnika *P. sergenti*.

Prema predloženoj hipotezi u našoj državi moguće je pronaći samo primerke *P. similis*. S obzirom na nedostatak informacija o ovoj vrsti kao i na nedostatak sekvenci u bazi podataka sa kojima

bi mogli da uporedimo naše rezultate, u okviru ove disertacije potencijalnu vrstu *P. similis* čemo označiti kao *P. sergenti* s.l. Morfološki opisi reproduktivnih organa dati su na osnovu primeraka prikupljenih u Srbiji.

Phlebotomus sergenti s.l. je prevashodno divlja vrsta flebotomine. Iako se može naći u urbanim sredinama, uočeno je da uglavnom preferira krv životinja dok retko kada uzima krvni obrok sa čoveka.

Geografska distribucija *P. sergenti* s.l. u svetu²

Phlebotomus sergenti s.l. je zastupljen severno od Kavkaza, u Azerbejdžanu, Rusiji, Ukraini, Krimu, Rumuniji, zemljama bivše Jugoslavije, Albaniji, Grčkoj i severo-zapadnim delovima Turske (Depaquit et al. 2002).

Geografska distribucija *P. sergenti* s.l. u Srbiji

Vrsta *P. sergenti* s.l. je u prošlosti na teritoriji Republike Srbije imala veoma ograničen areal rasprostranjenja, dok je brojna zastupljenost vrste u velikoj meri varirala od mesta do mesta (Simić 1950a). Prvi nalazi ove vrste zabeleženi su 1947. godine u regionu istočne i jugoistočne Srbije. Prisustvo *P. sergenti* s.l. najčešće je registrovano u istočnim delovima države prevashodno u regionu Niša i Aleksinca, na teritoriji između Niša i Dimitrovgrada, u regionu Knjaževca, Zaječara i Negotina, kao i u pojedinim mestima u okolini Dunava između Požarevca i Golupca (Živković 1948). Prisustvo ove peščane mušice nije registrovano u zapadnoj Srbiji kao ni na teritoriji Vojvodine (Živković 1948). Najveća brojnost registrovana je u regionu Niša, i na istočnim granicama Srbije u regionu Zaječara i Brze Palanke. Veća brojnost registrovana je i u mestima između Niša i Dimitrovgrada. Uočeno je da brojnost ove flebotomine opada posmatrano od istoka ka zapadu i od severa ka jugu (Živkovic 1980).

Iako su istraživanja peščanih mušica u jugoistočnoj Srbiji otpočela 2014. godine, prvi uzorci *P. sergenti* s.l. registrovani su tek 2016. Od 18 istraživanih lokaliteta u ovom regionu Srbije, prisustvo *P. sergenti* s.l. registrovano je na samo dva, pri čemu je prikupljeno svega pet primeraka. Tri primerka prikupljen je u mestu Kraljevo kod Aleksinca 18.07.2016. dok su dva primeraka prikupljena u Prugovcu 20.07.2016 (Mapa 11).

² Geografska distribucija vrste *P. sergenti* s.l. u svetu prikazana je u skladu sa hipotezom Depaquit et al. 2002.



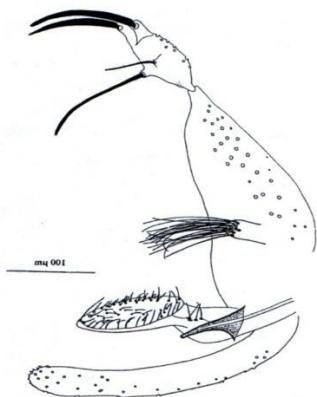
Mapa 11. Distribucija *P. sergenti* s.l. Parrot, 1917 po okruzima Republike Srbije

Svi prikupljeni primerci identifikovani su na osnovu morfoloških karaktera reproduktivnih organa i organa glave prikazanih u daljem tekstu. Prikupljeni primerci su sekvencionirani (COI region mitohondrijalnog gena) i analizirani Maldi-Tof metodom na Departmanu za parazitologiju Fakulteta za nauku na Čarls Univerzitetu u Pragu, Češka Republika. Dobijene sekvene su analizirane i upoređene sa dostupnim sekvencama vrste *P. sergenti* u GenBank pri čemu je uočeno poklapanje od svega 97 %. Rezultati analize proteinskog spektra Maldi-Tof metodom ukazali su na postojanje značajnih razlika u odnosu na proteinske spekture vrste *P. sergenti* (poreklom iz severnijih krajeva) i vrste *P. similis* (poreklom iz južnijih krajeva). Dobijeni rezultati sugerisu da su primerci prikupljeni u Srbiji tranzitna forma i da predstavljaju varijaciju ove dve vrste/populacije. Da bi se precizno utvrdilo da li se radi o podvrsti, novoj vrsti, varijetu itd. neophodno je sprovesti detaljnija istraživanja, kao i rešiti problem statusa vrste *P. sergenti/P. similis*.

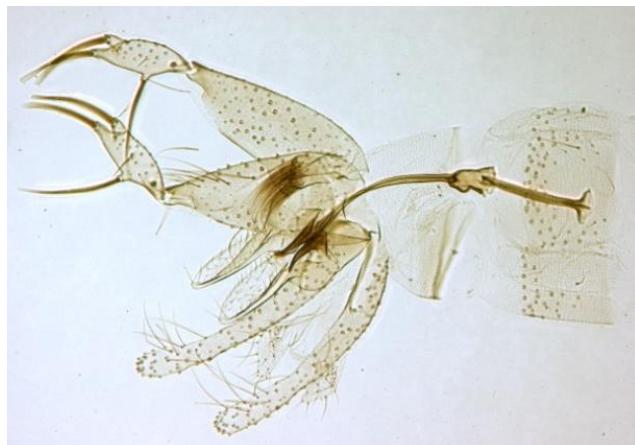
Morfološke i anatomske karakteristike reproduktivnih organa mužjaka *P. sergenti* s.l.

U okviru ove disertacije biće priložen opis vrste *P. sergenti* s.l. na osnovu izgleda prikupljenih primeraka. Opšti izgled organa spoljašnjeg genitalnog aparata mužjaka dat je na šemci 75 i slici 119. U poređenju sa veličinom tela i dužinom abdomena, spoljašnji genitalni aparat mužjaka je relativno mali. Koksopoditi su u bazalnom delu dosta prošireni i prema terminalnom kraju segmenta se sužavaju. Na koksopoditim se jasno uočava prisustvo lobusa koji su pozicionirani pri bazi segmenta više ka dorzalnoj strani. Lobusi su relativno široki i zdepasti, na svom vrhu nose veliki broj dugačkih tamnih dlačica. Stilopoditi su relativno kratki i volumenozni, na sebi nose 4 dugačka trna. Dva trna su pozicionirana u terminalnom delu stilopodita pri čemu se svaki nalazi na posebnom izraštaju/procesusu. Dužina procesusa je relativno ista. Treći trn pozicioniran je pri sredini stilopodita i orijentisan više ka spoljašnjosti. Četvrti trn je dosta tanji i kraći u odnosu na preostala tri, takođe je

pozicioniran pri sredini stilopodita, ali je okrenut ka unutrašnjosti genitalnog aparata. Paramere su dosta složenog izgleda. Bazalni dio paramera je blago cilindričnog izgleda dok je apikalni deo spljošten i ima izgled ovalne ploče gusto obrasle dlakama. Syrstules su tanki i dosta duži od koksopodita. *Corpus intromitans* (parni penis) kod *P. sergenti* s.l. su kratki, pri vrhu blago zaobljeni ka spoljašnjoj strani (Slika 120). Na genitalnoj pumpi može se uočiti prisustvo "podupirača".



Šema 75. Spoljašnje genitalije *P. sergenti* s.l.
(Izvor: Leger N.)



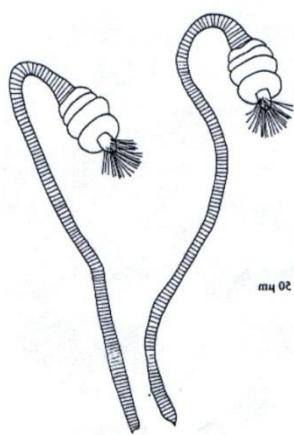
Slika 119. Spoljašnje i unutrašnje genitalije
P. sergenti s.l. (Izvor: Leger N.)



Slika 120. Edeagus
P. sergenti s.l. (Izvor:
Leger N.)

Morfološke i anatomske karakteristike reproduktivnih organa ženki *P. sergenti* s.l.

Baze spermateka su u vidu jednostavnih kanala koji se neprimetno nastavljaju na dukt i na trajnim preparatima se uglavnom ne mogu jasno uočiti. Duktus su dugački, plitko segmentisani i dosta transparentni. Komora spermateke je cilindričnog oblika, jasno segmentisana i može imati između 3 i 6 prstenova. Poslednji/predposlednji prsten je vidno uvećan i na svom vrhu nosi žlezdanu glavu (Šema 76; Slika 121).



Šema 76. Spermateke *P. sergenti* s.l. (Izvor: Leger N.)



Slika 121. Spermateke *P. sergenti*
s.l. (Izvor: Leger N.)



Šema 77. Farinks *P. sergenti* s.l. (Izvor:
Leger N.)



Slika 122. Farinks *P. sergenti* s.l. (Izvor:
Leger N.)

Najveći problem prilikom identifikacije javlja se kod srodnih vrsta *P. sergenti* i *P. similis*, i to na obodima areala ove dve vrste – Turska (potencijalno Grčka i Italija). Ženke se mogu razlikovati na osnovu broja prstenova na spermatekama. Broj segmenata spermateke kod *P. similis* varira između 3 i 6 dok se kod *P. sergenti* može videti između 4 i 8 prstenova. U slučaju ove dve vrste, preciznija identifikacija ženki zasniva se na izgledu faringealne armature (Šema 77; Slika 122). Faringealna armatura je kod *P. similis* nešto bolje razvijena, lateralni zubi se često pružaju duž ivice farinksa dok se centralni zubi spuštaju mnogo niže ka cibarijumu u odnosu na predstavnike *P. sergenti*. Za identifikaciju mužjaka ove dve vrste neophodno je posmatrati izgled lobusa i dužinu procesusa na stilopoditima.

Vektorski potencijal vrste *P. sergenti* s.l.

Phlebotomus sergenti s.l. je potvrđeni vektor *L. tropica* u Maroku (Ajaoud et al. 2013), Izraelu (Moncaz et al. 2012), Iranu (Aghaei et al. 2014), Saudijskoj Arabiji (Zahrani 1988) i Etiopiji (Gebre-Michael et al. 2004). Pored toga sumnja se da je *P. sergenti* s.l. potencijalni vektor prenosa *L. tropica* u Avganistanu (Hewitt et al. 1998), Siriji (Tayeh et al. 1997) i Turskoj (Volf et al. 2002). Sposobnost ove vrste da učestvuje u transmisiji *L. tropica* uspešno je dokazana u okviru laboratorijskih ispitivanja kad je utvrđeno da *P. sergenti* s.l. može da prenese *L. tropica* na miševe (Svobodová and Votýpka 2003), ali i da se inficira hraneći se na obolelim crnim pacovima (Svobodová et al. 2003). I ako je ova vrste peščane mušice označena kao potencijalni vektor *L. killkicki* u Alžiru (Boubidi et al. 2011), laboratorijska istraživanja ukazuju na to da je *P. sergenti* s.l. specifični vektor *L. tropica* (Volf and Myskova 2007). U Maroku *P. sergenti* s.l. je potvrđeni vektor Toskana virusa (Es-Sette et al. 2012).

10.7. *Phlebotomus (Adlerius) simici* Nitzulescu, 1931

Vrstu *Phlebotomus simici* opisao je Nitzulescu 1931. godine kao varijetet vrste *P. chinensis* (Nitzulescu 1931). Usled velikog prijateljstva ovog naučnika sa Prof. Dr. Čedomirom Simićem, istraživačem poreklom iz Jugoslavije, novo otkriveni varijetet dobio je naziv *P. chinensis var. simici*. Theodor 1958. u okviru revizije roda *Phlebotomus* ističe da postoje značajne razlike u morfološkim karakterima reproduktivnih organa između vrste *P. chinensis* i varijeteta *simici*, te predlaže da se dati varijetet izdigne na nivo vrste što je odmah i prihvaćeno.

Biološka i ekološka istraživanja vezana za ovu vrstu nisu sprovedena s obzirom na uzani areal distribucije. Međutim, uočeno je da *P. simici* preferira otvorena prostranstva. Iako se može naći i u naseljenim mestima *P. simici* se smatra pretežno divljom vrstom flebotomine.

Geografska distribucija *P. simici* u svetu

Phlebotomus simici je flebotomina sa krajnje ograničenim arealom rasprostranjenja. U zemljama bivše Jugoslavije prisustvo ove vrste je zabeleženo u Makedoniji (Živković et al. 1973), Srbiji (Živković 1967), Bosni i Hercegovini (Simić et al. 1951) i na Kosovu (Simić and Živkovic 1948). Pored toga, po navodima literature vrsta je zabeležena i u Bugarskoj (WRBU 2016e), Grčkoj (Papadopoulos and Tselentis 1994), Turskoj (Ergunay et al. 2012), Izraelu (Müller et al. 2011), Iranu (Lewis 1971), Libanu (Haddad et al. 2003) i Siriji (WRBU 2016e).

Geografska distribucija *P. simici* u Srbiji

Phlebotomus simici je uglavnom divlja vrsta peščane mušice, koja se retko kada mogla naći u zatvorenim prostorijama. U toku predhodnih istraživanja najveći broj primeraka registrovan je u regionu Vranja (Simić 1950a). Posmatrano od juga ka severu uočeno je da broj uhvaćenih *P. simici* opada te u severnim i zapadnim delovima države nije registrovano prisustvo ove vrste. Pored Vranja, nešto niža brojnost jedinki prikupljena je na području Niša, u dolini Nišave i Južne Morave (Simić 1950a). Već u regionu Zapadne Morave kao i istočnije ka Timoku, nalaz ove vrste zabeležen je u pojedinačnim primercima. Najseverniji nalazi vrste zabeleženi su u Tekijama kao i u dolini Velike Morave sve do Paraćina (Simić 1950a).

U okviru ove disertacije prisustvo *P. simici* registrovano je samo u regionu zapadne Srbije sa Šumadijom. Prvi primerci zabeleženi su u toku 2015. godine kada je prikupljeno 9 (7♀, 2♂) primeraka u dva lokaliteta: Krasava (09.08.2015.) i Banja Koviljača (11.08.2015.) (Mapa 12). Primerci su identifikovani na osnovu morfoloških karaktera spoljašnjih genitalija mužjaka, spermateka, cibarijalne i faringijalne duplje.



Mapa 12. Distribucija *P. simici* Nitzulescu, 1931 po okruzima Republike Srbije

Morfološke i anatomske karakteristike reproduktivnih organa mužjaka *P. simici*:

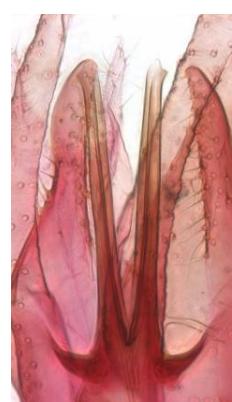
Grafički prikaz spoljašnjih genitilia mužjaka *P. simici* (Slika 123) dat je na šemci 78. Prisutni su jaki koksopoditi na kojima se uočavaju čuperci dugačkih dlaka skoncentrisani pri sredini članka. Na koksopodite se nastavljuju skoro upola kraći stilopoditi sa pet dugačkih trnova. Medijalni trn je okrenut više ka ventralnoj tj. unutrašnjoj strani genitalnog aparata i smešten je na posebnom izraštaju. Dva subterminalna trna okrenuti su ka dorzalnoj tj. spoljašnjoj strani i smešteni su na posebnom izraštaju sa dva jasno odvojena nodusa. Dva trna su smeštena terminalno sa jasno odvojenim osnovama. Paramere su relativno dugačke (2/3 dužine koksopodita) i gusto obrasle dlakama. Syrstules su tanki i dosta duži od koksopodita. *Corpus intromitans* (parni penis) kod *P. simici* na svom vršnom delu nose izraštaj u vidu zubača koji su još poznati kao "subapikalna tuberkula" (Slika 124). Ono što se ističe kod vrste *P. simici* je dužina genitalnih filamenata koji su približno sedam puta duži od genitalne pumpe.



Šema 78. Spoljašnje genitalije *P. simici* (Izvor: Leger N.)



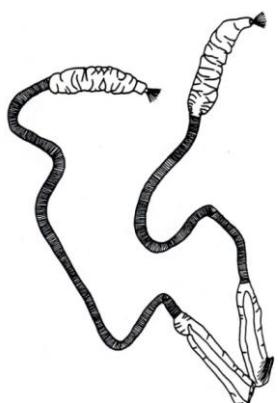
Slika 123. Spoljašnje i unutrašnje genitalije *P. simici* (Izvor: Leger N.)



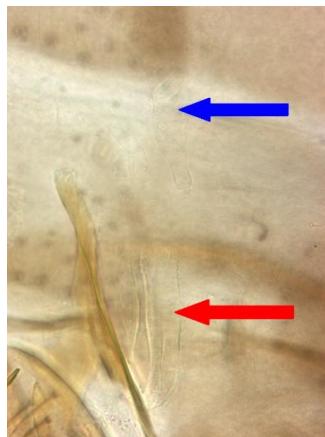
Slika 124. Edeagus *P. simici* (Izvor: Leger N.)

