

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: BBI



Aneta Karafiátová

Potrava komárů a její vliv na plodnost a přenos parazitických prvoků

Mosquito bloodmeal and its effect on fecundity and protozoan parasite transmission

Bakalářská práce

Vedoucí práce: doc. Mgr. Milena Svobodová, Dr.

Praha, 2021

Prohlášení:

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, 13.08.2021

.....

Aneta Karafiátová

Poděkování

Ráda bych zde poděkovala vedoucí práce, paní doc. Mgr. Mileně Svobodové, Dr., za připomínky, cenné rady a trpělivost při vedení této práce. Také bych chtěla poděkovat svojí rodině za podporu během studia.

Abstrakt

Komáři jsou celosvětově rozšířeným hmyzem známým především pro svou schopnost přenášet patogeny (prvoky, viry, bakterie, helminty) způsobující medicínsky významná onemocnění, na která každým rokem zemře více než milion lidí. Tito vektorů mají širokou škálu zvířecích hostitelů, avšak jednotlivé rody mohou mít různé preference, například se mohou orientovat spíše na savce či na ptáky. Cílem této práce bylo odpovědět na otázky týkající se potravy komárů: jaké mají různé druhy komárů hostitelské preference, zda nasátá krev ovlivňuje plodnost samic a zda se plodnost liší po sání na různých hostitelích (savcích, ptácích, obojživelnících atd.), a nakonec i jestli může mít hostitelská krev vliv na vývoj a přenos parazitických prvoků.

Klíčová slova: hostitel, komár, vektor, krev, hostitelské preference, plodnost, přenos

Abstract

Mosquitoes are widespread insects known for their ability to spread pathogens (protozoans, viruses, bacteria, helminths) that are the causing agents of diseases resulting in more than a million deaths annually. These vectors feed on different animal species, however, some genera have preference for mammals or birds. The goal of this thesis was to answer questions focusing on the bloodmeal of the mosquito: whether different species have different host preferences, whether the ingested bloodmeal has an effect on the fecundity of the female mosquito and whether there are differences in fecundity when ingesting bloodmeal from different hosts (mammal, bird, amphibian etc.), and, lastly, whether the bloodmeal might have an effect on the development and transmission of parasitic protozoans.

Key words: host, mosquito, vector, blood, host preference, fecundity, transmission

Obsah

1 Úvod.....	1
2 Komár.....	2
2.1 Obecná charakteristika	2
2.2 Životní cyklus.....	3
2.3 Trávicí soustava.....	4
2.4 Faktory ovlivňující výběr hostitele.....	6
2.5 Hostitelská preference	9
3 Potrava a její vliv na plodnost	11
3.1 Potrava larev.....	11
3.2 Potrava samců	12
3.3 Potrava samic	13
3.3.1 Krev.....	13
3.3.2 Počet hostitelů	16
3.3.3 Cukr.....	16
4 Prvoci	17
4.1 Plasmodium.....	17
4.1.1 Obecná charakteristika	17
4.1.2 Životní cyklus.....	18
4.1.3 Přenos a vývoj	19
4.1.4 Ovlivnění jinými patogeny	22
5 Závěr.....	23
6 Seznam použité literatury.....	24

1 Úvod

Tato bakalářská práce pojednává o potravě komárů, především o její krevní složce, jejím vlivu na plodnost a na vývoj a přenos prvoků.

Komáři (čeleď Culicidae) jakožto dvoukřídlý hmyz patří mezi přenašeče významných patogenů, které inokulativně vpravují do svého hostitele. Přenos mezi těmito vektory a jejich hostiteli je zpravidla biologický, nikoli mechanický, tj. v mnoha případech v přenašeči dochází k množení a vývoji patogenu. Z tohoto důvodu komáři slouží jako efektivní přenašeči parazitických prvoků (*Plasmodium*, *Trypanosoma*), virů (West Nile virus, virus dengue, virus žluté zimnice a další), helmintů (filárie), ale i bakterií. Dle statistiky WHO ročně zemře na nemoci způsobené těmito patogeny více než milion lidí. Jako vektorů slouží pouze samice, protože samci se krví neživí. Obě pohlaví sají rostlinné šťávy, anautogenní samice ovšem k tvorbě snůšky potřebují i krevní složku, která jim dodá potřebné živiny a nastartuje tvorbu vajíček. Samice autogenních druhů, např. *Toxorhynchites*, živiny potřebné pro tvorbu snůšky zpravidla nezískávají z krve, ale ze zásob, které si vytvořily ve stádiu larvy (Steffan a Evenhuis 1981).

Samice komárů sají na širokém spektru zvířecích hostitelů. Výběr daného hostitele je ovlivněn řadou vnějších a vnitřních faktorů. Některé rody komárů více tíhnou k určitému typu hostitele, např. k savci či ptáku. Krev, kterou samice z hostitele nasaje, má vliv na plodnost samic, tedy i na počet nakladených vajíček. Z tohoto důvodu je pro samice důležité vybrat si co nejvhodnějšího hostitele a následně snést co největší snůšku. Kromě samotné plodnosti samic může mít potrava vliv i na parazitické prvoky, které komáři přenáší, a to nejen na jejich vývoj, ale i přenos.

