

# Řasy a sinice v potravě komárů

## Algae and blue-green algae as mosquito food

František R e t t i c h <sup>1)</sup>, Jiří P o p o v s k ý <sup>1)</sup> & Vladimír C e p á k <sup>2)</sup>

1) Státní zdravotní ústav, Šrobárova 48, CZ – 100 42 Praha

2) Katedra fyziologie a anatomie rostlin, Přírodovědecká fakulta Masarykovy University, Kotlářská 2, CZ – 611 37 Brno

### Abstract

Ten genera of cyanophytes and 73 genera of algae were found in the guts of *Aedes*, *Culex*, *Anopheles* and *Culiseta* larvae collected in various breeding places of the Elbe-Lowland (Bohemia) and Prague. The quality and quantity of blue-green algae and algae found in mosquito guts depended on their presence in the water of mosquito breeding places and on the feeding type (filter feeders, scrapers) of mosquito larvae. Chlorophycean algae possessing cell wall with sporopollenin and algae with a mucilaginous (jelly) envelope appeared undamaged by the digestive process. Also spores and resting stages tended to pass undamaged through the larval intestine tract.

### Úvod

Entomopatogenní bakterie *Bacillus thuringiensis israelensis* (*Bti*), objevená GOLDBERGEM & MARGALITEM (1977), se stala jedním z neúspěšnějších bio-insekticidů poslední doby. *Bti* je celosvětově používán především k selektivnímu hubení larev komárů a muchniček. Jeho význam při potírání malarie a říční slepoty (onchocerkózy) je skutečně obrovský. Sporadicky je užíván i u nás (RETTICH 1994). Přípravky na bázi *Bti* však mají nevýhodu v tom, že po aplikaci (např. postříkem) do líhnišť komárů zde nepersistují, a tak je třeba ošetření líhnišť často opakovat, a to zvláště při hubení acyklických populací larev komárů (např. *Anopheles* nebo *Culex*). *Bti* je požerový bioinsekticid, jeho spory nebo obsah spor, obsahující krystaly insekticidního endotoxinu, musí být larvami pozřeny. Proto koncem osmdesátých a počátkem devadesátých let (DE MARSAC et al. 1997, THIERY et al. 1991, DOUEK et al. 1992) vznikla myšlenka využití prokaryotních jednobuněčných sinic nebo bakterií (dlouhodobě přítomných ve vodě líhnišť) jako nosičů genu *Bti*, zodpovědných za tvorbu insekticidních endotoxinů. Nedostatečná exprese introdukovaných genů a hlavně celosvětový odpor k použití transgenních organismů ve volné přírodě tento odvážný projekt přinejmenším pozastavily. Též se ukázalo, že dlouhodobá přítomnost *Bti* ve vodě líhnišť by mohla urychlit vznik resistance k tomuto bioinsekticidu.

Ve spolupráci se Světovou zdravotnickou organizací (WHO) jsme sledovali roli řas a hlavně kokálních sinic v potravě našich, ale i tropických komárů (ARNOLD et al. 1994). Část údajů o výskytu sinic v líhništích komárů jsme již publikovali (ARNOLD et al. 1994) nebo jejich publikaci připravujeme (CEPÁK & RETTICH 2001). Existence řas v potravě larev komárů je známa velmi dlouho (RUDOLFS 1926, BARBER 1927, SENIOR-WHITE 1928, HOWLAND 1930, LAIRD 1988). Výskyt řas v potravě larev komárů na našem území dosud nebyl podrobněji popsán.

## Materiál a metodika.

Larvy komárů byly odchyťovány na různých lokalitách Polabí (Mělník, Poděbrady, Hradec Králové) a Prahy a v podchlazeném stavu (aby se pozastavil proces trávení) spolu se vzorky vody dopraveny do laboratoře. Trávicí trubice larev byla pak ihned desekována a střevní obsah prohlížen běžnými mikroskopickými metodami (HINDÁK ed. 1978). Při pozorování střevního obsahu jsme rozlišovali nálezy z přední části trubice (jícen, pharynx a přední část žaludku), střední části (žaludek) a zadní části (střevo a řiť).

V případě, že byla nutná fixace, byl použit Lugolův roztok. Sinice a řasy jsme determinovali podle klíče HINDÁK ed. (1978). Množství řas v trávicí soustavě a ve vzorcích vody jsme počítali pomocí Bürkerovy komůrky (SLÁDEČEK et al. 1989).