Morfološke i anatomske karakteristike reproduktivnih organa ženki *P. simici*:

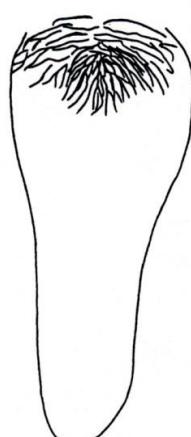
Spermateke ženki iz podroda *Adlerius* su veoma slabo sklerotizovane i teško se uočavaju na trajnim preparatima pogotovo onim koji su dobro prosvetljeni ili malo stariji. Baza spermateke kod *P. simici* (Šema 79; Slika 125) je blago proširena u odnosu na dukt i izgleda kao da je obavijena tankom membranom. Spermatekalni duktovi su gusto i plitko segmentisani. Komora spermateke (Slika 125) je slabo sklerotizovana i nejednako segmentisana. Komora spermateke podseća na jednostavno proširenje spermatekalnog duktata, neravnomerne i nepotpune segmentacije. Pri svom vrhu komora se sužava u uglavnom kratak i ne izdiferenciran vrat koji na svom vrhu nosi veoma sitnu glavu. S obzirom na veliku morfološku sličnost u izgledu spermateka kod svih vrsta podroda *Adlerius*, kao mnogo precizniji karakter koristi se izgled faringealne armature (Šema 80; Slika 126). Identifikacija ženki podroda *Adlerius* do nivoa vrste na osnovu morfoloških karaktera reproduktivnih organa je dosta subjektivna i u velikoj meri zavisi od kvaliteta trajnog preparata i iskustva posmatrača. U poslednjih nekoliko godina naučnici smatraju da je precizna identifikacija do nivoa vrste moguća samo primenom molekularnih metoda.



Šema 79. Spermateke *P. simici* (Izvor: Leger N.)



Slika 125. Spermateke *P. simici*
(crvena strelica – baze; plava strelica – komora) (Originalni izvor: Leger N.)



Šema 80. Farinks *P. simici* (Izvor: Leger N.)



Slika 126. Farinks *P. simici* (Izvor: Leger N.)

Vektorski potencijal vrste *P. simici*

S obzirom na krajnje ograničen areal distribucije, i generalno nisku brojnost populacija, vektorski potencijal ove vrste nije dovoljno istražen. Po navodima Simića (1950a) vrsta *P. simici* je bila uključena u transmisiju parazita *Leishmania* sp. na teritoriji Srbije u toku XX veka. Međutim, dati navodi nikada nisu potvrđeni.

10.8. *Phlebotomus (Adlerius) balcanicus* Theodor, 1958

Vrstu *Phlebotomus balcanicus* opisao je Theodor 1958. godine na osnovu primeraka prikupljenih u Grčkoj. Data vrsta je u početku smatrana za varijetet *P. chinensis*. Međutim, samo nekoliko meseci kasnije istoimeni autor u okviru revizije roda *Phlebotomus* ističe da postoji značajne razlike u morfološkim karakterima reproduktivnih organa između vrste *P. chinensis* i datoga *balcanicus* varijeteta, te predlaže da se dati varijetet izdigne na nivo vrste što je odmah i prihvaćeno.

Biološka i ekološka istraživanja vezana za ovu vrstu nisu sprovedena s obzirom na uzani areal distribucije.

Geografska distribucija u svetu

Phlebotomus balcanicus ima ograničen areal distribucije. Prisustvo vrste registrovano je u Azerbejdžanu, državama bivšeg USSR, Džordžiji, na Krimu, u severnjim predelima Kavkaza (Strelkova et al. 2015), Grčkoj (Ivović et al. 2007), Makedoniji (Živković et al. 1973) i Srbiji (Živković 1967).

Geografska distribucija u Srbiji

Prema navodima Vere Živković, nalaz ove flebotomine na teritoriji Republike Srbije je bio redak. U periodu od 1947. do 1990. godine koliko je vršeno istraživanje peščanih mušica, u regionu istočne i jugoistočne Srbije prikupljeno je svega nekoliko primeraka ove vrste u mestima Zvezdan, Knjaževac, Rogljevo i Vražogrnci (Živković 1967). U regionu zapadne Srbije sa Šumadijom prikupljena su svega tri primerka i to u Manastiru Žiča (Živković 1969) dok prisustvo ove flebotomine u regionu Vojvodine nikad nije registrovano.

U okviru ove teze, prvi primerci *P. balcanicus* uhvaćeni su tek 13.07.2016. u Krasavi kod Krupnja kada je prikupljeno ukupno 22 jedinke (12 ♂, 10 ♀). Na osnovu dobijenih rezultata može se zaključiti da *P. balcanicus* u Srbiji i dalje ima veoma ograničen areal rasprostranjenja (Mapa 12). Data vrsta je najverovatnije prisutna i u regionu istočne i jugoistočne Srbije, međutim njeno prisustvo nije potvrđeno.

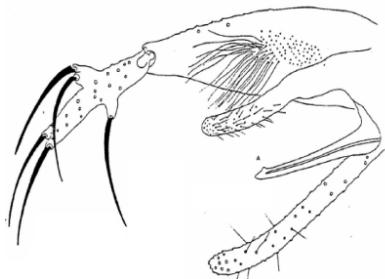


Mapa 12. Distribucija *P. balcanicus* Theodor, 1958 po okruzima Republike Srbije

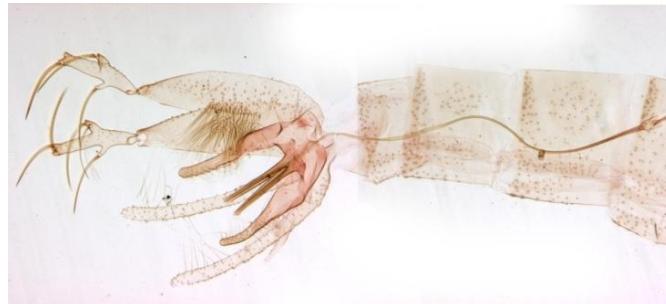
Svi prikupljeni primerci identifikovani su na osnovu morfoloških karaktera reproduktivnih organa i organa glave prikazanih u daljem tekstu. Identifikacija je potvrđena sekvencioniranjem COI regiona mitohondrijalnog gena i analizom proteinskog spektra Maldi-Tof metodom vršenom na Departmanu za parazitologiju Fakulteta za nauku na Čarls Univerzitetu u Pragu, Češka Republika. Dobijene COI sekvene će biti priključene GenBank. Dobijeni proteinski spektri biće priključeni jedinstvenoj bazi podataka koja je trenutno u izradi.

Morfološke i anatomske karakteristike reproduktivnih organa mužjaka *P. balcanicus*

Grafički prikaz spoljašnjih genitilia mužjaka *P. balcanicus* (Slika 127) dat je na šemii 81. Koksopoditi su dagački, pri sredini članka uočava se grupacija gusto zbijenih dugih dlaka. Na koksopodite se nastavljaju upola kraći i tanji stilopoditi sa pet dugačkih trnova. Medijalni trn je smešten na posebnom dugačkom i tankom izraštaju. Dva subterminalna trna takođe su smeštena na posebnom izraštaju. Dva trna su smeštena terminalno sa jasno odvojenim osnovama. Paramere su relativno dugačke (2/3 dužine koksopodita) i gusto obrasle dlakama. Syrstules su tanki i dosta duži od koksopodita. *Corpus intromitans* (parni penis) kod *P. balcanicus* na svom vršnom delu nose izraštaj u vidu zubaca koji su još poznati kao "subapikalna tuberkula" (Slika 128). Ono što se ističe kod vrste *P. balcanicus* je dužina genitalnih filamenata koji su približno sedam puta duži od genitalne pumpe.



Šema 81. Spoljašnje genitalije *P. balcanicus* (Izvor: Leger N.)



Slika 127. Spoljašnje i unutrašnje genitalije *P. balcanicus* (Izvor: Leger N.)



Slika 128. Edeagus *P. balcanicus* (Izvor: Leger N.)

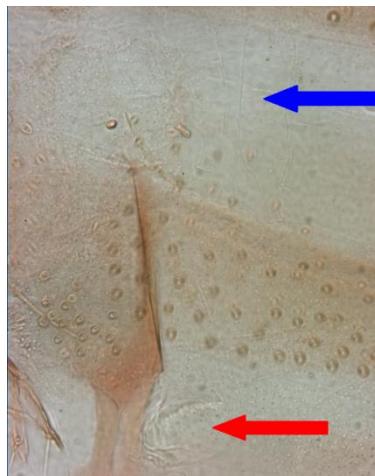
Morfološke i anatomske karakteristike reproduktivnih organa ženki *P. balcanicus*:

Baza spermateke kod *P. balcanicus* je blago proširena u odnosu na dukt i plitko je segmentisana (Šema 82; Slika 129). Spermatekalni duktovi su glatke strukture. Komora spermateke je slabo sklerotizovana i nejednakog segmentisanja. Komora spermateke se pri svom vrhu sužava u uglavnom kratak i ne izdiferenciran vrat koji na svom vrhu nosi veoma sitnu glavu (Slika 129).

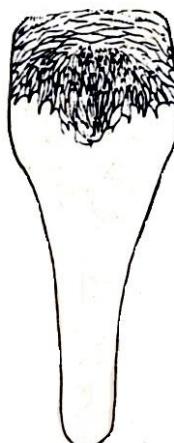
S obzirom na veliku morfološku sličnost u izgledu spermateka kod svih vrsta podroda *Adlerius*, kao mnogo precizniji karakter koristi se izgled faringealne armature (Šema 83; Slika 130). Identifikacija ženki podroda *Adlerius* do nivoa vrste na osnovu morfoloških karaktera reproduktivnih organa je dosta subjektivna i u velikoj meri zavisi od kvaliteta trajnog preparata i iskustva posmatrača. U poslednjih nekoliko godina naučnici smatraju da je precizna identifikacija do nivoa vrste moguća samo primenom molekularnih metoda.



Šema 82. Spermateke *P. balcanicus* (Izvor: Leger N.)



Slika 129. Spermateke *P. balcanicus* (crvena strelica – baze; plava strelica – komora) (Originalni izvor: Leger N.)



Šema 83. Farinks *P. balcanicus* (Izvor: Leger N.)



Slika 130. Farinks *P. balcanicus* (Izvor: Leger N.)

Vektorski potencijal vrste *P. balcanicus*

Prva i za sada jedina istraživanja vektorskog značaja vrste *P. balcanicus* sprovedena su u Džordžiji (Giorgobiani et al. 2012). Tom prilikom dokazano je da ova vrsta učestvuje u transmisiji *L. infantum*. Obzirom na generalno nisku brojnost populacija i uzani areal distribucije *P. balcanicus* kako u Srbiji tako i u drugim državama, ostaje otvoreno pitanje da li ova vrsta igra ulogu u transmisiji samo *L. infantum*, ili ima mogućnost prenosa i drugih vrsta iz roda *Leishmania* sp.

10.9. *Phlebotomus (Transphlebotomus) mascittii* Grassi, 1908

Sinonimi: *P. larroussei* (Langeron & Nitzulescu, 1931)
P. vesuvianus (Adler & Theodor, 1931)
P. nitzulescui (Simic, 1932)

Vrstu *Phlebotomus mascittii* prvi put je opisao Grassi 1908. godine na osnovu materijala poreklom iz Rima, Italija (Grassi 1908). Artemiev i Neronov 1984. predlažu sistem klasifikacije flebotomina Starog Sveta po kome vrstu *P. mascittii* zajedno sa *P. cananticus* svrstavaju u novo izdvojeni i jasno definisani podrod *Transphlebotomus* (Artemiev and Neronov 1984). Pored *P. mascittii* i *P. cananticus* dati podrod obuhvata još tri vrste: *P. economidesi* opisan 2000. godine (Depaquit et al. 2001) i vrste *P. anatolicus* i *P. killicki* opisane 2015 (Kasap et al. 2015). Vrste ovog podroda pokazuju izuzetnu morfološku sličnost i većina naučnika podržava mišljenje da je identifikacija do nivoa vrste moguća samo primenom molekularnih analiza.

Iako je vrsta *P. mascittii* opisana još davne 1908. godine o njoj se veoma malo zna. Biologija, ekologija i potencijalni vektorski kapacitet su u velikoj meri ostali nepoznati usled malog broja prikupljenih primeraka (Maroli and Bettini 1977a). Po navodima određenih autora *P. mascittii* preferira tunelska staništa (Naucke et al. 2008a).

Geografska distribucija *P. mascittii* u svetu

Phlebotomus mascittii je peščana mušica za koju se veruje da ima veoma širok areal distribusije u Evropi. Međutim, teorija o širokom arealu distribucije *P. mascittii* nedavno je dovedena u pitanje pošto su molekularnim metodama otkrivene dve nove vrste podroda *Transphlebotomus* (*P. anatolicus* i *P. killicki*). Ove vrste pokazuju izuzetno visok stepen morfološke sličnosti sa *P. mascittii* te dovode u pitanje tačnost svih podataka koji su bazirani samo na pregledu morfoloških karaktera (uključujući i areal distribucije).

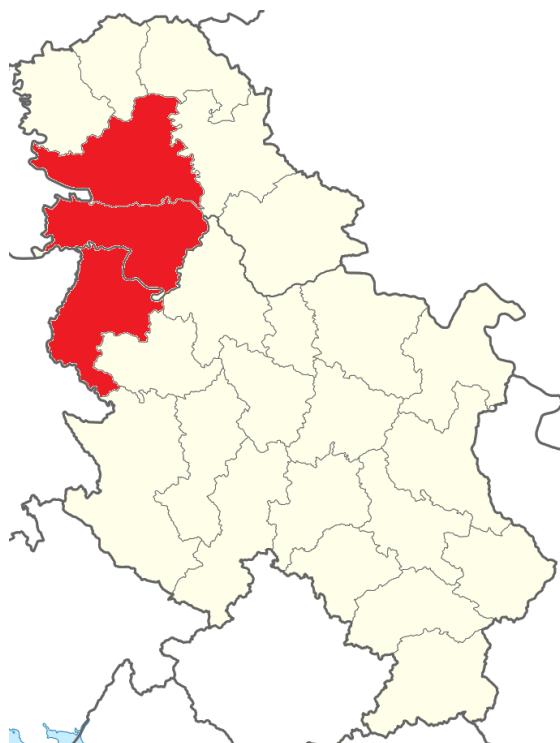
U skorije vreme, prisustvo *P. mascittii* registrovano je u većini Evropskih zemalja Mediteranskog regiona od Španije (Risueño et al. 2017) na zapadu, preko Francuske (Naucke et al. 2008a), Italije (Zanet et al. 2014), Slovenije (Ivović et al. 2015), Hrvatske (Bosnić et al. 2006) sve do Grčke (Ivović et al. 2007). Pored mediteranskih zemalja, prisustvo *P. mascittii* je registrovano i u mnogim kontinetalnim zemljama Evrope poput Mađarske (Farkas et al. 2011), Belgije (Depaquit et al. 2005), Austrije (Naucke et al. 2011), Švajcarske (Gaschen 1956), Nemačke (Naucke and Pesson 2000) i Slovačke (Dvorak et al. 2016). Nalaz *P. mascittii* u Slovačkoj predstavlja najseverniju granicu rasprostiranja ove vrste i ujedno najseverniju granicu rasprostiranja peščanih mušica u Evropi. Nedavno, jedan jedini primerak pronađen je u Alžиру (Berdjane-Brouk et al. 2011) što sugerise da je ova vrsta prisutna i u severnoj Africi.

Geografska distribucija *P. mascittii* u Srbiji

Pored brojnih navoda koji potvrđuju da *P. mascittii* ima širok areal rasprostranjenja u državama Evrope njegovo prisustvo u Srbiji nije registrovano sve do 2015. Pored obimnih i detaljnih istraživanja sprovedenih širom bivše Jugoslavije u toku prošlog veka, prisustvo ove vrste nije utvrđeno.

U okviru ove disertacije prikupljeno je ukupno 7 primeraka *P. mascittii* sa 3 lokaliteta. U regionu Vojvodine prisustvo *P. mascittii* prvi put je zabeleženo u mestu Ležimir (18.06.2015.). Drugi primerak (ženka) poreklom takođe iz Vojvodine uhvaćena je 01.08.2015. u mestu Parage.

Ukupno 5 primeraka prikupljeno je u mestu Krasava kod Krupnja (region zapadne Srbije sa Šumadijom). *Phlebotomus mascittii* je prvi put detektovan na ovom lokalitetu 09.08.2015. godine kada su prikupljena 2 primerka (jedan mužjak i jedna ženka). U toku 2016. isti lokalitet je posećen 13.07. i prikupljeno je 3 primeraka (jedan mužjak i dve ženke) (Mapa 13).



Mapa 13. Distribucija *P. mascittii* Grassi, 1908 po okruzima Republike Srbije

Svi prikupljeni primerci identifikovani su na osnovu morfoloških karaktera reproduktivnih organa i organa glave prikazanih u daljem tekstu. Identifikacija je potvrđena sekvencioniranjem COI regionalnog mitohondrijalnog gena i analizom proteinskog spektra Maldi-Tof metodom.