2 Komár

2.1 Obecná charakteristika

Komáři (čeleď Culicidae) jsou kosmopolitně rozšířeným hmyzem známým především pro svou schopnost přenášet nejrůznější patogeny. Patří mezi dlouhorohé dvoukřídle (nematocerní Diptera), jsou tedy hmyzem s proměnou dokonalou – jejich životní cyklus se skládá ze stadia vajíčka, larvy, kukly a dospělé. Jejich tělo je kryto kutikulou (která brání vyschnutí a zároveň slouží jako ochrana proti patogenům) a je děleno na tři části: hlavu, hrud' a zadeček. Typickými znaky tohoto hmyzu je bodavě savé ústní ústrojí a dlouhá tykadla (s pohlavním dimorfismem) na hlavě, tři páry nevětvených, štíhlých končetin, z nichž se každý pár připojuje na jednu ze tří částí hrudi, a druhý (zadní) pár křídel přeměněný v kyvadélka (haltery). Obě pohlaví se živí rostlinnými cukry (šťávami, nektarem), anautogenní samice ovšem vyhledávají i hostitele, z něhož poté získají krev, kterou použijí pro tvorbu snůšky (Volf et al. 2007, kap. 4.4.5.1).

Komáři patří mezi tzv. solenofágní hmyz, což znamená, že krev sají přímo z cévy hostitele. Svou oběť vyhledávají především čichem, jsou velmi citliví na rozpoznávání změn v koncentraci CO₂. K sání používají své bodavě savé ústní ústrojí. Na bázi sosáku (proboscis) se nacházejí párová makadla, sloužící jako smyslový orgán. Do hostitele je vpichována úzká část sosáku, složená z párových (mandibuly, maxily) a nepárových (hypopharynx, labrum) styletů. Spodní pysk (labium) se pouze ohne, ale neputuje dovnitř místa vpichu. Na hostiteli (obratlovci) komáři tráví poměrně krátkou dobu, dají se tedy označit za mikropredátory. Tato doba (a úspěšnost sání) se může lišit v závislosti na aktivitě a obraně hostitele (Edman et al. 1974), jakož i na prostředí, v němž se hostitel pohybuje (laboratorní podmínky vs. přirozené prostředí).

Různé rody komárů mohou sát na různých místech (venku či v uzavřených prostorách) a na rozličných hostitelích – někteří se specializují na savce (včetně člověka – např. rod *Aedes*), jiní na ptáky (rod *Culex*). Odlišnosti najdeme i v denní době, kdy vyhledávají hostitele a krmí se na něm – mnozí sají spíše k večeru a v noci, ovšem některé rody jsou schopny sát krev i během dne (rod *Aedes*). Sání k večeru a během noci je výhodné z několika důvodů – na dospělé působí řada biotických i abiotických faktorů, kterými jsou kupříkladu hmyzožraví živočichové, teplota či vítr. S přicházejícím večerem dochází ke snížení teploty, což je pro komára výhodné vzhledem k omezení ztrát vody v těle. Zklidňují se i povětrnostní podmínky, takže se komárům lépe létá a snadněji vyhledávají potravu. Výhodou večerního krmení je i to,

že se mnoho obratlovců ukládá ke spánku, což vede ke snížení míry predace (pokud ovšem komár nepotká nočního predátora, který by jej mohl ulovit). Krmení během dne pro komáry představuje větší riziko. Z tohoto důvodu se např. *Ae. triseriatus* zaměřuje na obratlovce, kteří se vyhýbají predátorům pomocí svého nenápadného zbarvení, jako jsou veverka či jeleni (Day a Edman 1984).

Vyhledávání hostitele i tvorba vajíček je řízena dvěma hormony – ekdyzonem a juvenilním hormonem. Mladý komár má nízkou hladinu obou těchto hormonů, to se ovšem změní v momentě, kdy dojde k vyvinutí trávicího aparátu a látek ve slinných žlázách. Hladina juvenilního hormonu se zvedne a komár dostane impulz k vyhledání hostitele. Po nasátí krve se hladina juvenilního hormonu sníží a neurosekretorní hormon, produkován v mozkových gangliích, spustí tvorbu ekdysonu v ovarích, čímž se nastartuje vývoj oocytů (vajíček) v ovariolách. Samice do 72 hodin po nasátí krve během jedné snůšky nakladou až 120 vajíček (Clements 1992).

2.2 Životní cyklus

Vývoj komářích larev je vázán na vodu, proto samičky svá vajíčka kladou do stojatých, většinou sladkých vod, pouze kolem 5 % druhů se rozmnožuje v brakických vodách (Cheng 1976). I ve způsobech kladení vajíček se ovšem dají nalézt rozdíly mezi jednotlivými rody komárů – samičky rodu *Culex* kladou svá vajíčka na vodní hladinu ve shlucích, kdežto členové rodu *Anopheles* je kladou samostatně. Zajímavou strategii mají komáři rodu *Aedes* – vajíčka kladou buď na suché okraje nad hladinou vody zadržované ve vodní nádrži, nebo na místa na zemi, která budou později zaplavena. Jejich larvy se vylíhnou po zatopení vodou (v případě umělé nádrže) nebo s příchodem záplav, což pak vede k hromadnému líhnutí a kalamitnímu výskytu komárů (Volf et al. 2007, kap. 4.4.5.1).

Larvy komárů postrádají končetiny, mají ale vyvinutou hlavovou kapsuli, na níž se nachází kousací ústní ústrojí. Většina z nich není dravá, patří mezi filtrátory, živí se mikroorganismy a organickými zbytky ve vodě, některé ovšem mohou lovit ostatní jedince ve svém okolí. Během svého vývoje je jedna larva rodu *Toxorhynchites* schopna ulovit kolem 300-5000 jiných larev (Focks 2007). Larvy dýchají vzdušný kyslík pomocí dýchacího sifa, které se nachází na konci zadečku, což má za následek charakteristické visení larev hlavou dolů. I zde opět najdeme výjimky – larvy rodu *Anopheles* leží vodorovně těsně pod vodní hladinou a dýchají kyslík pomocí tzv. stigmální destičky. Larvy mají celkem čtyři larvální stadia (instary). Působí na ně biotické (vnitrodruhová kompetice, predace) i abiotické (teplota,

vlhkost) faktory, které pak mají vliv nejen na další vývoj, ale i chování dospělých stádií. Velké množství larev na jednom místě vede k intenzivnější vnitrodruhové (i mezidruhové) kompetici, což může vést ke zhoršení dostupnosti potravy a tím nakonec i k vývoji menších, slabších dospělců s kratšími křídly (Chandrasegaran et al. 2018).