## Výsledky a diskuse.

V trávicím ústrojí larev čtyř rodů komárů (*Anopheles*, *Aedes*, *Culex* a *Culiseta*) bylo celkem nalezeno 10 rodů sinic a 73 rodů řas (viz tabulka 1). Larvy požíraly řasy a sinice bez vyhraněné preference a bez ohledu na jejich velikost a tvar (od několika  $\mu\text{m}$  do stovek  $\mu\text{m}$ ). Přítomnost řas a sinic v trávicím aparátu larev záležela na přítomnosti těchto organismů v jednotlivých typech líhnišť komárů a způsobu přijímání potravy. V tom se výsledky shodují s údaji v literatuře (DAHL 1988). Tak např. bentické rozsivky byly častěji nalézány ve střevech larev rodu *Aedes*, který se živí převážně na dně (bottom feeders), kdežto planktonní kokální řasy (*Chlorella*, *Scenedesmus* nebo *Monoraphidium*) byly nalézány ve velkých množstvích v larvách rodu *Culex*, který se živí filtrováním volné vody (filter feeders). Larvy rodu *Anopheles* tráví většinu času při hladině (interface feeders), ale příležitostně se živí i na dně (tabulky 4 a 5). To dokumentují nálezy jak planktonních řas, tak bentických rozsivek a zrněk písku v jejich trávicí trubici. Výskyt řas a sinic v líhništích (i v trávicím traktu larev) je však ovlivňován také proměnnými (teplotou, pH, obsahem živin, světlem) resp. sezónou (tabulka 3). Fluktuaci přítomnosti řas a sinic ve střevech pakomára *Chironomus crassicaudatus* pozoroval i ALI (1990).

V larvách 4. instaru *Anopheles messeae* bylo nalezeno podstatně více rodů řas a sinic než u nižších larválních stádií (tabulka 2). Podobně MERRITT et al. (1990) pozorovali vyšší výskyt euglen, rozsivek a sinic u larev 4. stadia *Coquillettidia perturbans*.

Srovnáním obsahu začátku a konce trávicí trubice larev jsme dospěli ke zjištění, že některé řasy se zdají být trávicím procesem nepoškozeny. Jde např. o řasy rodů *Chlorella*, *Scenedesmus*, *Monoraphidium*, které mají v buněčné stěně sporopolenin a řasy se slizovým obalem (*Dictyosphaerium*, *Planktosphaeria*). Totéž lze říci i o sporách a odpočívajících stádiích řas. Tato pozorování jsou ve shodě s jinými autory (MARTEN 1986). KHAWALED et al. (1989) pozoroval nestravitelnost také u některých sinic (*Synechocystis* sp.). Avšak některá naše pozorování ukázala, že larvy v kritickém stavu hladovění mohou (částečně) trávit i druhy řas s těmito odolnými obaly. Nestravitelnost některých zelených řas nám umožnila stanovit přibližné množství pozřených jedinců řas larvou 4. stadia u komárů *Culex pipiens*, *Anopheles maculipennis* a *Aedes aegypti*, které se pohybovalo v rozsahu  $5 \times 10^5$ - $2 \times 10^6$ . NILSSON (1987), který použil akridinovou oranž a epifluorescenci, nalézal ve střevech larev komárů *Aedes*, *Culex*, *Culiseta* a *Anopheles* v průměru  $6,68 \times 10^6$  až  $2,18 \times 10^7$  bakterií.

## Závěr

Řasy a sinice jsou významnou složkou potravy našich komárů. Stravitelnost či nutriční hodnota řas a sinic musí však být sledována speciálními metodami a s přihlédnutím na potravní chování jednotlivých druhů komárů.

## Poděkování

Tato práce získala finanční podporu Světové zdravotnické organizace (UNDP/World Bank/WHO Special Program for Research and Training in Tropical Diseases TDR, number ID 9105570).

## Literatura.

- ALI, A. (1990): Seasonal changes of larval food and feeding of *Chironomus crassicaudatus* (Diptera:Chironomidae) in a subtropical lake. J. Amer. Mosq. Contr. Assoc. 6: 84-87
- ARNOLD, A., CEPÁK, V., RETTICH, F. (1994): Isolation of coccal cyanophytes – prospective carriers of endotoxin genes - from tropical mosquito breeding places. Abs. 9th European SOVE Meeting. Barcelona. 26
- BARBER, M.A. (1927): The food of Anopheline larvae. Pub. Health Rep. U.S. Pub. Health Service 42: 22.
- CEPÁK, V., RETTICH, F. (2001): Scening of cyanophytes from mosquito breeding places with emphasis on unicellular species – potential recipients of Bti genes. Algological Studies.(v tisku).