Primerci prikupljeni u Vojvodini 2015. analizirani su u Laboratoriji za istraživanje patologije virusa na Medicinskom Fakultetu u Marseju, Francuska. Dobijene sekvence priključene su bazi podataka GenBank pod jedinstvenim registarskim brojem BankIt1997035 Seq4, KY848831.

Primerci prikupljeni u Krasavi u toku 2015. su analizirani u Laboratoriji za istraživanje ekologije vektora na Biološkom departmanu Fakulteta prirodnih nauka, Hacettepe Univerziteta u Ankari, Turska. Dobijene sekvence priključene su bazi podataka GenBank.

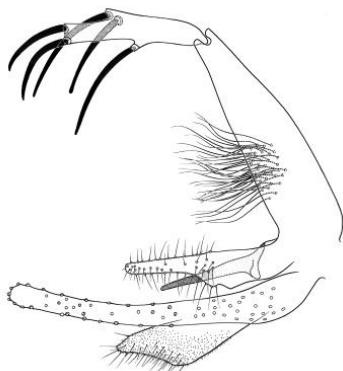
Primerci prikupljeni u Krasavi u toku 2016. analizirani su u Maldi-Tof metodom na Departmanu za parazitologiju Fakulteta za nauku na Čarls Univerzitetu u Pragu, Česka Republika. Proteinski spektri biće uvršteni u jedinstvenu banku podataka koja je trenutno u izradi. Analizirane COI sekvence priključene su bazi podataka GenBank.

Detekcija *P. mascitti* predstavlja novi nalaz za faunu peščanih mušica Srbije i sugerije da je došlo do promene diverziteta ovih insekata. Međutim, nije iznenadujuće što je ova vrsta detektovana u

našoj zemlji s obzirom da je njeno prisustvo registrovano i u državama koje se graniče sa Srbijom. Postoji verovatnoća da je *P. mascittii* prisutan u Srbiji već duži niz godina ali da njegovo prisustvo nije detektovano pre 2015. zbog niske brojnosti populacija. Podaci dobijeni u okviru ove disertacije su u skladu sa navodima Maroli et al. (Maroli and Bettini 1977b) da je *P. mascittii* uvek prisutan u populacijama niske projnosti.

Morfološke i anatomske karakteristike reproduktivnih organa mužjaka *Phlebotomus mascittii*

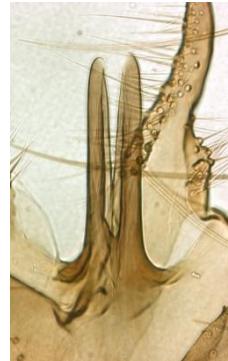
Koksopoditi mužjaka su dugački i prema terminalnom kraju blago se sužavaju. Pri sredini koksopodita uočljiva je grupacija dugačkih dlaka. Stilopoditi su upola kraći od koksopodita, nose 5 trnova od kojih su 2 pozicionirana terminalno, 2 subterminalno na jasno uočljivom izraštaju, a 1 trn medijalno takođe na uočljivom izraštaju (Šema 84). Paramere su jednočlane, proširene u bazi i ka vrhu se sužavaju. Syrstules su tanki i duži od koksopodita (Slika 131). Edeagusi su dosta kratki, jednostavnog izgleda i zaobljeni na vrhu (Slika 132). Genitalni filamenti su 5 puta duži od genitalne pumpe.



Šema 84. Spoljašnje genitalije *P. mascittii* (Izvor: Leger N.)



Slika 131. Spoljašnje i unutrašnje genitalije *P. mascittii* (Izvor: Leger N.)



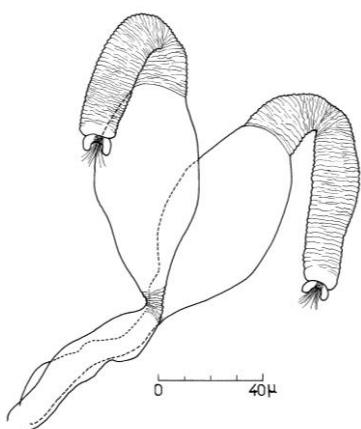
Slika 132. Edeagus *P. mascittii* (Izvor: Leger N.)

Mužjake iz podroda *Transphlebotomus* je dosta teško razlikovati jer imaju veoma sličnu građu spoljašnjih genitalija. Manje razlike uočavaju se prilikom preciznih merenja edeagusa, i posmatranjem rasporeda trnova na stilopoditima. Dodatni problemi prilikom identifikacije javljaju se kod vrsta čiji areali rasprostranjenja se preklapaju. To je slučaj sa vrstama *P. mascittii*, *P. anatomicus* i *P. killicki* čiji areali se preklapaju u regionu južne Turske, Sirije, Libana i Izraela.

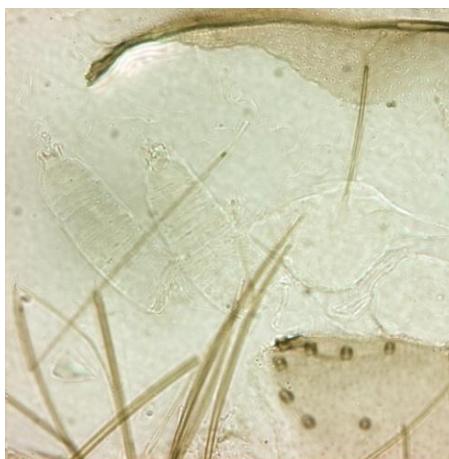
Morfološke i anatomske karakteristike reproduktivnih organa ženki *P. mascittii*

Ženke *P. mascittii* kao i ženke ostalih vrsta podroda *Transphlebotomus* imaju karakterističan izgled spermateka što im omogućava veoma lako razlikovanje i izdvajanje od ostalih podrobova. Baza spermateke *P. mascittii* je jednostavne građe bez dodatnih izraštaja, transparentna je i na trajnim preparatima se često ne može uočiti. Na bazu se nastavljaju veoma široki spermatekalni duktovi cevastog izgleda. Pri polovini duktata uočavaju se prstenasti nabori na koje se nastavlja vrećasto proširenje. Komora spermateke nije jasno izdiferencirana na telo i vrat, nastavlja se na kesasto proširenje duktata, plitko je segmentisana i na svom vrhu nosi jasno uočljivu žlezdanu glavu ovičenu

kragnom (Šema 85; Slika 133). Kao dodatni karakter prilikom morfološke identifikacije koristi se izgled farinksa koji je prikazan na slikama 134 i 135.



Šema 85. Spermateke *P. mascittii* (Izvor: Leger N.)



Slika 133. Spermateke *P. mascittii*
(Izvor: Leger N.)



Šema 134. Farinks *P. mascittii* (Izvor:
Leger N.)



Slika 135. Farinks
P. mascittii (Izvor:
Leger N.)

Kao i kod mužjaka, najveći problem prilikom identifikacije nastaje kod morfološki gotovo identičnih vrsta *P. mascittii*, *P. anatolicus* i *P. killicki* čiji areali se preklapaju. U oba slučaja za preciznu identifikaciju neophodna je primena molekularnih metoda.

Vektorski potencijal vrste *P. mascittii*

Opšte znanje o vektorskem potencijalu *P. mascittii* je nekompletno i veoma često kontradiktorno. Određeni autori smatraju da je *P. mascittii* autogena vrsta peščane mušice te da stoga nije bitna za transmisiju *Leishmania* sp.. Drugi autori predpostavljaju da se ova vrsta hrani kako na psima tako i na ljudima te je sposobna da prenosi bolest.

Pozitivni nalazi ženki *P. mascittii* na prisustvo *L. infantum* u Austriji (Obwaller et al. 2016) i Italiji (Zanet et al. 2014) doprineli su tome da ova vrsta bude označena kao potencijalni vektor *L. infantum* u Evropi. Nalazi *P. mascittii* kao jedine vrste peščane mušice u izolovanim žarištima lajšmanioze u Nemačkoj (Naucke et al. 2008b) dodatno su podržali ovu teoriju. Međutim, da bi *P. mascittii* bio zvanično uvršten na listu vektora *L. infantum* neophodno je sprovesti detaljne eksperimentalne studije.

10.10. *Sergentomyia* (*Sergentomyia*) *minuta* Rondani, 1843

Sinonimi: *P. meddionalis* (Pierantoni, 1924)
P. italicus (Adler & Theodor, 1931)
P. sardous (Bogliolo, 1934)
S. sequens (Perfilev, 1941)

Prvi zapisi koji se odnose na ovu vrstu datiraju još iz 1843. godine. Opis vrste i naziv *Phlebotomus minutus* predložio je Rondani na osnovu pregledanog materijala poreklom iz Parme, Italija (Rondani 1843). Posmatrajući osnovne karaktere građe i izgleda cibarijuma, koji se tradicionalno koriste kao jedan od glavnih markera za identifikaciju ženki do nivoa roda, vrsta *P. minutus* je 1948. godine zvanično svrstana u rod *Sergentomyia*, a naziv je promenjen u *Sergentomyia minuta* Rondani 1843.

Već 1958. godine nakon detaljnijeg posmatrana rasporeda i broja zubaca prisutnih u cibarijalnoj duplji uočeno je da broj zubaca varira u zavisnosti od geografske distribucije uzorka. Uzorci koji su pronalaženi u Evropi imali su oko 40 zubaca u cibarijalnoj duplji, dok su uzorci iz severne Afrike imali oko 70. Po navodima određenih autora (Addadi and Dedet 1977, Belazzoug et al. 1982) radi se o dve podvrste *S. minuta*: *S. minuta minuta* (zastupljena u Evropi) i *S. minuta parroti* (zastupljena u Africi). Po navodima drugih autora (Rioux et al. 1975, Leger et al. 1979) radi se o jednoj jedinstvenoj vrsti *S. minuta* kod koje je izražen intraspecijski polimorfizam koji zavisi od geografske distribucije (sever-jug). Izoenzimskim analizama utvrđeno je da podela na dve podvrste nije adekvatna i da je neophodno sprovesti dodatne analize posebno na uzorcima iz Mediteranskog basena kako bi se utvrdio i razrešio taksonomski status ove vrste (Boussaa et al. 2009).

S obzirom na to da još uvek nije utvrđeno da li je *S. minuta* vrsta sa izraženom morfološkom varijabilnošću ili se pak radi o kompleksu vrsta, u ovom radu biće predstavljeni rezultati za *S. minuta* kao jedinstvenu vrstu bez podele na podvrste.

Sergentomyia minuta je vrsta koja preferira regije sa višim temperaturama pa je u većem broju zastupljena u zemljama Afrike. U Evropi i Aziji ova vrsta peščane mušice može se naći u dosta manjem broju, pretežno je divlja vrsta koja se hrani na gmizavcima.

Geografska distribucija *S. minuta* u svetu

Sergentomyia minuta kao i većina vrsta roda *Sergentomyia* ima širok areal rasprostranjenja te se može naći širom Evrope, Azije i Afrike. Njeno prisustvo je do sada registrovano u svim Mediteranskim zemaljama Evrope (Portugal (Maia et al. 2015), Španija (Risueño et al. 2017), Francuska (Charrel et al. 2006), Italija (Dantas-Torres et al. 2014), Slovenija (Ivović et al. 2015), Hrvatska (Simić et al. 1950), Crna Gora (Ivović et al. 2003), Albanija (Adhami 1991), Grčka (Papadopoulos and Tselentis 1994)) ali i u mnogim kontinentalnim zemljama poput Kosova, Makedonije (Simić 1950b) i Rumunije (Dancesco 2008). Registrovana je i u zemaljama Afrike (Alžir (Bounamous et al. 2014), Maroko (Ouanaimi et al. 2015), Tunis (Jaouadi et al. 2015), Etiopija (Kirstein et al. 2013)) i Azije (Turska (Toprak and Ozer 2005), Sirija (Maroli et al. 2009)). Prisutna je na mediteranskim ostrvskim državama Kipar (Demir et al. 2010) i Malta (Depaquit et al. 2015).

Geografska distribucija *S. minuta* u Srbiji

U granicama bivše Jugoslavije prisustvo ove flebotomine registrovano je u Hrvatskoj, Crnoj Gori, Makedoniji i na Kosovu. Rasprostranjenost i brojna zastupljenost *S. minuta* varirala je u zavisnosti od regionalnih razlika, i u poređenju sa drugim vrstama peščanih mušica registrovanih na istim lokalitetima. *S. minuta* je detektovana u malom, gotovo zanemarljivom broju. Najveći broj primeraka uhvaćen je u Hrvatskoj u regionu Splita u mestima Solin, Stobreč, Klis, Kaštela, Brač, Šibenik, Benkovac i Sukošan (Simić et al. 1950). Znatno manji broj primeraka detektovan je u Crnoj Gori u regionu Titograda (Podgorica) dok su pojedinačni primerci nađeni u Kotoru, Novom Baru, Crnojevića Rijeci i Komarinu. U Makedoniji je pronađeno ukupno tri primerka, jedan u Starom Gradu i dva u Omoranu. Na Kosovu je uhvaćen samo jedan primerak u selu Vlašnje u blizini albanske granice (Simić 1950a).

Prema navodima Čedomira Simića (1950a), *S. minuta* je divlja vrsta flebotomine i preko dana se uglavnom skriva u kokošincima, stajama, napuštenim zgradama, bunkerima i sličnim objektima. Pored detaljnih istraživanja diverziteta i distribucije peščanih mušica u Srbiji sprovedenih u periodu 1947-1990 prisustvo ove vrste nije bilo registrovano ni na jednom od ukupno 264 istraživanih lokaliteta.

Prisustvo *S. minuta* u Srbiji prvi put je zabeleženo 18.7.2016. godine kada je prikupljena 1 ženka u Kraljevu kod Aleksinca (Mapa 14). Primerak je identifikovan Maldi-Tof metodom vršenom na Departmanu za parazitologiju Fakulteta za nauku na Čarls Univerzitetu u Pragu, Češka Republika³.



Mapa 14. Distribucija *S. minuta* Rondani, 1843 po okruzima Republike Srbije

Morfološke i anatomske karakteristike reproduktivnih organa mužjaka *S. minuta*

Kod mužjaka *S. minuta* prisutni su jaki koksopoditi i gotovo upola kraći stilopoditi. Dlake na koksopoditim su raspoređene duž čitavog članka bez posebne grupacije. Stilopoditi na svom terminalnom kraju nose četiri trna koji su slične dužine kao i sam članak. Svi trnovi su locirani u

³ Rezultati analize proteinskog spektra nisu dali ubedljive rezultate da je testirani primerak predstavnik vrste *S. minuta*

vršnom delu članka a dodatni izraštaji nisu izdiferencirani. Paramere i *syrstules* su relativno dugački i volumenozni, obrasli dlakama (Šema 86; Slika 136). Edeagusi su jednostavnog izgleda, bez dodatnih zubaca i izraštaja, relativno kratki i zaobljeni na vrhu (Slika 137).



Šema 86. Spoljašnje genitalije *S. minuta* (Izvor: Leger N.)



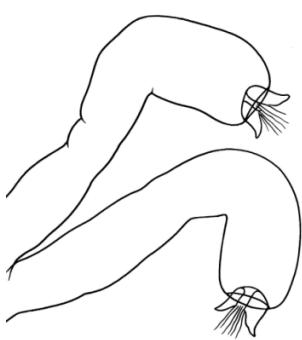
Slika 136. Spoljašnje i unutrašnje genitalije *S. minuta* (Izvor: Leger N)



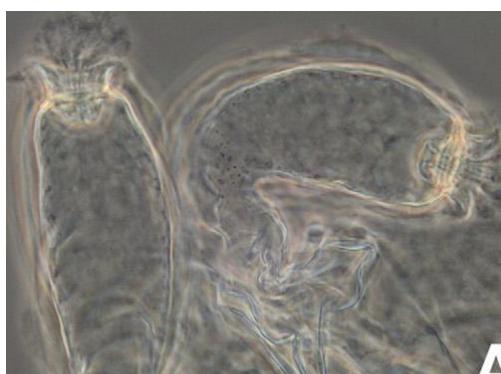
Slika 137. Edeagus *S. minuta* (Izvor: Leger N.)

Morfološke i anatomske karakteristike reproduktivnih organa ženki *S. minuta*

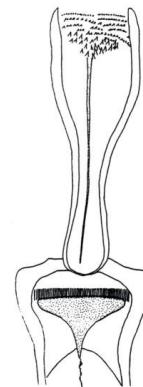
Za identifikaciju do nivoa vrste kod ženki neophodno je posmatrati građu i izgled spermatekalnih duktova. Spermateke kod roda *Sergentomyia* su slabije segmentisane nego kod roda *Phlebotomus* i često se ne mogu jasno uočiti razlike i prelazi između vrata i komore. Segmentacija komora uglavnom nije prisutna ili je slabo uočljiva. Same spermateke su mnogo tanjeg i mekšeg zida što ih čini dosta prozirnim. Na terminalnom kraju spermateke smeštena je glavica sa mnogobrojnim žlezdanim epitelnim ćelijama. Izgled žlezdane glavice je izuzetno značajan taksonomski karakter pošto je to često jedini deo spermateke koji se može uočiti na preparatu (Šema 87; Slika 138).



Šema 87. Spermatocele *S. minuta* (Izvor: Leger N.)