Po posledním svléknutí se larva přemění v kuklu. Toto stádium je stále vodní, není schopno přijímat potravu a v klidu se vznáší u vodní hladiny (Shuey et al. 1987). Ani toto stádium ale není zcela nehybné – v případě vyrušení nebo v přítomnosti predátora jsou kukly schopny aktivního potápění. Jak hluboko se kukla potopí a kolik energie na tento pohyb vynaloží záleží na tom, co ji vyrušilo – v přítomnosti predátora vynaloží energie více a potopí se hlouběji, než při pouhém rozrušení vodní hladiny (Awasthi et al. 2012).

Dospělci se na rozdíl od larev pohybují na souši a přijímají jinou potravu, takže mají i odlišné ústní ústrojí. Obě pohlaví mají bodavě savé ústní ústrojí, přičemž samci jej používají pouze pro nasátí sladkých rostlinných šťáv, které si pak ukládají ve svém voleti. Samice rostlinné cukry přijímají také, ale ve většině případů navíc potřebují i krev, která pak slouží jako zdroj živin pro vývoj vajíček. Samičky některých rodů jsou schopny naklást první snůšku bez nasátí krve, jedná se o tzv. autogenii. Využívají k tomu živiny získané ve fázi larvy. Tato první snůška je ale početně menší než snůšky vytvořené s pomocí živin z krve. Samičky rodu *Toxorhynchites* nesají krev vůbec, živí se pouze rostlinnou šťávou jako samci a k tvorbě vajíček využívají živiny, které získaly ve fázi larvy (Steffan a Evenhuis 1981). Dalším rozdílem mezi pohlavími je velikost – obecně platí, že samci jsou menší než samice. Pohlavní dimorfismus lze pozorovat i u tykadel a makadel – samci je mají hustěji a výrazněji ochlupené než samice. Významným taxonomickým znakem, který využíváme pro určení druhu, jsou šupinky na těle; dospělcům slouží jako ochrana před patogeny v okolí (Marquardt 2004).

2.3 Trávicí soustava

Trávicí soustava komárů se dělí na tři části: stomodeum, mesenteron a proctodeum. Stomodeum (přední střevo) a proctodeum (zadní střevo) jsou ektodermálního původu a obsahují chitin, který slouží především jako ochrana před patogeny. Mesenteron (střední střevo) je endodermálního původu a chitin neobsahuje.

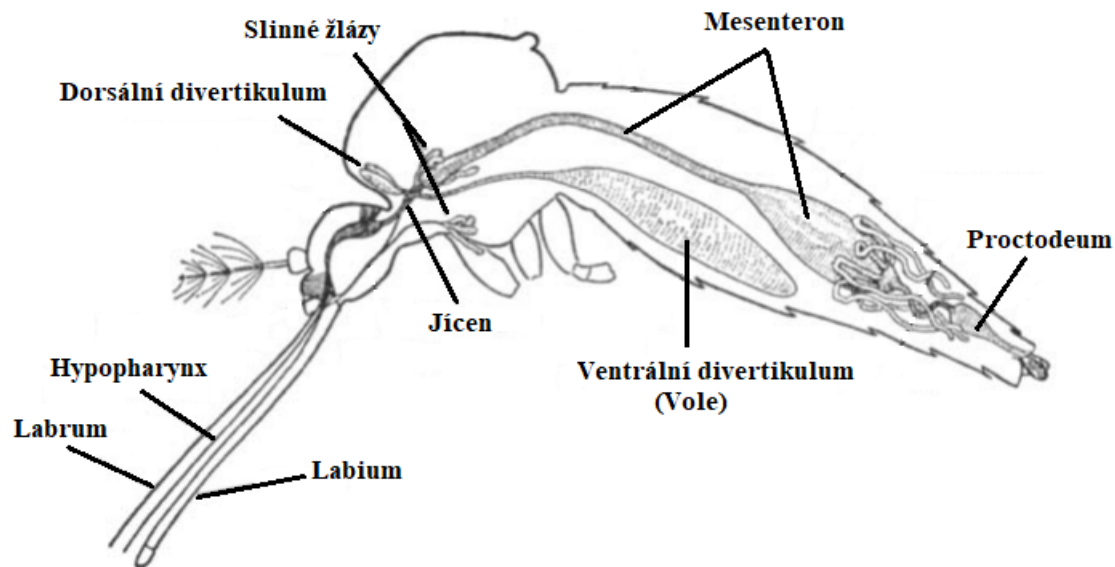
První oddíl trávicí soustavy se skládá ze sosáku, dutiny ústní, hltanu, jícnu a esofageálního divertikula (volete), do něhož putují nasáté rostlinné šťávy. V případě příjmu krve u samic je důležité i složení slin, které putují sosákem do rány, kde zabraňují srážení krve a tvorbě zánětu pomocí látek ve slinách obsažených (antikoagulanty, apyrázy). Slinné žlázy

napomáhají i zvlhčení potravy při polykání. Funkcí stomodea je mechanické zpracování potravy a její posunutí do mesenteronu, který je od stomodea oddělen stomodeální valvou bránící zpětnému toku potravy (Volf et al. 2007, kap. 4.1.3).