- DAHL, C. (1988): Control potential in feeding mechanisms of mosquito larvae. Bull. Soc. Vector Ecol. 13:295-303.
- DE MARSAC, N.T., TORRE, F., SZULMAJSTER, J. (1897): Expression of the larvicidal gene of *Bacillus shaericus* 1593M in the cyanobacterium *Anacystis nidulans* R2. Mol. Gen. Genet. 109: 396-398.
- DOUEK, J., EINAV, M., ZARITSKY, A. (1992): Sensitivity to planting of *Esherichia coli* cells expressing the *cytA* gene from *Bacillus thuringiensis* var. *israelensis*. Mol. Gen. Genet. 232: 162-165.
- GOLDBERG, L. J, MARGALIT J. (1997): A bacterial spore demonstrating rapid larvicidal activity against *Anopheles sergentii*, *Uranotaenia unguiculata*, *Culex univittatus*, *Aedes aegypti* and *Culex pipiens*. Mosquito News 37: 355-358.
- HOWLAND, L. (1930) : Bionomical investigation of English mosquito larvae with special reference to their algal food. Journ. Ecology 18: 81-125
- KHAWALED, K., MULLA, M., ZARITSKY, A. (1989): Distribution and abundance of algae in mosquito development sites. Bull.Soc.Vector Ecol. 14: 71-80
- LAIRD, M. (1988): The natural history of larval mosquito habitats. Academic Press. 555 str.
- MARTEN, G.,G. (1986): Phytoplankton management for mosquito control: potential of indegestible green algae. J. Trop. Med. Hyg. 89:213-222.
- MERRITT, R.W., OLDS, E.J., WALKER, E.D. (1990): Natural food and feeding behavior of *Coquillettidia perturbans* larvae. J. Amer. Mosq. Contr. Assoc. 6: 35-42
- NILSSON, C. (1987): Feeding and food utilization by mosquito larvae. Disertační práce. Kat.zoologie. Univ. Uppsala. 269 str.
- RETTICH, F. (1994): Současné možnosti hubení komárů při jejich kalamitním výskytu. Zpravodaj sdružení DDD 3: 25-30.
- RUDOLFS, W. (1926): Food of mosquito larvae. Proc. 12th Ann. Meeting, New Jersey Mosq. Exterm. Assoc.:25-53.
- SENIOR-WHITE, R. (1928): Algae and the food of Anopheline larvae. Ind. J. Med. Res 15: 960-988.
- SLÁDEČEK, V. a kol. (1989): Biologický rozbor vod. Vydavatelství norem. 103 str.
- THIERY, I., NICOLAS, L., RIPPKA, R., DE MARSAC, N.,T (1991): Selection of Cyanobacteria isolated from mosquito breeding sites as a potential food source for mosquito larvae. App. Environ. Microbiol., 57:1354-1359.

Tabulka 1: Přehled rodů řas a sinic nalezených v obsahu trávicí trubice komárů rodu *Aedes*, *Culex*, *Anopheles* a *Culiseta* odchycených v terénu (Polabí, duben-srpen, 1990-1996, nomenklatura HINDÁK ed. 1978)

Table 1: Genera of algae and cyanobacteria found in mosquito guts (April – August 1990-1996, Labe Lowland)

Taxon	<i>Aedes</i>	<i>Culex</i>	<i>Anopheles</i>	<i>Culiseta</i>
CYANOPHYTA				
<i>Anabaena</i>			+	
<i>Borzia</i>			+	
<i>Chroococcus</i>	+			
<i>Coelosphaerium</i>			+	

<i>Gomphosphaeria</i>			+	
<i>Merismopedia</i>			+	
<i>Oscillatoria</i>	+		+	+
<i>Phormidium</i>	+	+		
<i>Synechococcus</i>	+			
<i>Synechocystis</i>			+	
CHROMOPHYTA				
CHRYSOPHYCEAE				
<i>Chrysococcus</i>	+			
<i>Mallomonas</i>		+		
<i>Ochromonas</i>				+
BACILLARIOPHYCEAE				
<i>Achnanthes</i>	+	+	+	+
<i>Amphora</i>			+	
<i>Caloneis</i>				+
<i>Hannaea</i>	+			
<i>Cyclotella</i>		+		
<i>Cocconeis</i>			+	
<i>Cymbella</i>	+			+
<i>Diatoma</i>			+	
<i>Epithemia</i>			+	
<i>Eunotia</i>	+		+	+
<i>Fragilaria</i>	+		+	
<i>Frustulia</i>	+			+
<i>Gomphonema</i>	+	+	+	+
<i>Hantzschia</i>	+			+
<i>Melosira</i>	+			+
<i>Navicula</i>	+		+	+
<i>Neidium</i>	+		+	
<i>Nitzschia</i>	+		+	+
<i>Pinnularia</i>	+		+	+
<i>Rhoicosphaenia</i>		+		
<i>Stauroneis</i>	+		+	
<i>Stephanodiscus</i>		+		
<i>Synedra</i>	+		+	
<i>Tabellaria</i>	+			
XANTHOPHYCEAE				
<i>Bumilleriopsis</i>		+		
<i>Ophiocytium</i>			+	
<i>Tribonema</i>	+	+	+	+
CHLOROPHYTA				
<i>Ankistrodesmus</i>			+	
<i>Botryococcus</i>			+	
<i>Characium</i>	+			
<i>Chlamydomonas</i>	+	+	+	
<i>Chlorella</i>	+	+	+	
<i>Chlorococcum</i>				+
<i>Closterium</i>			+	+
<i>Coelastrum</i>	+	+	+	