Slika 138. Spermatocele *S. minuta* (Izvor: Leger N.)



Šema 88. Cibarium i farinks kod *S. minuta* (Izvor: Leger N.)



Slika 139. Cibarium i farinks kod *S. minuta* (Izvor: Leger N.)

Drugi veoma bitan karakter za identifikaciju ženki do nivoa vrste je građa i izgled cibarialne duplje. Kod svih predstavnika *Sergentomyia* u cibarialnoj duplji prisutni su pigmentisana traka i zupci čiji izgled i raspored zavise od vrste. Kod *S. minuta* u cibarialnoj duplji jasno se može uočiti tamni region u obliku kupe (koji se na preparatima vidi kao trougao) iznad koga su smešteni sitni zupci. Zupci su gusto raspoređeni jedan do drugog u gotovo ravnoj liniji i njihov broj varira. Od morfoloških

karaktera glave posmatra se oblik farinksa kao i izgled faringijalne armature. Farinks kod *S. minute* je u obliku kruške. Bazalni deo bliže cibarijumu je sužen i idući ka treminalnom regionu se proširuje. Faringijalna armatura je skoncentrisana u vršnom regionu, sastavljena je od gusto zbijenih zubaca raspoređenih u relativno ravnomernim nizovima (Šema 88; Slika 139).

Vektorski potencijal vrste *S. minuta*

Vrste iz roda *Sergentomyia* su dokazani vektori *Sauroleishmania* sp. (paraziti koji izazivaju lajšmaniozu kod reptila i nisu patogeni za ljude). Razvoj sauroleišmanije u vektorima je uglavnom ograničen na zadnje crevo i parazit se na domaćina prenosi predatorstvom. Novija istraživanja ukazala su na prisustvo promastigota u ezofagusu, farinksu i proboscisu flebotomina i sugerisala na mogućnost transmisije prilikom uzimanja krvnog obroka (Sadlova et al. 2013).

U medicinskoj entomologiji vlada stav da vrste iz roda *Sergentomyia* nisu uključene u ciklus transmisije humanih patogena pošto se uglavnom hrane na reptilima. Međutim, u proteklih nekoliko godina dokazano je da mnogobrojne vrste iz roda *Sergentomyia* uključujući i *S. minuta* uzimaju krvni obrok sa čoveka i drugih toplokrvnih životinja poput glodara i pasa koji su i ujedno najčešći rezervoari bolesti (Maia et al. 2015). Nedavna detekcija DNK i izolacija *Leishmania* sp. parazita iz različitih vrsta *Sergentomyia* podržavaju indikacije o potencijalnoj mogućnosti prenosa patogenih vrsta *Leishmania* (Maia and Depaquit 2016). Detekcija RNK Toskana virusa (Charrel et al. 2006) iz Francuske i *L. major* u uzorcima *S. minuta* iz Portugala (Maia et al. 2015) i Tunisa (Jaouadi et al. 2015) kao i nedavno otkriće da se ova vrsta peščane mušice hrani krvlju glodara podstiče pitanje njihove uloge kao vektora. *Sergentomyia minuta* ima široku distribuciju u Mediteranskom basenu ali njena uloga kao vektora je nedovoljno istražena.

11. ZAKLJUČCI

U okviru ove disertacije na teritoriji Republike Srbije utvrđeno je prisustvo deset vrsta peščanih mušica: *P. papatasi*, *P. neglectus*, *P. perfiliewi* s.l., *P. tobbi*, *P. mascittii*, *P. serpent* s.l., *P. alexandri*, *P. simici*, *P. balcanicus* i *S. minuta*. Prisustvo sedam vrsta je predhodno registrovano, dok su tri vrste nove za faunu Srbije – *P. mascitti*, *P. alexandri* i *S. minuta*.

U okviru ove disertacije dati su morfološki prikazi adulta, pregled distribucije i brojnosti za deset vrsta registrovanih u Srbiji. Dobijeni rezultati predstavljaju jedinstveni doprinos nauci iz četiri osnovna razloga: (i) daju uvid u faunistički sastav flebotomina nakon višedecenijskog jaza u istraživanjima; (ii) determinacija na osnovu morfoloških karakteristika prvi put je potvrđena sekvencioniranjem COI regiona mitohondrijalnog gena i dobijene sekvene za vrste *P. papatasi*, *P. neglectus*, *P. perfiliewi* s.l., *P. tobbi*, *P. mascittii* i *P. balcanicus* iz Srbije priključene su banci podataka GenBank; (iii) prvi put je vršena analiza proteinskog spektra MALDI-TOF metodom i dobijeni rezultati za vrste *P. neglectus*, *P. perfiliewi* s.l., *P. serpent* s.l. i, *P. mascittii*, *P. balcanicus* biće uvršteni u jedinstvenu bazu podataka koja je trenutno u osnivanju; i (iv) nepravljen je prvi ključ za morfološku determinaciju odraslih mužjaka i ženki vrsta prisutnih u Srbiji, kao i vrsta koje se potencijalno mogu naći na teritoriji Republike Srbije.

Na osnovu iznetih rezultata može se zaključiti da je u periodu od 23 godine (1990-2013), koliko nije vršen monitoring peščanih mušica na teritoriji Republike Srbije došlo do značajnih promena kako faunističkog sastava tako i brojnosti ovih insekata na nivou države ali i na nivou istraživanih regiona.

Sve učestalije migracije ljudi i životinja, kao i konstantni porast trgovine i turizma verovatno su doprineli izmeni faunističkog sastava peščanih mušica na teritoriji Republike Srbije, dok su postojanje povoljnih klimatskih uslova koji pogoduju razviću peščanih mušica i obilje različitih tipova staništa i izvora hrane omogućili novim vrstama da se uspešno nastane.

Pored trenutno deset detektovanih vrsta, moguće je da su na teritoriji R. Srbije prisutne još dve vrste flebotomina – *Sergentomyia dentata* i *Phlebotomus perniciosus*, ali da je njihovo prisustvo ostalo nezabeleženo usled niske brojnosti. *Sergentomyia dentata* je vrsta koja se može naći u Makedoniji i nije isključeno da je prisutna na krajnjem jugu Srbije, dok je prisustvo vrste *P. perniciosus* zabeleženo u gotovo svim Mediteranskim zemljama Evrope.

Mnogo uočljivije promene zapažaju se u brojnosti peščanih mušica. U toku prošlog veka populacija ovih insekata bila je veoma visoka, pa se u jednoj prostoriji moglo prikupiti i do nekoliko stotina primeraka prilikom samo jednog uzorkovanja. Primena različitih mera za kontrolu brojnosti vektorskih vrsta insekata tokom dužeg vremenskog perioda najverovatnije je doprinela da se brojnost peščanih mušica u Srbiji drastično smanji. U toku četvorogodišnjeg istraživanja peščanih mušica u okviru ove teze, utvrđeno je da je brojnost flebotomina u Srbiji niska s obzirom na to da je po lokalitetu prikupljen mali broj primeraka (u proseku jedan do dva).

Najveće promene uočavaju se u brojnosti *P. papatasi* i *P. perfiliewi* s.l.. *Phlebotomus papatasi* je u toku prošlog veka bio dominantna vrsta u državi, kako po broju prikupljenih primeraka tako i po arealu rasprostranjenja. Prisustvo ove vrste bilo je registrovano na gotovo svim istraživanim lokalitetima u visokoj brojnosti. U prošlosti, najveći broj primeraka bio je prikupljen u regionu istočne i jugoistočne Srbije, dok je nešto manja brojnost zabeležena u zapadnim i severnim delovima države. U okviru ove teze utvrđeno je da je brojnost vrste *P. papatasi* značajno opala u regionu zapadne Srbije sa

Šumadijom a posebno u regionu istočne i jugoistočne Srbije. Prisustvo ove vrste detektovano je na svega nekoliko lokaliteta u okviru istraživanih regiona, a prikupljen broj primeraka bio je izuzetno nizak. S druge strane, imajući u vidu broj lokaliteta na kojima je registrovana ova vrsta, može se zaključiti da je u regionu Vojvodine *P. papatasi* zadržala status dominantne vrste po arealu rasprostranjenja. Naime, ova vrsta je registrovana u 44 lokaliteta na čitavoj teritoriji Vojvodine, iako je brojnost uhvaćenih primeraka u većini lokaliteta bila najčešće niska (maksimalno 20 jedinki na lokalitetu Vladimirovci). Na osnovu rezultata istraživanja utvrđeno je da brojnost *P. papatasi* naglo opada na delu teritorije Srbije južno od Dunava.

Drastičan pad brojnosti zapaža se i kod druge, u prethodnom veku značajne i brojne, vrste – *P. perfiliewi* s.l., koja je u odnosu na *P. papatasi* imala nešto uži areal rasprostranjenja u Srbiji. Ova vrsta bila je izuzetno brojna u regionu istočne i jugoistočne Srbije dok se u drugim regionima zemlje ređe mogla registrovati u značajnijoj brojnosti. U okviru ove teze prikupljeni su malobrojni primerci *P. perfiliewi* s.l. i to sa ograničenog broja lokaliteta u sva tri istraživana regiona.

Distribucija vrste *P. neglectus* nije se značajnije izmenila u periodu od 23 godine, međutim uočen je blaži pad u njenoj brojnosti. Vrsta je u prošlosti bila široko rasprostranjena u regionu zapadne Srbije sa Šumadijom kao i u regionu istočne i jugoistočne Srbije. U ovim regionima, obzirom na smanjenu brojnost *P. papatasi* i *P. perfiliewi* s.l. u ovim regionima, vrsta *P. neglectus* trenutno predstavlja dominantnu vrstu. Učestali nalaz *P. neglectus* u ovim regionima je u skladu sa biološkim i ekološkim zahtevima vrste, te nije iznenađujuće što je na većini lokaliteta registrovano upravo njeno prisustvo. U regionu Vojvodine, utvrđen je ograničen areal distribucije *P. neglectus*, obzirom da je ova vrsta zabeležena samo u jednom lokalitetu i to u jednom jedinom primerku.

Rezultati ovog istraživanja ne ukazuju na značajnije promene u distribuciji i brojnosti populacija vrsta *P. tobbi*, *P. simici*, *P. balcanicus* i *P. sergenti* s.l. s obzirom da su navedene vrste i u prošlosti bile zastupljene u niskoj brojnosti, a sporadični primerci su nalaženi širom zemlje.

Na osnovu poređenja istorijskih nalaza i rezultata dobijenih tokom ovog istraživanja može se zaključiti da je diverzitet peščanih mušica bio i ostao najveći u regionu istočne i jugoistočne Srbije i to u oblasti Dobriča. U datom regionu registrovano je prisustvo sedam vrsta (od kojih je *S. minuta* prvi put zabeležena u fauni Srbije). U odnosu na ovaj region, posmatrano ka zapadnim i severnijim delovima države diverzitet i brojnost peščanih mušica opada.

Svi deset vrsta peščanih mušica registrovanih na teritoriji Republike Srbije imaju vektorski potencijal za prenos protozoa iz roda *Leishmania*. *Phlebotomus papatasi* je specifični vektor *L. major*. *Phlebotomus sergenti* s.l. je vektor *L. tropica*. Vrste *P. neglectus*, *P. tobbi*, *P. balcanicus* i *P. perfiliewi* s.l. su dokazani vektori *L. infantum*. *Phlebotomus mascittii* je označen kao potencijalni vektori *L. infantum*. *Phlebotomus alexandri* je dokazani vektor *L. donovani* i potencijalni vektor *L. major*, *L. infantum* i *L. tropica killicki*. *Phlebotomus simici* je u prošlosti bio označen kao potencijalni vektor visceralne lajšmanioze u Srbiji, međutim detaljnija istraživanja na samom uzročniku oboljenja ali i na vektorskome potencijalu ove vrste nikada nisu sprovedena. Jedina registrovana vrsta iz roda *Sergentomyia* – *S. minuta*, je u nekoliko navrata bila označena kao potencijalni vektor *L. major*, međutim usled vladajućeg stava u naučnim krugovima da vrste iz ovog roda mogu da prenose samo *Sauroleishmania* sp., detaljnija istraživanja još uvek nisu sprovedena.

Najveći rizik za Evropu predstavlja introdukcija i cirkulacija *L. infantum* glavnog uzročnika visceralnog oblika lajšmanioze. Srbija je veoma značajna raskrsnica turizma i trgovine između

orientalnih zemalja i centralne/severne Evrope, a proteklih nekoliko godina je na direktnom udaru migracija ljudi iz zaraćenih područja. Usled toga, imajući u vidu da je prisustvo vektorskih vrsta flebotomina dokazano ovim istraživanjem, rizik od introdukcije parazita *Leishmania* sp. i uspostavljanja cirkulacije bolesti je značajno uvećan.

Peščane mušice iz podrodova *Larroussius* i *Phlebotomus* pored lajšmanioze mogu prenositi i fleboviruse. *Phlebotomus papatasi* je označen kao vektor virusa sicilijanskog serotipa, dok su *P. perniciosus*, *P. perfiliewi* i *P. neglectus* označeni kao potencijalni vektori. Napuljski virus je izolovan iz vrsta *P. perniciosus*, *P. perfiliewi* i *P. papatasi*. Toskana virus je izolovan iz vrsta *P. perniciosus* i *P. perfiliewi* koje se smatraju za glavne vektore oboljenja, ali iz vrste *S. minuta* za koju se veruje da ne učestvuje u transmisiji.

Dobijeni rezultati o diverzitetu i brojnosti vektorskih vrsta peščanih mušica na teritoriji Srbije predstavljaju saznanja od suštinske važnosti u utvrđivanju procene rizika od izbijanja epidemija lajšmanioze i flebovirusnih infekcija, kao i osnovu za kreiranje adekvatnih mera prevencije i kontrole ovih značajnih vektorski prenosivih bolesti.

12. LITERATURA

- Abbonnenc, E. 1972.** Les phlébotomes de la régionéthiopienne (Diptera, Psychodidae). En Mémoires ORSTOM. 1–289.
- Abdeladhim, M., R. C. Jochim, M. Ben Ahmed, E. Zhioua, I. Chelbi, S. Cherni, H. Louzir, J. M. C. Ribeiro, and J. G. Valenzuela. 2012.** Updating the Salivary Gland Transcriptome of Phlebotomus papatasi (Tunisian Strain): The Search for Sand Fly-Secreted Immunogenic Proteins for Humans. PLoS One. 7: e47347.
- Abonnenc, E., and N. Leger. 1976.** Sur une classification rationnelle des Diptères Phlebotominae. Cah. Off. Rech. sci. tech. O.-m. (Ent. med. parasit.). 14: 69–78.
- Addadi, K., and J. P. Dedet. 1977.** Un nouveau cas de gynandromorphisme chez *Sergentomyia minuta parroti* (Adler et Theodor, 1927) (Diptera, Psychodidae). Arch. Inst. Pasteur Alger. 52: 135–138.
- Adhami, J. 1991.** Morphological Abnormalities of Sandflies (Diptera, Psychodidae) in Albania. Parassitologia. 33: 169–173.
- Adier, S., and O. Theodor. 1929.** The distribution of sandflies and leishmaniasis in Palestine, Syria and Mesopotamia. Am. trop. Med. Parasit. 23: 269–306.
- Adler, S., and O. Theodor. 1931.** Investigations on Mediterranean Kala Azar. V.--Distribution of Sandflies of the Major Group in Relation to Mediterranean Kala Azar. Summary and Conclusions. Proceedings R. Soc. London. 494–502.
- Aghaei, A. A., Y. Rassi, I. Sharifi, H. Vatandoost, H. R. Mollaie, M. A. Oshaghi, M. R. Abai, and S. Rafizadeh. 2014.** First report on natural Leishmania infection of *Phlebotomus sergenti* due Leishmania tropica by high resolution melting curve method in South-eastern Iran. Asian Pac. J. Trop. Med. 7: 93–96.
- Ajaoud, M., N. Es-sette, S. Hamdi, A. El-Idrissi, M. Riyad, and M. Lemrani. 2013.** Detection and molecular typing of Leishmania tropica from *Phlebotomus sergenti* and lesions of cutaneous leishmaniasis in an emerging focus of Morocco. Parasit. Vectors. 6: 217.
- Akhoundi, M., K. Kuhls, A. Cannet, J. Votýpka, P. Marty, P. Delaunay, and D. Sereno. 2016.** A Historical Overview of the Classification, Evolution, and Dispersion of Leishmania Parasites and Sandflies. PLoS Negl. Trop. Dis.
- Al-Ajmi, R. A., T. H. Ayaad, M. Al-Enazi, and A. A. Al-Qahtani. 2015.** Molecular and Morphological Identification of Local Sand Fly Species (Diptera: Psychodidae) in Saudi Arabia. Pakistan J. Zool. 47: 1630–1625.
- Alten, B., C. Maia, M. O. Afonso, L. Campino, M. Jimenez, E. Gonzelez, R. Molina, A. L. Banuls, J. Prudhomme, B. Vergnes, C. Toty, C. Cassan, N. Rahola, M. Thierry, D. Sereno, G. Bongiorno, R. Bianchi, C. Khoury, N. Tsirigotakis, E. Dokianakis, M. Antoniou, V. Christodoulou, A. Mazeris, M. Karakus, Y. Ozbel, S. K. Arserim, O. Erisoz Kasap, F. Gunay, G. Oguz, S. Kaynas, N. Tservtsvadze, L. Tskhvaradze, E. Giorgobiani, M. Gramiccia, P. Volf, and L. Gradoni. 2016.** Seasonal Dynamics of Phlebotomine Sand Fly Species Proven Vectors of Mediterranean Leishmaniasis Caused by *Leishmania infantum*. PLoS Negl. Trop. Dis. 10.
- Antoniou, M., M. Gramiccia, R. Molina, V. Dvorak, and P. Volf. 2013.** The role of indigenous phlebotomine sandflies and mammals in the spreading of leishmaniasis agents in the Mediterranean region. Euro Surveill.
- Artemiev, M. M. 1980.** Revision of sandflies from subgenus Adlerius (Diptera, Phlebotominae, Phlebotomus). Zool. J.
- Artemiev, M. M., and V. Neronov. 1984.** Distribution and ecology of sandflies of the Old World