Ve středním střevě dochází k chemickému trávení přijaté potravy. Jedná se o trávení extracelulární, do lumen středního střeva jsou sekretovány trávicí enzymy (glykosidázy, lipázy, proteázy). U komárů je ve střevě vysoká hladina proteáz, kterým se patogeny musí přizpůsobit nebo jim uniknout, pokud chtějí přežít. Mesenteron je tvořen zřasenou epiteliální výstelkou, která směrem do lumen střeva vytváří mikrovili (mikroklky). Přijatá potrava je obalena peritrofickou matrix, která se vytvoří po nasátí krve komárem. Peritrofická matrix je tenká, semipermeabilní membrána, kterou mohou procházet jen některé látky (produkty trávení, enzymy). Slouží především jako ochrana střevního epitelu před přímým kontaktem s krví a patogeny. Při trávení krve dochází ke zvýšení oxidačního stresu důsledkem zpracovávání hemu obsaženém v erytrocytech. Peritrofická matrix váže hem a zabraňuje tím poškození střeva (Devenport et al. 2006). Další funkcí peritrofické matrix je prostorové oddělení trávení – uvnitř a vně této membrány je odlišné pH, tedy i rozdílné podmínky pro trávení. U komárů se peritrofická matrix tvoří diskontinuálně, tedy pouze poté, co dojde k nasátí krve. Tvorba této ochranné membrány trvá po dobu několika hodin a po ukončení trávení dojde k jejímu rozpadu. U samců se peritrofická matrix nevytváří, jelikož jsou nektarofágní a krev nepřijímají (Volf et al. 2007, kap. 4.1.3).

Poslední část střeva je od mesenteronu oddělena pylorickými valvami (svěrači). V proctodeu dochází k resorpci vody, iontů, a nakonec k vyloučení odpadních látek řitním otvorem ven z těla.

Parazité mají různé metody, jak ze střeva komára uniknout – *Plasmodium* využívá toho, že peritrofická matrix je složená mj. z chitinu, takže při úniku ze střeva použije chitinázy, které membránu naruší (Huber et al. 1991). Filárie narozdíl od plasmodia penetrují střevní epitel krátce po nasátí krve komárem, takže ze střeva efektivně uniknou ještě předtím, než dojde k tvorbě ochranné membrány (Perrone a Spielman 1986).



Obrázek 1: Schéma trávicí soustavy komára (převzato a upraveno ze Snodgrass 1959 https://repository.si.edu/bitstream/handle/10088/22961/SMC_139_Snodgrass_1959_8_1-87.pdf?sequence=1&isAllowed=y)

2.4 Faktory ovlivňující výběr hostitele

Krevsající komáři mohou být generalisté, ale i specialisté. Výběr hostitele je ovlivněn řadou faktorů, mezi něž patří např. zvýšená či exprese určitého genu komára, pach, vzhled a velikost těla hostitele, ale i teplota, vlhkost či roční období.

Různé rody komárů mohou mít odlišné preference při výběru hostitelů (např. vektory z rodu *Anopheles* mohou být spíše antropofilní, kdežto komáři rodu *Culex* jsou spíše ornitofilní.) Důvodem pro toto chování může být kromě vnějších faktorů (dostupnost hostitele, roční období apod.) i změna v expresi určitých genů, např. zvýšená či snížená exprese genu pro čichový receptor (olfactory receptor, OR) a protein vázající pachy (odorant-binding protein, OBP). Postupem času (po mnoha generacích) se exprese těchto genů může zvyšovat či snižovat v závislosti na kontaktu komára s látkami obsaženými v pachu daných zvířat. *Aedes gambiae* má gen pro čichový receptor, Or4. Tento receptor je citlivější na přítomnost sulcatonu (6-methyl-5-hepten-2-on), což je látka obsažená v lidském pachu. Při pokusu s pachem morčete a člověka vektor nijak nereagoval na pach morčete, ovšem na pach člověka ano (McBride et al. 2014).

Mezi jedny z nejdůležitějších faktorů při výběru hostitele patří čichové vjemy, jako např. hostitelem vydechovaný oxid uhličitý, nebo také hostitelův pach. Hlavním podnětem, v jehož přítomnosti komár začne vyhledávat hostitele, je CO₂. Čichové receptory, které mají komáři uloženy na tykadlech a maxilárních palpách, jsou schopny rozeznat i nepatrné změny (o setiny %) v koncentraci CO₂ ve vzduchu (Kellogg 1970). Tato sloučenina ovšem slouží především jako spouštěč, nikoli jako indikátor samotné hostitelské preference. Pro usnadnění výběru mezi hostiteli jsou přítomné jiné látky specifické pro daný typ hostitele. Asi nejznámějším atraktantem je kyselina mléčná, která komárům pomáhá především při výběru mezi savčími hostiteli. Při pokusu provedeném na komáru *Anopheles gambiae* bylo zjištěno, že k. mléčná funguje jako významný atraktant pouze v přítomnosti CO₂ (Dekker et al. 2002). Mezi další látky zvyšující atraktivitu hostitele pro komára patří mastné kyseliny, amoniak, ale i alkohol. Shirai et al. (2002) vyzkoušeli, zda má na komáry rodu *Aedes* vliv požití ethanolu. Pro komáry byli atraktivnější lidé, kteří vypili 350 ml piva (5,5 % ethanolu), než lidé, kteří žádný alkohol nevypili. Autoři ovšem upozorňují, že atraktantem pro komáry nejspíše nebude samotný alkohol, ale spíše nějaká látka, kterou člověk začne produkovat po požití alkoholu (čímž se nejspíše změní pach dotyčného a tedy i jeho atraktivita pro vektory).