<i>Cosmarium</i>			+	+
<i>Crucigenia</i>		+		
<i>Dictyosphaerium</i>	+		+	
<i>Euastrum</i>	+			
<i>Eudorina</i>			+	
<i>Keratococcus</i>		+		
<i>Kirchneriella</i>		+		
<i>Klebsormidium</i>	+	+		+
<i>Lagerheimia</i>	+	+		
<i>Microspora</i>	+	+		+
<i>Monoraphidium</i>	+	+	+	
<i>Mougeotia</i>	+			
<i>Oedogonium</i>	+		+	+
<i>Oocystis</i>		+	+	
<i>Pandorina</i>			+	
<i>Pediastrum</i>			+	+
<i>Planktosphaeria</i>	+			
<i>Pleurococcus</i>	+			
<i>Protoderma</i>	+			
<i>Scenedesmus</i>	+	+	+	+
<i>Spirogyra</i>			+	
<i>Staurastrum</i>			+	+
<i>Stichococcus</i>		+		
<i>Stigeoclonium</i>	+			
<i>Tetraëdron</i>		+	+	
<i>Tetrastrum</i>			+	
<i>Ulothrix</i>	+	+		
<i>Zygnema</i>			+	
EUGLENOPHYTA				
<i>Colatium</i>	+			
<i>Euglena</i>	+	+	+	+
<i>Phacus</i>	+		+	
<i>Trachelomonas</i>	+	+	+	
DINOPHYTA				
<i>Gymnodinium</i>	+			
<i>Peridinium</i>	+		+	
CRYPTOPHYTA				
<i>Cryptomonas</i>			+	

Tabulka 2: Přehled rodů řas a sinic nalezených v obsahu trávicí trubice různých stádií larev komára *Anopheles messeae* (rybník Tuháň, Mělník, červenec 1992)

Table 2: List of algae found in mosquito guts during different stages of larval ontogeny of *Anopheles messeae* (locality Mělník, July 1992)

Rod	1.instar	2.instar	3.instar	4.instar
<i>Anabaena</i>		+	+	
<i>Borzia</i>			+	+
<i>Coelosphaerium</i>		+	+	+
<i>Gomphosphaeria</i>				+
<i>Merismopedia</i>				+
<i>Oscillatoria</i>				+
<i>Phormidium</i>			+	
<i>Ochromonas</i>				+
<i>Achnanthes</i>				+
<i>Amphora</i>	+	+	+	+
<i>Cocconeis</i>	+	+	+	+
<i>Cymbella</i>			+	+
<i>Fragilaria</i>			+	
<i>Gomphonema</i>	+	+		+
<i>Navicula</i>		+	+	+
<i>Nitzschia</i>	+		+	+
<i>Ankistrodesmus</i>		+		
<i>Botryococcus</i>		+	+	+
<i>Chlamydomonas</i>		+	+	+
<i>Coelastrum</i>		+	+	+
<i>Closterium</i>		+		+
<i>Cosmarium</i>		+		+
<i>Dictyosphaerium</i>		+	+	+
<i>Euastrum</i>		+		+
<i>Eudorina</i>	+	+	+	+
<i>Monoraphidium</i>				+
<i>Oedogonium</i>	+	+	+	+
<i>Pandorina</i>	+	+	+	+
<i>Pediastrum</i>			+	+
<i>Scenedesmus</i>	+	+	+	+
<i>Spirogyra</i>				+
<i>Staurastrum</i>				+
<i>Tetraedron</i>			+	
<i>Tetrastrum</i>		+		
<i>Ulothrix</i>		+	+	+
<i>Euglena</i>	+	+	+	+
<i>Trachelomonas</i>		+	+	+
<i>Peridinium</i>		+	+	+

Tabulka 3: Dominantní taxony řas a sinic nalezené v trávicí trubici larev *Anopheles messeae* v letním a podzimním období (lokalita Mělník, 1992, stupeň dominance 1-5 = vzácně až masově, pozitivní larva je larva v jejíž trávicí trubici byla nalezena zkoumaná řasa).