- (genus *Phlebotomus*). Inst. Evol. Morphol. Anim. Ecol. USSR Acad. Sci. Moskva. 1924–1929.
- Azizi, K., Y. Rassi, E. Javadian, M. H. Motazedian, S. Rafizadeh, M. R. Yaghoobi Ershadi, and M. Mohebali. 2006.** *Phlebotomus (Paraphlebotomus) alexandri*: a probable vector of *Leishmania infantum* in Iran. Ann. Trop. Med. Parasitol. 100: 63–68.
- Bahrami, A., Y. Rassi, N. Maleki, M. A. Oshaghi, A. Akhavan, M. R. Yagoobi-Ershadi, and S. Rafizadeh. 2014.** Leishmania infantum DNA detection in *Phlebotomus tobii* in a new northern focus of visceral leishmaniasis in Iran. Asian Pacific J. Trop. Dis. 4: 110–114.
- Bakhshi, H., M. A. Oshaghi, M. R. Abai, Y. Rassi, A. A. Akhavan, Z. Sheikh, F. Mohtarami, Z. Saidi, H. Mirzajani, and M. Anjomruz. 2013.** Molecular detection of *Leishmania* infection in sand flies in border line of Iran-Turkmenistan: Restricted and permissive vectors. Exp. Parasitol. 135: 382–387.
- Barhoumi, W., W. A. Qualls, R. S. Archer, D. O. Fuller, I. Chelbi, S. Cherni, M. Derbali, K. L. Arheart, E. Zhioua, and J. C. Beier. 2015.** Irrigation in the arid regions of Tunisia impacts the abundance and apparent density of sand fly vectors of *Leishmania infantum*. Acta Trop. 73–78.
- Bates, P. a. 2007.** Transmission of <I>Leishmania</I> metacyclic promastigotes by phlebotomine sand flies. Int. J. Parasitol. 37: 1097–106.
- Belazzoug, S., D. Mahzoul, K. Addadi, and J. P. Dedet. 1982.** *Sergentomyia minuta parroti* (Adler et Theodor, 1927) en Algérie (Diptera: Psychodidae). Systematique infraspecifique et répartition géographique. Ann. Parasitol. Hum. Comp. 57: 621–630.
- Berdjane-Brouk, Z., R. N. Charrel, I. Bitam, B. Hamrioui, and A. Izri. 2011.** Record of *Phlebotomus (Transphlebotomus) Mascittii* Grassi, 1908 and *Phlebotomus (Larroussius) Chadlii* Rious, Juminer & Gibily, 1906 Female in Algeria. Parasite. 18: 337–339.
- Bosnić, S., L. Gradoni, C. Khoury, and M. Maroli. 2006.** A review of leishmaniasis in Dalmatia (Croatia) and results from recent surveys on phlebotomine sandflies in three southern counties. Acta Trop. 99: 42–49.
- Boubidi, S. C., K. Benallal, A. Boudrissa, L. Bouiba, B. Bouchareb, R. Garni, A. Bouratbine, C. Ravel, V. Dvorak, J. Votypka, P. Volf, and Z. Harrat. 2011.** *Phlebotomus sergenti* (Parrot, 1917) identified as *Leishmania killicki* host in Gharda??a, south Algeria. Microbes Infect. 13: 691–696.
- Bounamous, A., V. Lehrter, L. Hadj-Henni, J. C. Delecolle, and J. Depaquit. 2014.** Limits of a rapid identification of common Mediterranean sandflies using polymerase chain reaction-restriction fragment length polymorphism. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 109: 466–472.
- Boussaa, S., A. Boumezough, B. Sibold, C. Alves-Pires, F. M. Marquez, N. Glasser, and B. Pesson. 2009.** Phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae) of the genus *Sergentomyia* in Marrakech region, Morocco. Parasitol. Res. 104: 1027–1033.
- Chaniotis, B., and Y. Tselenitis. 1996.** Water wells as a habitat of sand fly (Diptera: Psychodidae) vectors of visceral leishmaniasis in Greece. J Med Entomol. 33: 269–270.
- Charrel, R. N., P. Gallian, J. M. Navarro-Marí, L. Nicoletti, A. Papa, M. P. Sánchez-Seco, A. Tenorio, and X. De Lamballerie. 2005.** Emergence of Toscana virus in Europe. Emerg. Infect. Dis.
- Charrel, R. N., A. Izri, S. Temmam, X. De Lamballerie, and P. Parola. 2006.** Toscana virus RNA in *Sergentomyia minuta* flies. Emerg. Infect. Dis. 12: 1299–1300.
- Chelbi, I., D. Bray, and J. Hamilton. 2012.** Courtship behaviour of *Phlebotomus papatasi* the sand fly vector of cutaneous leishmaniasis. Parasit. Vectors. 5: 179.
- Christodoulou, V., M. Antoniou, P. Ntais, I. Messaritakis, V. Ivovic, J. P. Dedet, F. Pratlong, V. Dvorak, and Y. Tselenitis. 2012.** Re-Emergence of Visceral and Cutaneous Leishmaniasis in the Greek Island of Crete. Vector-Borne Zoonotic Dis. 12: 214–222.
- Colacicco-Mayhugh, M. G., P. M. Masuoka, and J. P. Grieco. 2010.** Ecological niche model of

- Phlebotomus alexandri and P. papatasi (Diptera: Psychodidae) in the Middle East. Int. J. Health Geogr. 9: 2.
- Dakić, Z. D., M. R. Pelemis, G. D. Stevanović, J. L. Poluga, L. S. Lavadinović, I. S. Milošević, N. K. Indić, I. V. Ofori-Belić, and M. D. Pavlović. 2009.** Epidemiology and diagnostics of visceral leishmaniasis in Serbia. Clin. Microbiol. Infect. 15: 1173–1176.
- Dancesco, P. 2008.** Les espèces de phlébotomes (Diptera: Psychodidae) de Roumanie, certains aspects de leur écologie et nouvelles stations de capture. Trav Mus Nat Hist Nat Grigore Antipa. 51: 185–199.
- Dancesco, P., J. P. Dedet, F. Ben Osman, and A. Chadli. 1970.** The Phlebotomids caught in foci of canine leishmaniasis in Tunis. Probable part played by *P. pernodosus* and *P. perfiliewi* in transmission. Les phlébotomes captures dans des foyers leishmaniose canine à Tunis. Role probable *P. pernodosus* *P. perfiliewi* dans la Transm.
- Dantas-Torres, F., V. D. Tarallo, and D. Otranto. 2014.** Morphological keys for the identification of Italian phlebotomine sand flies (Diptera : Psychodidae : Phlebotominae). 1–6.
- Davis, N. T. 1967.** Leishmaniasis in the Sudan republic. 28. Anatomical studies on *Phlebotomus orientalis* Parrot and *P. papatasi* Scopoli (Diptera: Psychodidae). J. Med. Entomol. 4: 50–65.
- Demir, S., B. Gocmen, and Y. Ozbel. 2010.** Faunistic study of sand flies in northern Cyprus. North. West. J. Zool. 6: 149–161.
- Depaquit, J., A. Bounamous, M. Akhouni, D. Augot, F. Sauvage, V. Dvorak, A. Chaibullinova, B. Pesson, P. Wolf, and N. Léger. 2013.** A taxonomic study of *Phlebotomus (Larroussius) perfiliewi* s. l. Infect. Genet. Evol. 20: 500–508.
- Depaquit, J., A. Bounamous, M. Akhouni, D. Augot, F. Sauvage, V. Dvorak, A. Chaibullinova, B. Pesson, P. Wolf, and N. Léger. 2013.** A taxonomic study of *Phlebotomus (Larroussius) perfiliewi* s. l. Infect. Genet. Evol. 20: 500–508.
- Depaquit, J., H. Ferte, N. Léger, F. Lefranc, C. Alves-Pires, H. Hanafi, M. Maroli, F. Morillas-Marquez, J. A. Rioux, M. Svobodova, and P. Wolf. 2002.** ITS 2 sequences heterogeneity in *Phlebotomus sergenti* and *Phlebotomus similis* (Diptera, Psychodidae): Possible consequences in their ability to transmit *Leishmania tropica*. Int. J. Parasitol. 32: 1123–1131.
- Depaquit, J., M. Grandadam, F. Fouque, P. E. Andry, and C. Peyrefitte. 2010.** Arthropod-borne viruses transmitted by Phlebotomine sandflies in Europe: a review. Euro Surveill.
- Depaquit, J., L. Hadj-Henni, A. Bounamous, S. Strutz, S. Boussaa, F. Morillas-Marquez, B. Pesson, M. Gállego, J. C. Delécolle, M. O. Afonso, C. Alves-Pires, R. A. Capela, A. Couloux, and N. Léger. 2015.** Mitochondrial DNA Intraspecific Variability in *Sergentomyia minuta* (Diptera: Psychodidae). J. Med. Entomol. 52: 819–828.
- Depaquit, J., N. Léger, and H. Ferté. 1998.** The taxonomic status of *Phlebotomus sergenti* Parrot, 1917, vector of *Leishmania tropica* (Wright, 1903) and *Phlebotomus similis* Perfiliev, 1963 (Diptera - Psychodidae). Morphologic and morphometric approaches. Biogeographical and epidemiological corollaries. Bull Soc Pathol Exot. 91: 346–352.
- Depaquit, J., N. Léger, H. Ferte, J. A. Rioux, J. C. Gantier, A. Michaelides, and P. Economides. 2001.** Phlebotomine sandflies of Cyprus. III - Species inventory. Parasite-Journal La Soc. Fr. Parasitol. 8: 11–20.
- Depaquit, J., T. J. Naucke, C. Schmitt, H. Ferté, and N. Léger. 2005.** A molecular analysis of the subgenus *Transphlebotomus* Artemiev, 1984 (*Phlebotomus*, Diptera, Psychodidae) inferred from ND4 mtDNA with new northern records of *Phlebotomus mascittii* Grassi, 1908. Parasitol. Res. 95: 113–116.
- Dokmanović, L., N. Krstovski, P. Rodić, and D. Janić. 2012.** Visceral leishmaniasis associated hemophagocytic lymphohistiocytosis. Paediatr. Today. 8: 65–69.
- Dostálová, A., and P. Wolf. 2012.** Leishmania development in sand flies: parasite-vector interactions

- overview. Parasit. Vectors. 5: 276.
- Duport, M., G. Lupascu, and A. Critescu. 1971.** Contribution à l'étude des phlébotomes des biotopes naturels de Roumanie. Arch. Roum. Path. Exp. Microbiol. 30: 387–398.
- Dvorak, V., a M. Aytekin, B. Alten, S. Skarupova, J. Votypka, and P. Wolf. 2006.** A comparison of the intraspecific variability of *Phlebotomus sergenti* Parrot, 1917 (Diptera: Psychodidae). J. Vector Ecol. 31: 229–238.
- Dvorak, V., K. Hlavackova, A. Kocisova, and P. Wolf. 2016.** First record of *Phlebotomus (Transphlebotomus) mascittii* in Slovakia. Parasite. 23: 48.
- Dvorak, V., J. Votypka, A. M. Aytekin, B. Alten, and P. Wolf. 2011.** Intraspecific variability of natural populations of *Phlebotomus sergenti*, the main vector of *Leishmania tropica*. J. Vector Ecol. 36.
- ECDC. 2016a.** *Phlebotomus papatasi*. Sand fly Distrib. maps. (http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/vector-maps/Pages/VBORNET_maps_sandflies.aspx).
- ECDC. 2016b.** *Phlebotomus neglectus*. Sand fly Distrib. maps. (http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/vector-maps/Pages/VBORNET_maps_sandflies.aspx).
- ECDC. 2016c.** *Phlebotomus alexandri* distribution map. Vector maps. (http://ecdc.europa.eu/en/healthtopics/vectors/vector-maps/Pages/VBORNET_maps_sandflies.aspx).
- El, T., B. Khoujaly, and E. Basheer. 2007.** Genetic studies on the *Leishmania* vector *Phlebotomus* spp. (Diptera:Psychodidae) from Sudan.
- Elliott, R. M., and B. Brennan. 2014.** Emerging phleboviruses. Curr. Opin. Virol. 5: 50–57.
- Ergunay, K., O. Erisoz Kasap, Z. Kocak Tufan, M. H. Turan, A. Ozkul, and B. Alten. 2012.** Molecular evidence indicates that *Phlebotomus major* sensu lato (Diptera: Psychodidae) is the vector species of the recently-identified sandfly fever Sicilian virus variant: sandfly fever turkey virus. Vector Borne Zoonotic Dis. 12: 690–698.
- Es-Sette, N., J. Nourlil, S. Hamdi, F. Mellouki, and M. Lemrani. 2012.** First detection of Toscana virus RNA from sand flies in the genus *Phlebotomus* (Diptera: Phlebotomidae) naturally infected in Morocco. J. Med. Entomol. 49: 1507–9.
- Esseghir, S., P. D. Ready, and R. Ben-Ismail. 2000.** Speciation of *Phlebotomus* sandflies of the subgenus *Larroussius* coincided with the late Miocene-Pliocene aridification of the Mediterranean subregion. Biol. J. Linn. Soc. 70: 189–219.
- Fakhar, M., M. H. Motazedian, G. R. Hatam, Q. Asgari, M. Kalantari, and M. Mohebali. 2008.** Asymptomatic human carriers of *Leishmania infantum*: possible reservoirs for Mediterranean visceral leishmaniasis in southern Iran. Ann. Trop. Med. Parasitol. 102: 577–583.
- Farkas, R., B. Tánczos, G. Bongiorno, M. Maroli, J. Dereure, and P. D. Ready. 2011.** First surveys to investigate the presence of canine leishmaniasis and its phlebotomine vectors in Hungary. Vector Borne Zoonotic Dis. 11: 823–834.
- Fausto, A. M., A. R. Taddei, M. Mazzini, and M. Maroli. 1999.** Morphology and ultrastructure of spiracles in phlebotomine sandfly larvae. Med. Vet. Entomol. 13: 101–109.
- Folmer, O., M. Black, W. Hoeh, R. Lutz, and R. Vrijenhoek. 1994.** DNA primers for amplification of mitochondrial cytochrome c oxidase subunit I from diverse metazoan invertebrates. Mol. Mar. Biol. Biotechnol. 3: 294–299.
- Franca, C. 1918.** Notes sur les espèces portugaises du genre *Phlebotomus*. Bull. Soc. Path. exot. 11: 730–733.
- Gaschen, H. 1956.** Présence de *Phlebotomus mascittii* Grassi 1908 dans le canton de Vaud. Mitt Schweiz Entomol Ges. 29: 223–225.