Jako zrakový orgán slouží komárům složené oči, které jim umožňují vnímat okolí, včetně barev a světla. Vektoři, kteří jsou aktivní v noci, jsou citlivější na světlo, což je dáno odlišným (kuželovitým) tvarem rhabdomu, zrakové tyčinky, která je součástí oka komára (Land et al. 1997). Řada autorů se shoduje na tom, že komáři jsou přitahováni spíše tmavšími barvami – Brett (1938) a Brown (1954) provedli pokusy na vektorech z rodu *Aedes* a oba došli k závěru, že nejpřitažlivější pro komáry byly tmavé barvy, především černá, červená a modrá. Naopak Yan et al. (2017) při zkoumání preferencí komárů rodu *Culex* zjistili, že *Cx. pipiens* si raději vybíral ptáky se světlejším peřím. Je ale možné, že v tomto případě měl na výběr hostitele vliv spíše kontrast barev vůči pozadí (světlé peří vs. tmavší pozadí), v němž se hostitel pohybuje.

Někteří autoři uvažují i nad tím, že by komáři mohli být přitahováni i pohybem, tedy i tím, zda se hostitel zrovna hýbe, nebo ne. Je však možné, že pro výběr hostitele má větší význam spíše větší množství vydechovaného CO₂ při pohybu zvířete (případně i hostitelem produkovaný pach v kombinaci s vydechovaným CO₂), než samotný pohyb (Yan et al. 2021).

Dalšími faktory, které mohou mít vliv na výběr hostitele, jsou teplo, vlhkost a zvuk vydávaný potenciálním hostitelem. Teplo může sloužit jako faktor pomáhající vektoru při výběru hostitele, ovšem pouze na krátkou vzdálenost. Pokud komár proletí kolem předmětu,

který vydává teplo, je možné, že na něm přistane nehledě na to, že daný předmět neprodukuje CO₂. Nejlépe však tento faktor funguje v kombinaci s dalšími faktory, jako je pach či vzhled hostitele (van Breugel et al. 2015). Komáři jsou citliví na změny vlhkosti, zatím ale nebylo prokázáno, že by samotná vlhkost měla vliv na hostitelskou preferenci. Oproti tomu zvuk by mohl hrát roli ve výběru té správné oběti – někteří komáři (např. *Uranotaenia macfarlanei* či *U. yaeyamana*) mohou být přitahováni kvákáním žab (Toma et al. 2005).

Vliv na výběr může mít i velikost těla živočicha. Větší zvířata mohou být pobodána častěji než ta menší, a to hned ze dvou důvodů: mají pro komáry dostupnou větší plochu kůže, na kterou mohou vektorů sednout a nakrmit se, a také vydechují větší množství oxidu uhličitého. Kromě toho lze pozorovat i rozdíly v obranném chování mezi zvířaty většího a menšího vzrůstu – nejintenzivněji se proti komárům chrání zvířata menší velikosti, což vede k méně úspěšným útokům komára na hostitele (Edman a Scott 1987).

Výběr hostitele může být ovlivněn i prostředím, v němž se vektor pohybuje, resp. tím, jací hostitelé (a v jakém počtu) jsou pro komára momentálně dostupní. Tento faktor ovlivňuje nejen vektory, kteří jsou generalisté, ale i ty, kteří se spíše specializují na určitou skupinu zvířat. Pokud se preferovaný hostitel stane pro komára hůře dostupným, pak si vektor nakonec může vybrat jiného hostitele, z něhož se poté nasaje. *Anopheles gambiae* je převážně antropofilní, pokud je ale jeho preferovaný hostitel (tj. člověk) nedostupný (např. kvůli ochraně před komáry pomocí sítí), může se nakonec nakrmit na zvířeti (Lefèvre et al. 2009).

Dalším faktorem je dostupnost hostitele v průběhu roku. U komára *Culex tarsalis* byl pozorován rozdíl ve výběru hostitelů během zimy a léta – v období od května do října se více než půlka (58,5 %) komárů krmila na ptácích, zbytek vzorků pocházel ze savců (41,4 %). V zimních měsících se ovšem výběr hostitelů drasticky změnil, pouze 2,8 % vzorků pocházelo ze savců, takže většinou se vektorů nakrmili na ptácích (Tempelis a Washino 1967). *Cx. pipiens* je spíše ornitofilní, během roku sál nejvíce na drozdu stěhovavém (*Turdus migratorius*), ovšem ke konci léta a začátkem podzimu se jeho preference výrazně změnila a bodal častěji savce (včetně člověka). Důvodem pro tuto významnou změnu ve výběru hostitele byla migrace drozdů na jih (Kilpatrick et al. 2006).

Atraktivita hostitelů pro může být ovlivněna i parazity (např. *Plasmodium*). Lacroix et al. (2005) zkoumali vliv infekce afrických dětí prvokem *P. falciparum* na komáry druhu *Anopheles gambiae*. Děti byly rozděleny po třech do dvanácti skupin, přičemž v každé skupině bylo jedno dítě zdravé, druhé nakažené neinfekčním stádiem parazita a třetí mělo v těle parazity

ve stádiu gametocytů, tj. ve stádiu pro komára infekčním. Vektoři si vybírali děti nakažené infekčním stádiem prvoka dvakrát častěji než ostatní hostitele.