Table 3: Dominant algae and cyanobacteria taxa found in the guts of *Anopheles messeae* larvae caught at the edge of a fishpond in summer and autumn period (locality Mělník, 1992, degree of dominance 1 – 5 represents exceptional to massive occurrence, a positive larva is a larva with a certain alga in the guts)

Taxon	Léto		Podzim	
	% pozitivních larev	Stupeň dominance	% pozitivních larev	stupeň dominance
<i>Euglena sp</i>	90.5	1-5	65.0	1-5
<i>Achnanthes Minutissima</i>	76.2	1-5	0	
<i>Botryococcus Braunii</i>	57.1	1-4	40.0	2-4
<i>Chlamydomonas sp</i>	52.4	1-4	0	
<i>Amphora ovalis</i>	42.9	1-5	0	
<i>Pandorina morum</i>	33.3	1-2	50.0	1-4
<i>Trachelomonas sp</i>	0		35.0	3-5
<i>Oedogonium sp.</i>	0		30.0	2-5
<i>Amphora minor</i>	0		30.0	1
<i>Navicula avenacea</i>	28.8	1	0	
<i>Ulothrix zonata</i>	0		25.0	1-5
<i>Navicula sp.</i>	0		20.0	1-2
<i>Phormidium sp.</i>	0		20.0	1-2
<i>Euastrum sp.</i>	0		20.0	1
<i>Closterium sp.</i>	19.1	1-2	0	
<i>Ophiocytium sp.</i>	19.1	1	0	
<i>Cocconeis pediculus</i>	14.3	1	0	
<i>Fragilaria capucina</i>	9.5	1	0	



Tabulka 4: Složení volné vody a obsahu zažívacího aparátu larev komárů *Culex pipiens* v zahradním bazénku (lokality Praha, červen-srpen, 1992, vzorek volné vody z hloubky 1 cm pod hladinou).

Table 4: Organisms in water and in mosquito guts of *Culex pipiens* (locality Praha, summer 1992, algae, fungi, detritus, - negative, + rare, ++ abundant, +++ massive, \* number of cells in water per 1 ml )

	Řasy	<i>Chlamydomonas</i> Zygoty	Houby	Detritus
Volná voda	*	-	-	-
1. Instar	+++	-	-	-
2. Instar	+++	+	-	++
3. Instar	+++	++	?	++
4. Instar	+++	+++	+++	+++

Vysvětlivky: - nepřítomno \* řasy ve volné vodě v počtech buněk na 1 ml  
 + řídký výskyt (*Chlorella* sp.  $8,94 \times 10^4$   
 ++ velmi četný *Scenedesmus* sp.  $1,6 \times 10^4$   
 +++ masový *Kirchneriella* sp.  $1,6 \times 10^3$   
*Monoraphidium* sp.  $1,9 \times 10^5$ )

Tabulka 5: Průměrná abundance nestrávených řas v trávicí trubici larev různých druhů komárů odchytených v přírodním líhništi, lokality zahradní bazének Praha, červen-srpen, 1992, hodnoty jsou průměrem z 10 (*Anopheles*) nebo 20 (*Culex*, *Aedes*) larev

Table 5: Quantity of algae in mosquito guts (average numbers of cells in one specimen or in 1 ml of water\*\*, locality Praha, summer 1992, average values calculated from 10 or 20 specimens)

Druh larev/rod řas	<i>Monoraphidium</i>	<i>Scenedesmus</i>	Celkem
<i>Culex pipiens pipiens</i>	$7.2 \times 10^5$	$3.6 \times 10^4$	$7.6 \times 10^5$
<i>Anopheles maculipennis</i>	$4.3 \times 10^5$	$7.8 \times 10^4$	$5.1 \times 10^5$
<i>Aedes aegypti</i> *	$1.5 \times 10^6$	$7.4 \times 10^4$	$2.2 \times 10^6$
Voda**	$1.76 \times 10^6$	$6.6 \times 10^4$	$1.8 \times 10^6$

\* introdukované larvy 3 dny před odchytem/larvae introduced 3 days before sampling

\*\*počet buněk v 1 ml vody 1 cm pod hladinou/number of cells in 1 ml of water 1 cm below the surface