- Gebre-Michael, T., M. Balkew, A. Ali, A. Ludovisi, and M. Gramiccia. 2004.** The isolation of *Leishmania tropica* and *L. aethiopica* from *Phlebotomus* (*Paraphlebotomus*) species (Diptera: Psychodidae) in the Awash Valley, northeastern Ethiopia. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 98: 64–70.
- Giorgobiani, E., P. G. Lawyer, G. Babuadze, N. Dolidze, R. C. Jochim, L. Tskhvaradze, K. Kikaleishvili, and S. Kamhawi. 2012.** Incrimination of *phlebotomus kandelakii* and *Phlebotomus balcanicus* as vectors of *Leishmania infantum* in Tbilisi, Georgia. *PLoS Negl. Trop. Dis.* 6.
- Gligic, A., Z. Miscević, V. Zivkovic, and P. Spasic. 1981.** Characteristic morphological and immunological features of virus neewly isolated from sandflies (Diptera, Phlebotomidae) in Yugoslavia. *Microbiology.* 18: 1–10.
- Gossage, S. M., M. E. Rogers, and P. A. Bates. 2003.** Two separate growth phases during the development of *Leishmania* in sand flies: Implications for understanding the life cycle. *Int. J. Parasitol.* 33: 1027–1034.
- Grassi, B. 1908.** Intorno ad un nuovo flebotomo. *Atti Accad Naz Lincei Sci Fis Mat Nat Rend.* 17: 681–682.
- Guan Li-Ren, Xu Yong-Xiang, Li Bao-Shan, and Dong Jiang. 1986.** The role of *Phlebotomus alexandri* Sinton, 1928 in the transmission of kala-azar. *Bull. World Health Organ.* 64: 107–112.
- Guelmino, D. J., and M. Jevtic. 1952.** The epidemics of papatasi fever in the province of Vojvodina during the summer of 1951. *Extral du Bull. 1' Academie serbe.* 11: 1–2.
- Guzmán, H., and R. B. Tesh. 2000.** Effects of temperature and diet on the growth and longevity of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). *Biomédica.* 20: 190–199.
- Haddad, N., N. Leger, and R. Sadek. 2003.** Sandflies of Lebanon: Faunistic inventory. *Parasite.* 10: 99–110.
- Haddad, N., H. Saliba, A. Altawil, J. Villinsky, and S. Al-Nahhas. 2015.** Cutaneous leishmaniasis in the central provinces of Hama and Edlib in Syria: Vector identification and parasite typing. *Parasit. Vectors.* 8: 524.
- Hamarsheh, O., W. Presber, M. R. Yaghoobi-Ershadi, A. Amro, A. Al-Jawabreh, S. Sawalha, A. Al-Lahem, M. L. Das, S. Guernaoui, N. Seridi, R. C. Dhiman, Y. Hashiguchi, J. Ghrab, M. Hassan, and G. SchÖnian. 2009.** Population structure and geographical subdivision of the *Leishmania* major vector *Phlebotomus papatasi* as revealed by microsatellite variation. *Med. Vet. Entomol.* 23: 69–77.
- Handler, M. Z., P. A. Patel, R. Kapila, Y. Al-Qubati, and R. A. Schwartz. 2015.** Cutaneous and mucocutaneous leishmaniasis: Differential diagnosis, diagnosis, histopathology, and management. *J. Am. Acad. Dermatol.*
- Hewitt, S., H. Reyburn, R. Ashford, and M. Rowland. 1998.** Anthroponotic cutaneous leishmaniasis in Kabul, Afghanistan: Vertical distribution of cases in apartment blocks. *Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg.* 92: 273–274.
- Hussein, M. S. 1983.** The epidemiology of cutaneous leishmaniasis in Kuwait. *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 77: 27–33.
- Ilango, K., and R. P. Lane. 2000.** Coadaptation of male aedeagal filaments and female spermathecal ducts of the old world phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae). *J. Med. Entomol.* 37: 653–9.
- Ivović, V., M. Ivović, and Z. Miscević. 2003.** Sandflies (Diptera: Psychodidae) in the Bar area of Montenegro (Yugoslavia). *Ann. Trop. Med. Parasitol.* 97: 193–7.
- Ivović, V., K. Kalan, S. Zupan, and E. Bužan. 2015.** Illegal waste sites as a potential micro foci of Mediterranean Leishmaniasis: First records of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) from Slovenia. *Acta Vet. Brno.* 65: 348–357.
- Ivović, V., M. Patakakis, Y. Tselentis, and B. Chaniotis. 2007.** Faunistic study of sandflies in

- Greece. Med. Vet. Entomol. 21: 121–124.
- Izri, A., S. Temmam, G. Moureau, B. Hamrioui, X. De Lamballerie, and R. N. Charrel. 2008.** Sandfly fever sicilian virus, Algeria. Emerg. Infect. Dis. 14: 795–797.
- Izri, M. A., and S. Belazzoug. 1993.** Phlebotomus (Larroussius) perfiliewi naturally infected with dermotropic Leishmania infantum at Tenes, Algeria. Trans R Soc Trop Med Hyg. 87: 339.
- Izri, M. A., P. Marty, P. Fauran, Y. Le Fichoux, and J. J. Rousset. 1994.** [Phlebotomus perfiliewi Parrot, 1930 (Diptera, Psychodidae) from the southeast of France]. Parasite. 1: 286.
- Jaouadi, K., W. Ghawar, S. Salem, M. Gharbi, J. Bettaieb, R. Yazidi, M. Harrabi, O. Hamarsheh, and A. Ben Salah. 2015.** First report of naturally infected Sergentomyia minuta with Leishmania major in Tunisia. Parasit. Vectors. 8: 649.
- Jennings, M., and J. Boorman. 1983.** Laboratory infection of the sandfly Phlebotomus papatasi Scopoli (Diptera, Psychodidae) with three Phleboviruses. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 77: 62–64.
- Kasap, O. E., V. Dvorak, J. Depaquit, B. Alten, J. Votypka, and P. Wolf. 2015.** Phylogeography of the subgenus Transphlebotomus Artemiev with description of two new species, Phlebotomus anatolicus n. sp. and Phlebotomus killicki n. sp. Infect. Genet. Evol. 34: 467–479.
- Killick-Kendrick, R. 1990.** Phlebotomine vectors of the leishmaniases: a review. Med. Vet. Entomol. 4: 1–24.
- Killick-Kendrick, R. 1999.** The biology and control of Phlebotomine sand flies. Clin. Dermatol.
- Killick-Kendrick, R., Y. Tang, M. Killick-Kendrick, D. K. Sang, M. K. Sirdar, L. Ke, R. W. Ashford, J. Schorscher, and R. H. Johnson. 1991.** The identification of female sandflies of the subgenus Larroussius by the morphology of the spermathecal ducts. Parassitologia. 33 Suppl: 335–347.
- Kima, P. E. 2007.** The amastigote forms of Leishmania are experts at exploiting host cell processes to establish infection and persist. Int. J. Parasitol.
- Kirstein, O. D., R. Faiman, A. Gebreselassie, A. Hailu, T. Gebre-Michael, and A. Warburg. 2013.** Attraction of Ethiopian phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) to light and sugar-yeast mixtures (CO₂). Parasit. Vectors. 6: 341.
- Krüger, A., L. Strüven, R. J. Post, and M. Faulde. 2011.** The sandflies (Diptera: Psychodidae, Phlebotominae) in military camps in northern Afghanistan (2007–2009), as identified by morphology and DNA “barcoding”. Ann. Trop. Med. Parasitol. 105: 163–176.
- Léger, N., and J. Depaquit. 2002.** Systématique et biogéographie des Phlébotomes (Diptera: Psychodidae). Ann. la Société Entomol. Fr. 38: 163.
- Léger, N., and J. Depaquit. 2001.** Les phlébotomes et leur rôle dans la transmission des leishmanioses. Rev. Française des Lab. 2001: 41–48.
- Léger, N., J. Depaquit, H. Ferte, J. A. Rioux, J. C. Gantier, M. Gramiccia, A. Ludovisi, A. Michaelides, N. Christophi, and P. Economides. 2000.** [Phlebotomine sandflies (Diptera-Psychodidae) of the isle of Cyprus. II—Isolation and typing of Leishmania (Leishmania infantum Nicolle, 1908 (zymodeme MON 1) from Phlebotomus (Larroussius) tobii Adler and Theodor, 1930)]. Parasite. 7: 143–146.
- Léger, N., M. Gramiccia, L. Gradoni, G. Madulo-Leblond, B. Pesson, H. Ferté, N. Boulanger, R. Killick-Kendrick, and M. Killick-Kendrick. 1988.** Isolation and typing of Leishmania infantum from Phlebotomus neglectus on the island of Corfu, Greece. Trans R Soc Trop Med Hyg. 82: 419–420.
- Léger, N., R. MarchiaS, G. Madulo-Leblond, B. Pessen, A. Kristensen, H. Ferte, R. Killick-Kendrick, and M. Killick-Kendrick. 1991.** Les phlébotomes impliqués dans la transmission des leishmanioses dans l’île de Gozo (Malte). Ann. Parasitol. Hum. comparée. 66: 33–41.
- Léger, N., B. Pesson, and G. Madulo-Leblond. 1985.** A propos des problemes posés par la taxonomie

- des vecteurs de leishmanioses: le cas de *Phlebotomus major* Annandale, 1910 (Diptera-Psychodidae). Bull. la Soc.Fra.de Par. 31–34.
- Leger, N., A. Saratsiotis, B. Pesson, and P. Leger. 1979.** La leishmaniose en Grece. Resultats d'une enquête entomologique effectuée en juin 1977. Ann. Parasitol. Hum. Comp. 54: 11–19.
- Lewis, D. J. 1971.** Phlebotomid sandflies. Bull. World Health Organ. 44: 535–551.
- Lewis, D. J. 1975.** Functional morphology of the mouth parts in New World phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae). Trans. R. ent. Soc. Lond. 126: 497–532.
- Lewis, D. J. 1982.** Bulletin of the British Museum (Natural History) A taxonomic review of the genus *Phlebotomus*. Bull. Br. Museum (Natural Hist. 45: 120–166.
- Lewis, D. J., D. G. Young, G. B. Fairchild, and D. M. Minter. 1977.** Proposals for a stable classification of the Phlebotomine sandflies (Diptera: Psychodidae). Syst. Entomol. 2: 319–332.
- Maia, C., and J. Depaquit. 2016.** Can *Sergentomyia* (Diptera, Psychodidae) play a role in the transmission of mammal-infecting Leishmania? Parasite. 23: 55.
- Maia, C., R. Parreira, J. M. Cristóvão, F. B. Freitas, M. O. Afonso, and L. Campino. 2015.** Molecular detection of Leishmania DNA and identification of blood meals in wild caught phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) from southern Portugal. Parasit. Vectors. 8: 173.
- Maroli, M., and S. Bettini. 1977a.** Leishmaniasis in tuscany (Italy): (i) an investigation on phlebotomine sandflies in grosseto province. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 71: 315–321.
- Maroli, M., and S. Bettini. 1977b.** Leishmaniasis in tuscany (Italy): (i) an investigation on phlebotomine sandflies in grosseto province. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 71: 315–321.
- Maroli, M., M. D. Feliciangeli, L. Bichaud, R. N. Charrel, and L. Gradoni. 2013.** Phlebotomine sandflies and the spreading of leishmaniases and other diseases of public health concern. Med. Vet. Entomol.
- Maroli, M., M. Gramiccia, and L. Gradoni. 1987.** Natural infection of *Phlebotomus perfiliewi* with Leishmania infantum in a cutaneous leishmaniasis focus of the Abruzzi region, Italy. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 81: 596–598.
- Maroli, M., L. Jalouk, M. Alahmed, R. Bianchi, G. Bongiorno, C. Khoury, and L. Gradoni. 2009.** Aspects of the bionomics of *phlebotomus sergenti* sandflies from an endemic area of anthroponotic cutaneous leishmaniasis in aleppo governorate, Syria. Med. Vet. Entomol. 23: 148–154.
- Maroli, M., C. Khoury, R. Bianchi, E. Ferroglio, and A. Natale. 2002.** Recent findings of *Phlebotomus neglectus* Tonnoir, 1921 in Italy and its western limit of distribution. Parassitologia. 44: 103–109.
- Martinez-Ortega, E., and E. Conesa-Gallego. 1987.** Confirmation de la présence de *Phlebotomus perfiliewi* Parrot, 1930 (Diptera, Psychodidae) au Maroc. Ann. Parasitol. Hum. Comp. 102.
- Milovanović, M., and D. Popović. 1960.** Contribution to the study of kala-azar epidemic in PR Serbia. Glas Belgr. Hig Inst NR Srb. 23–27.
- Moncaz, A., R. Faiman, O. Kirstein, and A. Warburg. 2012.** Breeding sites of *Phlebotomus sergenti*, the sand fly vector of cutaneous leishmaniasis in the Judean desert. PLoS Negl. Trop. Dis. 6.
- Montoya-Lerma, J. 1992.** Autogeny in the Neotropical Sand Fly *Lutzomyia lichyi* (Diptera: Psychodidae) from Colombia. J. Med. Entomol. 29: 698–699.
- Di Muccio, T., M. Marinucci, L. Frusteri, M. Maroli, B. Pesson, and M. Gramiccia. 2000.** Phylogenetic analysis of *Phlebotomus* species belonging to the subgenus *Larroussius* (Diptera, Psychodidae) by ITS2 rDNA sequences. Insect Biochem. Mol. Biol. 30: 387–393.
- Muller, G. C., V. D. Kravchenko, L. Rybalov, J. C. Beier, Y. Schlein, Palestinian Central Bureau of Statistics, B. Khanal, A. Picado, B. NR, V. D. A. G, D. ML, B. Ostyn, D. CR, M. Boelaert, D. JC, R. S, M. of T. Palestinian Metrological Authority, T.**

Canaan, S. Yared, K. Deribe, A. Gebreselassie, W. Lemma, E. Akililu, O. D. Kirstein, M. Balkew, A. Warburg, T. Gebre-Michael, A. Hailu, W. Al-Salem, P. DM, K. Subramaniam, H. LR, L. Kelly-Hope, M. DH, H. SI, A. Acosta-Serrano, Arabic-IslamicStates, N. Bousslimi, K. Aoun, I. Ben-Abda, N. Ben-Alaya-Bouafif, M. Raouane, A. Bouratbine, S. NL, M. VK, A. Kanga, A. Sood, K. VM, I. Mauricio, S. CD, P. UC, S. VK, S. RC., K. M., E. K. Saliba, O. Y. Oumeish, C. L. Jaffe, G. Baneth, Z. A. Abdeen, Y. Schlein, A. Warburg, # Wasserberg G, Z. Abramsky, G. Anders, M. El-Fari, G. Schoenian, L. F. Schnur, K. BP, I. Kabalo, W. A., J. A. Postigo, Y. Schlein, A. Warburg, L. F. Schnur, S. M. Le Blancq, A. E. Gunders, PalestinianCentralBureauofStatistics, K. MG, Y. Antoniou, M. Antoniou, V. Christodoulou, A. Mazeris, S. ES., A. Al-Jawabreh, L. F. Schnur, A. Nasereddin, J. M. Schwenkenbecher, Z. A. Abdeen, F. Barghuthy, H. M. Khanfar, W. Presber, G. Schönian, E. K. Saliba, A. M. Disi, R. E. Ayed, N. Saleh, H. al-Younes, O. Y. Oumeish, R. al-Ouran, A. Al-Jawabreh, F. Barghuthy, L. F. Schnur, R. L. Jacobson, G. Schoenian, Z. A. Abdeen, Y. Schlein, A. Warburg, L. F. Schnur, A. E. Gunders, PalestinianCentralBureauofStatistics, S. Klaus, O. Axelrod, F. Jonas, S. Frankenburg, T. Kobets, H. Havelkova, I. Grekov, V. Volkova, J. Vojtiskova, M. Slapnickova, I. Kurey, Y. Sohrabi, M. Svobodova, P. Demant, M. Lipoldova, D. Talmi-Frank, C. L. Jaffe, A. Nasereddin, A. Warburg, R. King, M. Svobodova, O. Peleg, G. Baneth, E. E. Zijlstra, A. M. Musa, E. A. Khalil, I. M. el-Hassan, A. M. el-Hassan, S. Klaus, S. Frankenburg, R. L. Jacobson, C. L. Eisenberger, M. Svobodova, G. Baneth, J. Sztern, J. Carvalho, A. Nasereddin, M. El Fari, U. Shalom, P. Volf, J. Votypka, J.-P. P. Dedet, F. Pratlong, G. Schönian, L. F. Schnur, C. L. Jaffe, A. Warburg, J. Alvar, I. D. Velez, C. Bern, M. Herrero, P. Desjeux, J. Cano, J. Jannin, M. den Boer, A. E. Gunders, R. Lidror, B. Montilo, P. Amitai., I. M. Mosleh, G. Schönian, E. Geith, A. Al-Jawabreh, L. Natsheh, R. S. Bray, R. W. Ashford, M. A. Bray, W. Khan, H. A. Zakai, L. F. Schnur, A. Nasereddin, C. L. Eisenberger, C. L. Jaffe, M. El Fari, K. Azmi, G. Anders, M. Killick-Kendrick, R. Killick-Kendrick, J.-P. P. Dedet, F. Pratlong, M. Kanaan, T. Grossman, R. L. Jacobson, G. Schönian, A. Warburg., P. Olliaro, M. Vaillant, B. Arana, M. Grogl, F. Modabber, A. Magill, O. Lapujade, P. Buffet, J. Alvar, S. M. Jaber, J. H. Ibbini, N. S. Hijjawi, N. M. Amdar, M. J. Huwail, K. Al-Aboud, H. Mahmoudzadeh-Niknam, S. S. Kiaei, D. Iravani, K. Azmi, G. Schönian, A. Nasereddin, L. F. Schnur, S. S. Sawalha, O. Hamarsheh, S. Ereqat, A. Amro, S. E. Qaddomi, Z. A. Abdeen, L. Orshan, D. Szekely, Z. Khalfa, S. Bitton, N. O. El Tai, O. F. Osman, M. El Fari, W. Presber, G. Schönian, S. S. Sawalha, M. S. Shtayeh, H. M. Khanfar, A. Warburg, Z. A. Abdeen, P. Desjeux, R. S. Ghosh, P. Dhalaria, N. Strub-Wourgaft, E. E. Zijlstra, A. E. Gunders, A. Foner, B. Montilio., T. Canaan, M. Svobodova, J. Votypka, J. Peckova, V. Dvorak, A. Nasereddin, G. Baneth, J. Sztern, V. D. Kravchenko, A. Orr, D. Meir, L. F. Schnur, P. Volf, A. Warburg, T. Canaan, N. NI, del G. P, P. Marty, L. JP, C. Perrin, F. Pratlong, H. Haas, P. Dellamonica, L. F. Y., L. Lopes, P. Vasconcelos, J. Borges-Costa, L. Soares-Almeida, L. Campino, P. Filipe, A. Al-Jawabreh, G. Schoenian, O. Hamarsheh, W. Presber, AppliedResearchInstituteJerusalem, Huntemüller, M. Saroufim, K. Charafeeddine, G. Issa, H. Khalifeh, H. RH, A. Berry, N. Ghosn, A. Rady, I. Khalifeh, G. Schönian, A. Nasereddin, N. Dinse, C. Schweynoch, H. D. Schallig, W. Presber, C. L. Jaffe, L. F. Schnur, C. L. and Greenblatt, and B. L. Herwaldt. 2003. Leishmaniaisis worldwide and global estimates of its incidence. Trans R Soc Trop Med Hyg.