Cornet et al. (2013) došli při pokusu s kanárem divokým (*Serinus canaria*), vektorem druhu *Culex pipiens* a ptačím parazitem druhu *P. relictum* k závěru, že ptáci infikovaní ptačí malárií mohou být pro neinfikované komáry atraktivnější. Yan et al. (2018) provedli dva experimenty na vrabci domácím (*Passer domesticus*) a komárovi druhu *Cx. pipiens*, přičemž v prvním experimentu nezaznamenali výraznější změny mezi přitažlivostí infikovaných a neinfikovaných ptačích hostitelů, jelikož na nich komáři sáli víceméně stejně. Když jim ovšem byli nabídnuti ptáci infikovaní, ale zaléčení antimalariky (primaquine) a ptáci infikovaní a nezaléčení, vektoři si přednostně vybírali ptáky, kteří antimalarika nedostali.

2.5 Hostitelská preference

Jak již bylo zmíněno, komáři mohou být generalisté i specialisté, a to v závislosti na mnoho různých vnitřních (změna v expresi genu) a vnějších (teplota, vlhkost, roční období) faktorů, které ovlivňují nejen samotné komáry, ale i dostupnost potenciálních hostitelů. Komáři rodu *Deinocerites*, kteří žijí v krabích norách, se krmí na různých hostitelích, jimiž jsou plazi, ptáci a savci (Tempelis a Galindo 1970). Podobný trend byl pozorován u komára druhu *Ae. albopictus*, který se v Severní Americe krmil na nejrůznějších zvířatech, savcích (králících, vysoké zvěři, psech, lidech, ale i hlodavcích aj.) a ptácích (Savage et al. 1993).

Ve studii provedené ve vesnici v Thajsku se ovšem zjistilo, že se *Ae. albopictus* může orientovat více na člověka než na zvířata (Ponlawat a Harrington 2005). Ve stejné studii autoři zkoumali i komára druhu *Ae. aegypti*, který preferuje především lidskou krev, což se i v této studii potvrdilo – drtivá většina samic se nakrmila na člověku, minimum (méně, než 1 %) se krmilo na jiných zvířatech (na praseti, skotu, kočce, myši a kuřeti.) Podobně zaměřený je *Anopheles gambiae*, který je obvykle antropofilní, ovšem pokud není lidský hostitel dostupný (např. kvůli ochraně před komáry pomocí sítí), saje na jiném hostiteli, kupříkladu na dobytku (Lefèvre et al. 2009).

Komáři rodu *Culex* jsou především ornitofilním rodem, i zde ale lze najít rozdíly, a to i mezi jednotlivými druhy. Rizzoli et al. (2015) například zjistili, že v Evropě *Cx. pipiens* saje spíše na kosu černém (*Turdus merdula*), než špačku obecném (*Sturnus vulgaris*). Výběr a případnou preferenci hostitele samozřejmě ovlivňuje i dostupnost hostitelů, která je podmíněna prostředím, v němž se hostitel pohybuje, jakožto i ročním obdobím. Skupina Kilpatrick et al. (2006) se touto problematikou zabývala u druhů *Cx. pipiens* a *Cx. tarsalis*. Oba

tyto druhy sají především na ptačí krvi, konkrétně byla zjištěna preference sání na drozdu stěhovavém (*Turdus migratorius*). I přes svou ornitofilní povahu se ale tito komáři s příchodem podzimu, a tedy snižujícími se počty jejich preferovaného ptačího hostitele, začali více živit i krví savců.

V České republice Votýpka et al. (2008) zkoumali výskyt a hostitelskou preferenci různých druhů komárů. Jako krmení pro vektory připravili kuřata, křepelky japonské (*Coturnix japonica*), králíky a morčata a sledovali, jací vektoři se objeví a na kterých hostitelích se nakrmí. Mezi druhy, které byly identifikovány, patřili např. *Cx. modestus*, *Cx. pipiens*, *Ae. cinereus*, *Ae. vexans* a další. Nejčastěji nachytanými komáry byli *Cx. modestus* a *Cx. pipiens*. *Cx. pipiens* se krmil na ptácích a savcích přibližně stejně často, ovšem *Cx. modestus* se krmil častěji na savcích.

Radrova et al. (2013) provedli podobný pokus, ve kterém na vektory nastražili pasti s křepelkami a králíky. Nejčastěji nasbíranými druhy byly opět *Cx. modestus* a *Cx. pipiens*, následovány *Ae. cinereus*, *Ae. vexans*, *Ae. sticticus* a dalšími. *Cx. modestus* se na králících krmil o něco více, než na křepelkách (12 134 komárů bylo nalezeno v pastích s králíky, 10 583 v pastích s křepelkami), kdežto *Cx. modestus* se krmil častěji na křepelkách (1 783 komárů v pastích s králíky, 4 118 v pastích s křepelkami.) Při analýze krve z komárů nasátých na divokých zvířatech bylo zjištěno, že nejčastěji se komáři krmili na ptácích (93,7 % vzorků). *Cx. modestus* se krmil především na vrubozobých (Anseriformes), *Cx. pipiens* sál spíše na pěvcích (Passeriformes).

Molaei a Andreadis (2006) v severovýchodní části Spojených států zkoumali výběr hostitelů dvou druhů komárů, *Ae. vexans* a *Culiseta melanura*. Zjistili, že *Cs. melanura* je dalším druhem, který je spíše ornitofilní, jelikož výsledky studie ukázaly, že se živí převážně ptačí krví (u 43 ze 49, tj. 89,6 % vzorků). Nejčastějším hostitelem byl drozd stěhovavý (*Turdus migratorius*). *Ae. vexans* se raději nakrmí na savcích (u 110 ze 119, tj. 92,4 % vzorků), především na vysoké zvěři – 79,8 % krevních vzorků pocházelo z jelence běloocasého (*Odocoileus virginianus*).

Kromě savců a ptáků existují i takoví komáři, kteří se orientují i na obojživelníky či plazy. Crans (1970) zkoumal *Cx. territans* a zjistil, že saje raději na studenokrevných zvířatech jako jsou obojživelníci a plazi, než na ptácích a savcích. Z 315 krevních vzorků drtivá většina pocházela z obojživelníků (279, tj. 88,5 %), 19 vzorků (6 %) pocházelo z plazů, šest z ptáků a pouze dva ze savců.

Poměrně zvláštní může být specializace na ryby – Tamashiro et al. (2011) analyzovali vzorky pocházející z komárů různých rodů a překvapivě přišli na to, že dva druhy komárů sály na paprskoploutvých rybách z čeledi hlaváčovití (Gobiidae). Těmito druhy byli *Ae. baisasi* a *Uranotaenia ohamai*, přičemž *Ae. baisasi* se ve většině případů (94,3 %) krmil na rybách z čeledi hlaváčovití (Gobiidae) a hadařovití (Ophichthidae), zbylé vzorky (5,7 %) pocházely z žáby (*Fejervarya sakishimensis*). *Ur. ohamai* se živila spíše krví žab než ryb. Vzorků bylo ale málo (celkem pouze 14, přičemž 13 pocházelo z obojživelníků a pouze jeden z ryby).

3 Potrava a její vliv na plodnost

Potrava, kterou komáři pozrou, má významný vliv nejen na jejich další vývoj, ale i na plodnost, a nakonec i na jejich schopnost přenášet patogeny. Dostupnost a množství živin má významný vliv na larvální stádium vektora, což následně ovlivňuje i konečné stádium dospělce. U dospělců lze najít rozdíly nejen mezi plodností samic vzhledem k nasátým živinám (typu a množství krevní složky), ale i samců, kteří se živí pouze rostlinnými šťávami.

3.1 Potrava larev

Komáří larvy nemají končetiny, mají ovšem vyvinutou hlavovou kapsuli s kousacím ústním ústrojím, které používají pro seškrabování organických zbytků a usazenin na stěnách nádrže. Až na výjimky (např. rod *Toxorhynchites*) nejsou draví, ale jsou to filtrátoři. Typ potravy (bakterie, protista, řasy atd.) má vliv na následný vývoj larvy, jakožto i velikost těla dospělce, délku života a další faktory. Souza et al. (2019) zkoumali vliv tří typů diet (kvasinky, bakterie a řasy) na larvy. Pro larvy nejhůře stravitelnými byly řasy, naopak nejlépe stravitelnými byly kvasinky. Vývoj byl zpomalen u larev, které přijaly bakterie a řasy, naopak u larev, které se živily kvasinkami, byl vývoj normální. Larvy, které se krmily kvalitnější stravou (kvasinkami), měly v dospělém stádiu i větší křídla.

Potrava larev má veliký význam především pro autogenní druhy, jelikož se jejich dospělá stádia ve většině případů živí rostlinnými šťávami a potravu ve formě krve pro tvorbu první snůšky vajec nepřijímají. Důležitá je nejen kvantita, ale i kvalita nabízené potravy. Kalpage a Brust (1974) provedli studii na druhu *Ae. atropalpus* a zjistili, že rozdíly v obsahu proteinů v nabízené potravě larev měly vliv na velikost dospělců a velikost snůšky. Největší dospělci vzešli z potravy obsahující vysoké množství proteinů. Stejný typ diety měl tentýž vliv i na množství nakladených vajec.

Telang a Wells (2004) pozorovali samice druhu *Ochlerotatus atropalpus* v závislosti na živiny přijaté larválními i dospělými stádii. Larvám nabídli potravu obsahující dostatek či nedostatek živin, což následně mělo vliv na dospělé stádium. Samice, kterým byl odepřen dostatek živin, byly menší a měly v těle nižší hladinu proteinů, lipidů a glykogenu. Všechny samice nakladly svou první snůšku vajec bez ohledu na stravu jim nabízenou ve fázi larvy či dospělé (voda/šťáva), ovšem počet vajec se výrazně lišil – podvyživené samice nakladly méně vajec než samice s dostatečnou výživou. Podvyživené samice ovšem pro tvorbu druhé snůšky vyžadovaly krev. Nedostatečná výživa měla vliv i na samce, u kterých se také projevila nižší hladina zásobních látek, stejně jako u samic, ovšem samice byly na tyto změny citlivější. U všech typů potravy (dostatek či nedostatek živin) bylo u samic pozorováno větší množství proteinů a lipidů v porovnání se samci, ovšem hladina glykogenu byla víceméně stejná. Důvodem je pravděpodobně role proteinů a lipidů při tvorbě vajíček (Clements 1992).

Podobný pokus provedli i Takken et al. (2013) s *An. gambiae* a *An. stephensi*. Larvám obou těchto druhů nabídli potravu s vysokým a nízkým obsahem živin a sledovali, jaký to na ně bude mít vliv. Podvyživeným larvám trvalo o 2-3 dny déle, než se přeměnily v dospělé, v porovnání s larvami dobře živěnými. Málo živin mělo vliv i na fitness komára a reprodukci, jakožto i na množství proteinů, lipidů a glykogenu, které bylo u dobře živěných jedinců vyšší. Yan, Kibech a Stone (2021) zkoumali vliv potravy larev a dospělců na velikost, plodnost a přežití samic druhu *Ae. aegypti*. Podobně jako v předchozích studiích, i zde byla larvám nabídnuta potravu obsahující více či méně živin, a dospělcům více či méně koncentrovaný cukerný roztok (1% nebo 10% sacharóza). Velikost dospělců závisela na potravě přijaté larvami, přežití bylo ovlivněno potravou dospělců, ovšem plodnost závisela na obou těchto faktorech. Autoři zmiňují, že zde nezaznamenali žádný trade-off mezi velikostí, plodností a přežitím. Délka křídel odpovídala míře plodnosti (delší křídla, větší plodnost), navíc déle žijící komáři snesli více vajec než komáři žijící kratší dobu.