Müller, G. C., V. D. Kravchenko, and Y. Schlein. 2011. Seasonal and spatial changes of sand fly species in a canyon in the Carmel Mountains. J. Vector Ecol. 36.

Naucke, T. J., S. Lorentz, F. Rauchenwald, and H. Aspock. 2011. Phlebotomus (Transphlebotomus) mascittii Grassi, 1908, in Carinthia: First record of the occurrence of sandflies in Austria (Diptera: Psychodidae: Phlebotominae). Parasitol. Res. 109: 1161–1164.

- Naucke, T. J., B. Menn, D. Massberg, and S. Lorentz.** 2008a. Winter activity of *Phlebotomus* (*Transphlebotomus*) *mascittii*, Grassi 1908 (Diptera: Psychodidae) on the island of Corsica. *Parasitol. Res.* 103: 477–479.
- Naucke, T. J., B. Menn, D. Massberg, and S. Lorentz.** 2008b. Sandflies and leishmaniasis in Germany. *Parasitol. Res.* 103.
- Naucke, T. J., and B. Pesson.** 2000. Presence of *Phlebotomus* (*Transphlebotomus*) *mascittii* Grassi, 1908 (Diptera : Psychodidae) in Germany. *Parasitol. Res.* 86: 335–6.
- Newstead, R.** 1920. On the genus *Phlebotomus*. Part IV. *Sch. Trop. Med.* Liverpool. 305–311.
- Nitzulescu, V.** 1931. A propos du *Phlebotomus chinensis*. *Annis Parasit. hum. comp.* 9: 261–265.
- Nitzulescu, V.** 1933. Présence de *Phlebotomus macedonicus* en Italie. *Ann. Parasitol.* 11: 425–441.
- Ntais, P., D. Sifaki-Pistola, V. Christodoulou, I. Messaritakis, F. Pratlong, G. Poupalos, and M. Antoniou.** 2013. Leishmaniaoses in Greece. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 89: 906–915.
- Nzelu, C. O., A. G. Cáceres, M. J. Arrunátegui-Jiménez, M. F. Lañas-Rosas, H. H. Yañez-Trujillano, D. V. Luna-Caipo, C. E. Holguín-Mauricci, K. Katakura, Y. Hashiguchi, and H. Kato.** 2015. DNA barcoding for identification of sand fly species (Diptera: Psychodidae) from leishmaniasis-endemic areas of Peru. *Acta Trop.* 145: 45–51.
- Obwaller, A. G., M. Karakus, W. Poepll, S. Töz, Y. Özböl, H. Aspöck, and J. Walochnik.** 2016. Could *Phlebotomus mascittii* play a role as a natural vector for *Leishmania infantum*? New data. *Parasit. Vectors.* 9: 458.
- Oshaghi, M. A., Y. Rassi, T. Hazratian, E. Fallah, and S. Rafizadeh.** 2013. Natural infection of wild caught *Phlebotomus tobii* to *Leishmania infantum* in East Azerbaijan province, northwestern Iran. *J. Vector Borne Dis.* 50: 24–29.
- Ouanaimi, F., S. Boussaa, and A. Boumezzough.** 2015. Phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) of Morocco: Results of an entomological survey along three transects from northern to southern country. *Asian Pacific J. Trop. Dis.* 5: 299–306.
- Papadopoulos, B., and Y. Tselentis.** 1994. Sandflies in the Greater Athens region, Greece. *Parasite.* 1: 131–40.
- Papadopoulos, B., and Y. Tselentis.** 1998. Sandflies on the island of Corfu, Greece. *Parasite.* 5: 387–391.
- Parrot, L.** 1917. Sur un nouveau phlebotome algerien. *Phlebotomus sergenti* sp. nov. *Bull. Soc. Path. exot.* 10: 564–567.
- Parrot, L.** 1930. Notes sur les Phlébotomes IV. *Phlebotomus perfiliewi* n. sp. *Arch. Inst. Pasteur Algér.* 8: 303–309.
- Parvizi, P., S. R. Naddaf, and E. Alaeenovin.** 2010. Molecular Typing and Phylogenetic Analysis of Some Species Belonging to *Phlebotomus* (*Larroissius*) and *Phlebotomus* (*Adlerius*) Subgenera (Diptera: Psychodidae) from Two Locations in Iran. *Iran. J. Arthropod. Borne. Dis.* 4: 1–10.
- Perfiliev, P. P.** 1968. Sandflies (Family Phlebotomidae). Fauna of the USSR. New series. No 93. Insects, Diptera. Fauna USSR. 3: 382.
- Perfiliev P.P.** 1937. Sandflies. [In Russian.]. Fauna S S S R (N. S.). 1–144.
- Perfiliev P.P.** 1966. Diptera. Family Phlebotomidae. [In Russian.]. Fauna S S S R(N. S.). 1–382.
- Pesson, B., N. Leger, and G. Madulo-Leblond.** 1984. La leishmaniose en Grece: Les phlebotomes des Iles Ioniennes et de la mer Egee. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 59: 227–296.
- Petrishcheva, P. A.** 1935. The fauna, biology and ecology of the sandflies in Turkmeniya. Parasites, vectors Venom. Anim. In Russ. Rep. 25 sci. Anniv. Pavlov. 1909-1934, Moscow. 202–259.
- Pfeffer, M., M. Dilcher, R. B. Tesh, F. T. Hufert, and M. Weidmann.** 2013. Genetic characterization of Yug Bogdanovac virus. *Virus Genes.* 46: 201–202.
- Phillips, A., P. J. Milligan, M. Maroli, R. P. Lane, S. Kamhawi, G. Broomfield, and D. H. Molyneux.** 1990. Intraspecific variation in the cuticular hydrocarbons of the sandfly *Phlebotomus*

- perfiliwei* from Italy. Med. Vet. Entomol. 4: 451–457.
- Prudhomme, J., N. Rahola, C. Toty, C. Cassan, D. Roiz, B. Vergnes, M. Thierry, J.-A. Rioux, B. Alten, D. Sereno, and A.-L. Bañuls. 2015.** Ecology and spatiotemporal dynamics of sandflies in the Mediterranean Languedoc region (Roquedur area, Gard, France). Parasit. Vectors. 8: 642.
- Ready, P. D. 2014.** Epidemiology of visceral leishmaniasis. Clin. Epidemiol.
- Reithinger, R., J.-C. Dujardin, H. Louzir, C. Pirmez, B. Alexander, and S. Brooker. 2007.** Cutaneous leishmaniasis. Lancet Infect. Dis. 7: 581–596.
- Rioux, J. A., H. Croset, N. Leger, and N. Maistre. 1975.** Remarques sur la taxonomie infraspecifique de *Sergentomyia minuta*, *Sergentomyia africana* et *Sergentomyia antennata*. Ann. Parasitol. 50: 635–641.
- Rispail, P., and N. Léger. 1998.** Numerical Taxonomy of Old World Phlebotominae (Diptera: Psychodidae). 2. Restatement of Classification upon Subgeneric Morphological Characters. Mem. Inst. Oswaldo Cruz. 93: 787–793.
- Risueño, J., C. Muñoz, P. Pérez-Cutillas, E. Goyena, M. González, M. Ortúño, L. J. Bernal, J. Ortiz, B. Alten, and E. Berriatua. 2017.** Understanding *Phlebotomus perniciosus* abundance in south-east Spain: assessing the role of environmental and anthropic factors. Parasit. Vectors. 10: 189.
- Rondani, C. 1843.** Species italicae generis *Hebotomi*, Rndn ex insectis dipteris: fragmentum septimum ad inerviendam dipterologiam italicam. Annis Soc. ent. Fr. 2: 263–267.
- Sadlova, J., V. Dvorak, V. Seblova, A. Warburg, J. Votypka, and P. Volf. 2013.** *Sergentomyia schwetzi* is not a competent vector for *Leishmania donovani* and other *Leishmania* species pathogenic to humans. Parasit. Vectors. 6: 186.
- Sanchez Clemente, N., C. A. Ugarte-Gil, N. Solórzano, C. Maguiña, P. Pachas, D. Blazes, R. Bailey, D. Mabey, and D. Moore. 2012.** Bartonella bacilliformis: A Systematic Review of the Literature to Guide the Research Agenda for Elimination. PLoS Negl. Trop. Dis.
- Saulic, S. P. 1949.** Kala-azar in Macedonia and Serbia. Epidemiologic and geographic aspect. Hig Cas Hig Mikrobiol Epidemiol Sanit Teh. 1: 304–314.
- Savić-Jevđenić, S., Z. Grgić, B. Vidić, and B. Vujkov. 2007.** Canine leishmaniosis - A clinical case, p. 2. In IX Reg. Meet. Clin. Pathol. Ther. Anim. Palic. Faculty of Veterinary Medicine, Belgrade.
- Savić, S., B. Vidić, Z. Grgić, G. Bongiorno, and L. Gradoni. 2013.** Serological and clinical evidence of Leishmaniosis in a dog population living in a farm in northern Serbia, pp. 120–122. In Int. SCIVAC Congr. Canine Leishmaniosis Other Vector-Borne Dis. Our Curr. State Knowl.
- Sawalha, S. S., A. Ramlawi, R. M. Sansur, I. M. Salem, and Z. S. Amr. 2017.** Diversity , ecology , and seasonality of sand flies (Diptera : Psychodidae) of the Jenin District (Palestinian Territories). J. Vector Ecol. 42: 120–129.
- Scopoli, J. A. 1786.** Deliciae Florae Et Faunae Insubricae Seu Novae, Aut Minus Cognitae Species Plantarum Et Animalium Quas In Insubria Austriaca Tam Spontaneas, Quam Exoticas Vidit, Descripsit, Et Aeri Incidi Curavit. Pars I 1-85, [1], IX, Ticini, 1786-1788.
- Seblova, V., J. Myskova, J. Hlavacova, J. Votypka, M. Antoniou, and P. Volf. 2015.** Natural hybrid of *Leishmania infantum/L. donovani*: development in *Phlebotomus tobii*, *P. perniciosus* and *Lutzomyia longipalpis* and comparison with non-hybrid strains differing in tissue tropism. Parasit. Vectors. 8: 605.
- Seccombe, A. K., P. D. Ready, and L. M. Huddleston. 1993.** A catalogue of Old World phlebotomine sandflies (Diptera, Phlebotominae). Occas Pap Syst Entomol. 8: 1–57.
- Shaw, J. J. 1994.** Taxonomy of the genus *Leishmania*: present and future trends and their implications. Mem. Inst. Oswaldo Cruz.
- Simić, Č. 1932.** A contribution to the study of *Phlebotomus* and papataci fever. Hyg. Institute, Skopje. 3: 426–455.

- Simić, Č. 1950a.** Prilog poznavanju flebotomina Jugoslavije. VIII deo - Rasprostranjenost i brojna zastupljenost 9 flebotomina po pojedinim pokrajinama drzave. Glas Srp. Akad. Nauk. Odeljenje Med. Nauk. 17–34.
- Simić, Č. 1950b.** Prilog poznavanju flebotomina jugoslavije IV deo - 2 flebotomine iz grupe minutus-a u Jugoslaviji. Glas Srp. Akad. Nauk. CCII - Odeljenje Med. Nauk. 2: 75–83.
- Simić, Č. 1951.** Posleratna pojava papatačijeve groznice u Banatu. Glas Srp. Akad. Nauk. CCIV. Od. Med. Nauk. 4: 143–152.
- Simić, Č., D. Kostić, E. Nežić, and V. Živković. 1951.** Prilog poznavanju flebolomina Jugoslavije. VI deo - Flebotomine Vojvodine, Bosne, Hercegovine, Severne Dalmacije i Istre. Glas Srp. Akad. Nauk. CCII - Odeljenje Med. Nauk. 3: 81–86.
- Simić, Č., E. Nezic, and P. Tortalja. 1950.** Prilog poznavanju flebotomina Jugoslavije III deo - Fauna flebotomina Dalmacije. Glas Srp. Akad. Nauk. Odeljenje Med. Nauk. 2: 33–38.
- Simić, Č., and V. Živkovic. 1948.** Prilog poznavanju faune naših flebotomina -I deo- Makedonija, južna Srbija, Kosovo. Glas Srp. Akad. Nauk. Odeljenje Med. Nauk. 151–181.
- Simić, Č., and V. Živković. 1949.** Prilog poznavanju faune naših flebotomina I deo - Makedonija, južni deo Srbije i Kosmet. Glas Srp. Akad. Nauk. CXCIV, Odeljenje Med. Nauk. 1: 151–181.
- Simsek, F. M., B. Alten, S. S. Caglar, Y. Ozbel, a M. Aytekin, S. Kaynas, A. Belen, O. E. Kasap, M. Yaman, and S. Rastgeldi. 2007.** Distribution and altitudinal structuring of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) in southern Anatolia, Turkey: their relation to human cutaneous leishmaniasis. J. Vector Ecol. 32: 269–279.
- Sinton, J. A. 1928.** The Synonymy of the Asiatic Species of Phlebotomus. Indian J. Med. Res. 16: 297–324.
- Srinivasan, R., K. N. Panicker, and V. Dhanda. 1993.** Population dynamics of Phlebotomus papatasii (Diptera:Phlebotomidae) in Pondicherry, India. Acta Trop. 54: 125–130.
- Steverding, D. 2017.** The history of leishmaniasis. Parasit. Vectors. 10: 82.
- Strelkova, M., E. Ponirovsky, E. Morozov, E. Zhirenkina, S. Razakov, D. Kovalenko, L. Schnur, and G. Schönian. 2015.** A narrative review of visceral leishmaniasis in Armenia, Azerbaijan, Georgia, Kazakhstan, Kyrgyzstan, Tajikistan, Turkmenistan, Uzbekistan, the Crimean Peninsula and Southern Russia. Parasit. Vectors. 8: 330.
- Svobodová, M., B. Alten, L. Zídková, V. Dvořák, J. Hlavačková, J. Myšková, V. Šeblová, O. E. Kasap, A. Belen, J. Votýpka, and P. Volf. 2009.** Cutaneous leishmaniasis caused by Leishmania infantum transmitted by Phlebotomus tobii. Int. J. Parasitol. 39: 251–256.
- Svobodová, M., and J. Votýpka. 2003.** Experimental transmission of Leishmania tropica to hamsters and mice by the bite of Phlebotomus sergenti. Microbes Infect. 5: 471–474.
- Svobodová, M., J. Votýpka, L. Nicolas, and P. Volf. 2003.** Leishmania tropica in the black rat (*Rattus rattus*): Persistence and transmission from asymptomatic host to sand fly vector *Phlebotomus sergenti*. Microbes Infect. 5: 361–364.
- Tayeh, A., L. Jalouk, and S. Cairncross. 1997.** Twenty years of cutaneous leishmaniasis in Aleppo, Syria. Trans. R. Soc. Trop. Med. Hyg. 91: 657–659.
- Tesh, R. B. 1988.** The Genus Phlebovirus and Its Vectors. Ann. Rev. Entomol. 33: 169–1.
- Theodor, O. 1938.** On some Sandflies (Phlebotomus) of the sergenti Group in Palestine. Bull. Entomol. Res. 38: 91–98.
- Theodor, O. 1948.** Classification of the Old World species of the subfamily phlebotominae (Diptera, Psychodidae). Bull. Entomol. Res. 39: 85–115.
- Theodor, O. 1958.** Psychodidae-Phlebotominae. Fliegenpalaearkt.Reg. 1–55.
- Tonnoir, A. L. 1921.** Une Nouvelle espece Europeenne du genere Phlebotomus (Ph. neglectus). Ann.Soc.Ent.Belge. 61: 333–336.
- Toprak, S., and N. Ozer. 2005.** Sand fly species of Sanliurfa province in Turkey. Med. Vet. Entomol.

- 19: 107–110.
- Velo, E., a Paparisto, G. Bongiorno, T. Di Muccio, C. Khoury, S. Bino, M. Gramiccia, L. Gradoni, and M. Maroli.** 2005. Entomological and parasitological study on phlebotomine sandflies in central and northern Albania. *Parasite*. 12: 45–49.
- Verani, P., M. G. Ciufolini, S. Caciolli, A. Renzi, L. Nicoletti, G. Sabatinelli, D. Bartolozzi, G. Volpi, L. Amaducci, and M. Coluzzi.** 1988. Ecology of viruses isolated from sand flies in Italy and characterized of a new Phlebovirus (Arabia virus). *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 38: 433–9.
- Vit, D., H. Petr, H. Kristyna, D. Emmanouil, A. Maria, and V. Petr.** 2014. Identification of phlebotomine sand flies (Diptera: Psychodidae) by matrix-assisted laser desorption/ionization time of flight mass spectrometry. *Parasit. Vectors*. 7: 1–16.
- Volf, P., and J. Myskova.** 2007. Sand flies and Leishmania: specific versus permissive vectors. *Trends Parasitol.* 23: 91–92.
- Volf, P., Y. Ozbel, F. Akkafa, M. Svobodová, J. Votýpková, and K. P. Chang.** 2002. Sand flies (Diptera: Phlebotominae) in Sanliurfa, Turkey: relationship of *Phlebotomus sergenti* with the epidemic of anthroponotic cutaneous leishmaniasis. *J. Med. Entomol.* 39: 12–15.
- Volf, P., and V. Volfova.** 2011. Establishment and maintenance of sand fly colonies. *J. Vector Ecol.* 36: S1–S9.
- Watts, D. M., C. MacDonald, C. L. Bailey, J. M. Meegan, C. J. Peters, and K. T. McKee.** 1988. Experimental infection of *Phlebotomus papatasi* with sand fly fever Sicilian virus. *Am. J. Trop. Med. Hyg.* 39: 611–616.
- World Health Organization.** 2015. OMS | Leishmaniasis. WHO. 375.
- WRBU.** 2016a. *Phlebotomus papatasi*. (http://www.wrbu.org/sfID/sf_medspc/AD/PHpat_A.html).
- WRBU.** 2016b. *Phlebotomus perfiliewi*. (http://www.wrbu.org/sfID/sf_medspc/AD/PHprf_A.html).
- WRBU.** 2016c. *Phlebotomus tobii*.
- WRBU.** 2016d. *Phlebotomus alexandri*. (http://www.wrbu.org/sfID/sf_medspc/AD/PHalx_A.html).
- WRBU.** 2016e. *Phlebotomus simici*. (http://www.wrbu.org/sfID/sf_medspc/AD/PHsmc_A.html).
- Zahrani, M. A.-A.** 1988. Al-Zahrani, Mohammed Ali (1988) Epidemiology of the Leishmaniases in southwest Saudi Arabia. PhD thesis, London School of Hygiene & Tropical Medicine.
- Zanet, S., P. Sposimo, A. Trisciuoglio, F. Giannini, F. Strumia, and E. Ferroglio.** 2014. Epidemiology of *Leishmania infantum*, *Toxoplasma gondii*, and *Neospora caninum* in *Rattus rattus* in absence of domestic reservoir and definitive hosts. *Vet. Parasitol.* 199: 247–249.
- Zhioua, E., B. Kaabi, and I. Chelbi.** 2007. Entomological investigations following the spread of visceral leishmaniasis in Tunisia. *J. Vector Ecol.* 32: 371–374.
- Živkovic, V.** 1980. Faunistic and ecological investigations of sandflies (Diptera, Phlebotomidae) in Serbia. *Phlebotomus papatasi* (Scopoli 1786) and *Phlebotomus sergenti* (Parrot 1917). *Acta Vet. Brno.* 30: 67–68.
- Živkovic, V.** 1983. Faunistic and ecological investigation of sandflies (Diptera, Phlebotomidae) in Serbia - *P. perfiliewi* Parrot 1930. *Acta Vet. Brno.* 33: 123–134.
- Živković, V.** 1948. Prilog poznavanju flebotomina Jugoslavije - V deo - P.serganti, Odeljenje Prir. Nauk.
- Živković, V.** 1950. Prilog poznavanju faune nasih flebotomina V deo - Istocna, zapadna i severna Srbija. *Glas Srp. Akad. Nauk. CXCVII*, Odeljenje Med. Nauk. 2: 153–168.
- Živković, V.** 1967. Flebotomine (Diptera, Psychodidae) jugoistočne i istočne Srbije. *Glas Srp. Akad. Nauk. CCLXXI*, Odeljenje Med. Nauk. 179–188.
- Živković, V.** 1969. Flebotomine (Diptera, Psychodidae) zapadne Srbije, područja Vranja, Skoplja i Kumanova. *Glas Srp. Akad. Nauk. Odeljenje Med. Nauk.* 22: 1–7.
- Živković, V.** 1982. Faunistic and ecological investigation of sandflies (Diptera, Phlebotomidae) in Serbia - *P. major* Annandale 1910. *Acta Vet. Brno.* 32: 295–306.

Živković, V., Z. Miščević, and J. Keckaroska-Ilijeva. 1973. Flebotomine (Diptera, Psychodidae) nekih područja severne Makedonije u 1970 godini. Acta Parasitol. Jugosl. 4: 3–12.

Prilog 1.

Receptura za pripremu Marc-Andre rastvora za prosvetljavanje primeraka:

40gr Hloral hidrata
30ml Glacijalne sirćetne kiseline
30ml Destilovane vode

Prilog 2.

Receptura za pripremu SWAN fiksativa:

15gr Arapske gume
5ml Glacijalne sirćetne kiseline
3gr Glukoze
40gr Hloral hidrata
20ml Destilovane vode

Prilog 3.

Lokaliteti sa pozitivnim nalazima vrste *P. papatasi* na teritoriji Republike Srbije u periodu 2013-2016 (kordinate, datuma uzorkovanja, broj uzoraka, vrsta i pol)

Lokalitet	Kordinate		Broj jedinki	Datum uzorkovanja	Vrsta i pol
Opovo	45.0501220	20.4341260	8	21.07.2013.	<i>P. papatasi</i> (1♂5♀)
				11.06.2014.	<i>P. papatasi</i> (1♂1♀)
Indija	45.0353556	20.0790806	7	24.08.2013.	<i>P. papatasi</i> (2♂5♀)
Golubinci	44.9836306	20.0715722	3	24.08.2013.	<i>P. papatasi</i> (2♂1♀)
Putinci	44.9952167	19.9623000	10	24.08.2013.	<i>P. papatasi</i> (2♂8♀)
Ljukovo	45.0295639	20.0227056	1	24.08.2013.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
Vladimirovci	45.0322167	20.8762667	20	21.07.2013.	<i>P. papatasi</i> (7♂13♀)
Bečej	45.6151970	20.0268460	2	24.07.2013.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
				23.08.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
Kać	45.3033710	19.9292900	4	25.07.2013.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
				29.07.2013.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
				30.07.2013.	<i>P. papatasi</i> (1♂1♀)
Begeč	45.2380420	19.6228380	1	31.07.2013.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
Čenej	45.3692500	19.8042833	1	31.07.2013.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Stara Pazova	44.9839278	20.1797111	2	02.09.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♂1♀)
Budisava	45.2803167	19.9990833	1	22.07.2014.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Šajkaš	45.2664833	20.0925833	5	17.07.2014.	<i>P. papatasi</i> (1♂2♀)
				22.07.2014.	<i>P. papatasi</i> (2♂)
Žabalj	45.3755500	20.0761333	5	17.07.2014.	<i>P. papatasi</i> (1♂1♀)
				22.07.2014.	<i>P. papatasi</i> (3♂)
Mošorin	45.2967333	20.1547333	2	26.07.2014.	<i>P. papatasi</i> (1♂1♀)
Vilovo	45.2483500	20.1535500	1	26.07.2014.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
Perlez	45.2098500	20.3902333	2	26.07.2014.	<i>P. papatasi</i> (2♀)
Knićanin	45.1883167	20.3164167	2	26.07.2014.	<i>P. papatasi</i> (1♂1♀)
Ljuba	45.1568333	19.3911167	1	19.08.2014.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Kuzmin	45.3040833	19.9285889	1	30.07.2014.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Vrbas	45.5809000	19.6322000	1	14.08.2014.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Kula	45.6178500	19.5127333	1	14.08.2014.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Lok	45.2183000	20.2113333	4	26.07.2014.	<i>P. papatasi</i> (4♀)
Lug	45.1876667	19.5429667	1	21.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
Divoš	45.1115167	19.5095333	5	02.09.2015.	<i>P. papatasi</i> (2♀)
				21.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (2♂1♀)
Martinci	45.0132167	19.4452000	1	02.09.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
Ležimir	45.1138333	19.5672500	2	02.09.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
				21.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♀)

Bašaid	45.6356500	20.4080500	2	01.06.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
				16.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Nova Crnja	45.6698167	20.6086833	2	14.06.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♂1♀)
Banatsko Veliko Selo	45.8157167	20.6091500	1	16.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Aradac	45.3768667	20.3025833	1	03.06.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
Markovićevo	45.3249833	21.0331667	1	05.09.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Miletićevo	45.3037167	21.0601500	1	22.08.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Straža	44.9722500	21.3015000	1	16.06.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
Vračev Gaj	44.8822000	21.3702167	2	22.08.2015.	<i>P. papatasi</i> (1NA*)
				05.09.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
Banatska Palanka	44.8463833	21.3344667	2	14.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (2♂)
Parage	45.4154278	19.4045500	1	16.08.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Starčevo	45.4045000	19.7076333	1	28.06.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Ravno selo	45.4525200	19.6197600	8	20.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (6♂2♀)
Ratkovo	45.4482900	19.3300200	3	19.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (3♀)
Silbaš	45.3800600	19.5037600	1	19.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♀)
Kulpin	45.3970900	19.5907200	2	20.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (2♂)
Zmajevо	45.4445400	19.6998900	1	20.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (1♂)
Tovariševo	45.3557600	19.3191400	6	19.07.2015.	<i>P. papatasi</i> (2♂4♀)
Arbanasce	43.2713528	21.6455306	1	24.06.2014.	<i>P. papatasi</i> (1ž)
Jugbogdanovac	43.2697167	21.6449000	3	29.06.2014.	<i>P. papatasi</i> (2m/1ž)
Krasava	44.4312500	19.4414100	1	13.07.2016.	<i>P. papatasi</i> (1m)
Ukupno: 47			Ukupno: 134		

*NA – pol primerka nije poznat

Prilog 4.

Lokaliteti sa pozitivnim nalazima vrste *P. neglectus* na teritoriji Republike Srbije u periodu 2013-2016 (kordinate, datuma uzorkovanja, broj uzoraka, vrsta i pol)

Lokalitet	Kordinate		Broj jedinki	Datum uzorkovanja	Vrsta i pol
Svetozar Miletić	45.8497833	19.1965667	1	20.08.2015.	<i>P. neglectus</i> (1♀)
Aleksinac	43.5666667	21.7000000	14	23.06.2014.	<i>P. neglectus</i> (6♂1♀)
				28.06.2014.	<i>P. neglectus</i> (1♂3♀)
				18.07.2016.	<i>P. neglectus</i> (2♂1♀)
Arbanasce	43.2713528	21.6455306	1	29.06.2014.	<i>P. neglectus</i> (1♂)
Prugovac	43.5572000	21.7867000	12	25.06.2014.	<i>P. neglectus</i> (5♂4♀/1NA*)
				28.06.2014.	<i>P. neglectus</i> (1♂)
				20.07.2016.	<i>P. neglectus</i> (1♂)
Subotinac	43.6037167	21.6938000	2	27.06.2014.	<i>P. neglectus</i> (1♂1NA*)
Mozgovo	43.6571667	21.6628500	1	27.06.2014.	<i>P. neglectus</i> (1♂)
Bovan	43.6348167	21.7181167	2	27.06.2014.	<i>P. neglectus</i> (2♀)
Jugbogdanovac	43.2697167	21.6449000	1	29.06.2014.	<i>P. neglectus</i> (1♀)
Masurica	42.6638194	22.1636194	1	01.09.2015.	<i>P. neglectus</i> (1♂)
Guberevac	43.8091500	20.7793000	3	25.07.2015.	<i>P. neglectus</i> (3♀)
Polumir	43.5362900	20.6123300	15	27.07.2015.	<i>P. neglectus</i> (9♂5♀/1NA*)
Sebečevo	43.0833800	20.4117400	1	29.07.2015.	<i>P. neglectus</i> (1♀)
Sopoćani	43.1156300	20.3816700	2	29.07.2015.	<i>P. neglectus</i> (2♀)
Požežina	43.2180500	20.5518200	2	30.07.2015.	<i>P. neglectus</i> (1♂1♀)
Radošice	43.2971500	20.6885100	35	30.07.2015.	<i>P. neglectus</i> (1♂32♀/2NA*)
Vučiniće	43.1636900	20.3748800	1	31.07.2015.	<i>P. neglectus</i> (1♀)
Belici	43.1831800	20.3363800	5	31.07.2015.	<i>P. neglectus</i> (2♂3♀)
Gostun	43.1884500	19.7649700	1	02.08.2015.	<i>P. neglectus</i> (1♀)
Vinicka	43.3251700	19.6447500	3	02.08.2015.	<i>P. neglectus</i> (1♂2♀)
Nikojevići	43.7140900	19.8805000	2	06.08.2015.	<i>P. neglectus</i> (2♀)
Krasava	44.4312500	19.4414100	177	09.08.2015.	<i>P. neglectus</i> (21♂7♀/2NA*)
				13.07.2016.	<i>P. neglectus</i> (107♂41♀)
Banja Koviljača	44.5139800	19.1538300	2	11.08.2015.	<i>P. neglectus</i> (2♀)
Ukupno: 22			Ukupno:285		

*NA – pol primerka nije poznat

Prilog 5.

Lokaliteti sa pozitivnim nalazima vrste *P. perfiliowi* s.l. na teritoriji Republike Srbije u periodu 2013-2016 (kordinate, datuma uzorkovanja, broj uzoraka, vrsta i pol)

Lokalitet	Kordinate		Broj jedinki	Datum uzorkovanja	Vrsta i pol
Kačarevo	44.9623333	20.7128667	1	21.07.2013.	<i>P. perfiliowi</i> s.l. (♀)
Arbanasce	43.2713528	21.6455306	1	29.06.2014.	<i>P. perfiliowi</i> s.l. (♀)
Brest	43.2797861	21.7318556	1	29.06.2014.	<i>P. perfiliowi</i> s.l. (♀)
Jugbogdanovac	43.2697167	21.6449000	2	29.06.2014.	<i>P. perfiliowi</i> s.l. (♀)
Banatski Monoštor	45.9633000	20.2824167	1	16.07.2015.	<i>P. perfiliowi</i> s.l. (♀)
Melenci	45.5282972	20.3037944	1	29.07.2015.	<i>P. perfiliowi</i> s.l. (♀)
Radošići	43.2167528	22.5593389	2	30.07.2015.	<i>P. perfiliowi</i> s.l. (♀)
Masurica	42.6638194	22.1636194	1	01.09.2015.	<i>P. perfiliowi</i> s.l. (♀)
Aleksinac	43.5666667	21.7000000	1	18.07.2016.	<i>P. perfiliowi</i> s.l. (♀)
Ukupno: 9			Ukupno: 11		

*NA – pol primerka nije poznat

Prilog 6.

Lokaliteti sa pozitivnim nalazima vrste *P. tobbi* na teritoriji Republike Srbije u periodu 2013-2016 (kordinate, datuma uzorkovanja, broj uzoraka, vrsta i pol)

Lokalitet	Kordinate		Broj jedinki	Datum uzorkovanja	Vrsta i pol
Aleksinac	43.5666667	21.7000000	3	23.06.2014.	<i>P. tobbi</i> (1♂2♀)
Arbanasce	43.2713528	21.6455306	3	29.06.2014.	<i>P. tobbi</i> (1♀/2NA*)
Brest	43.2797861	21.7318556	6	29.06.2014.	<i>P. tobbi</i> (1♂5♀)
Jugbogdanovac	43.2697167	21.6449000	4	29.06.2014.	<i>P. tobbi</i> (4♀)
Bačvište	42.6573444	020.0208083	11	02.08.2015.	<i>P. tobbi</i> (7♂4♀)
Ukupno: 5			Ukupno: 27		

*NA – pol primerka nije poznat

BIOGRAFIJA

MSc Slavica Vaselek rođena je 24.11.1988. godine u Novom Sadu, gde je završila osnovnu i srednju školu. Osnovne akademske studije upisuje na Prirodno-matematičkom fakultetu u Novom Sadu, na Departmanu za biologiju i ekologiju. Po završetku osnovnih akademskih studija upisuje master akademske studije koje završava sa prosečnom ocenom 9,38 stiče zvanje Master profesor biologije.

Doktorske studije na Poljoprivrednom fakultetu u Novom Sadu upisala je školske 2012/2013 godine. Nakon prve godine studija postala je stipendista Ministarstva nauke, prosvete i tehnološkog razvoja Republike Srbije. U toku studija bavila se naučno-istraživačkim radom iz oblasti entomologije. U toku studija volonterski je učestvovala u realizaciji praktične nastave iz više predmeta iz oblasti Entomologije na Osnovnim akademskim studijama.

U okviru svog naučno-istraživačkog rada MSc Slavica Vaselek radila je na projektu "Praćenje zdravstvenog stanja divljači i uvođenje novih biotehnoloških postupaka u detekciji zaraznih i zoonoznih agenasa – analiza rizika za zdravlje ljudi, domaćih i divljih životinja i kontaminaciju životne sredine (TR31084)". Pored toga MSc Slavica Vaselek je bila nosilac projekta finansiranog of strane "Rufford" fondacije iz Velike Britanije pod nazivom "Diversity and spatial distribution of sand flies and pathogens they transmit (leismania, phleboviruses) in Vojvodina province (Serbia)".

MSc Slavica Vaselek autor je 18 publikacija štampanih u celosti ili u izvodu a rezultate svog rada predstavila je na preko 11 internacionalnih skupova.

Tečno govori, čita i piše engleski i španski jezik.