3.2 Potrava samců

Vliv na samice (včetně jejich plodnosti) nemá jen potravu v larválním stádiu, ale také samci, kteří se samicemi kopulují. Roli při tom hrají i tzv. samčí přídatné žlázy (MAGs). Herndon a Wolfner (1995) zjistili, že proteiny obsažené v semenné tekutině *Drosophila melanogaster*, které patří mezi produkty přídatných žláz samců, mohou u samic stimulovat tvorbu vajec. Helinski et al. (2012) pozorovali, jaký efekt bude mít injikování proteinů z přídatných orgánů komářích samců na samice druhů *Ae. albopictus* a *Ae. aegypti*. Tyto proteiny jim byly injikovány do hemocoelu, a to v různých dávkách (od nejnižší, 0.008, po

nejvyšší, 0.25). Nejnížší dávky tolik efektivní nebyly, ovšem u samic, které byly injikovány dávkami od 0.031 a výše, nedošlo ke kopulaci se samci. Pondeville et al. (2008) zjistili, že MAGs u komára *An. gambiae* produkují steroidní hormon 20E (20-hydroxyekdyson), který stimuluje vitelogenezi u samic.

Clifton et al. (2014) sledovali u druhu *Ae. aegypti* vliv MAGs a potravy, kterou samci přijmou, na plodnost samic. Obě pohlaví (samci i samice) byla krmena 3% a 20% sacharózou. Samice se samci posléze kopulovaly, přijaly krevní složku a následně nakladly vejce. U samců bylo po kopulaci pozorováno snížení hladiny juvenilního hormonu III v MAGs, naopak u samic došlo ke zvýšení juvenilního hormonu, samci jej tedy samicím při kopulaci předali. Koncentrace cukerné složky (3% a 20%) měla vliv nejen na množství vajec u samic, ale i juvenilního hormonu III v MAGs samců. Samci krmeni 20% sacharózou měli vyšší hranici JH III (který následně předali samicím). Samice, které kopulovaly se samci kmenými 20% sacharózou, snesly více vajec než samice, které se spářily s druhou skupinou samců.

Huck et al. (2021) zkoumali vliv potravy přijaté samci na jejich reprodukci, a také na plodnost samic. Pokus provedl na jedincích druhu *Cx. pipiens*, kterým nabídnul cukerný roztok o různé koncentraci (3%, 10% a 20%). Zjistil, že typ potravy nijak závažně neovlivnil velikost těla, ovšem samci krmeni na 3% sacharóze měli výrazně menší přídatné orgány, než samci krmeni na 10% či 20% sacharóze. Potrava měla vliv i na plodnost – samice, které kopulovaly se samci kmenými na 10% sacharóze vyprodukovaly snesly největší počet člunků (14) v porovnání s ostatními (9 člunků vajec při kopulaci se samci kmenými na 3% sacharóze a 7 člunků při kopulaci se samci kmenými na 20% sacharóze). Rozdíly byly patrné i při líhnutí larev – u larev vzešlých ze samců na 3% dietě se jedna třetina člunků nevylíhla vůbec, kdežto u vajec nakladených po krmení na 10% a 20% cukerné složce se z každého člunku vylíhla alespoň jedna larva. Závěrem tedy je, že potrava samců může mít vliv nejen na samotné samce, ale i na množství nakladených vajec a také na líhnivost vajec.

3.3 Potrava samic

3.3.1 Krev

Samice k tvorbě vajíček potřebují nejen rostlinné šťávy, ale i krev. Toto ovšem neplatí pro všechny samice, ale především pro ty anautogenní, tj. samice, které pro tvorbu snůšky potřebují i krevní složku. Samice autogenních druhů krev pro tvorbu první snůšky vajec zpravidla nepřijímají a vajíčka vytváří ze zásob živin, které přijaly v larválním stádiu. Samičky obligátně autogenních druhů komárů se neživí krví ani v případě, že se poblíž vyskytuje kořist,

a pomocí živin získaných ve stádiu larvy vytvoří svou první snůšku vajec (Van Handel 1976). Některé fakultativně autogenní druhy jsou schopny využít své zásoby z larválního období pro výrobu první snůšky vajec v případě, že v okolí nemají dostupného hostitele. Jejich snůška je ale v porovnání se samicemi nasátými na krvi menší (O'Meara 1985).

Plodnost samic neovlivňuje jen potrava, kterou přijaly v larválním stádiu, ale i typ krve získané z hostitelů. Chikwendu et al. (2019) zkoumali vliv různých typů krve (z člověka, skotu, kuřete, kozy, prasete a ovce) na samice druhu *An. gambiae*. Nejvíce vajec nakladly samice, které se krmily lidskou krví, naopak samice, které sály na kuřecí krvi, byly nejméně plodné. Zároveň bylo pozorováno i postupné snížení plodnosti během dalších gonotrofických cyklů, a to sestupně od prvního do čtvrtého (posledního) cyklu. Benhamed et al. (2016) provedli pokus s komárem druhu *An. maculipennis* krmeném krví skotu a kuřat. Samice nakrmené krví dobytka nakladly výrazně více vajec (cca 193 ± 77 vajec na samici), než samice krmené kuřecí krví (cca 96 ± 33 vajec na samici). Autoři se domnívají, že důvodem takto velkého rozdílu může být odlišné množství látek obsažených v krvi – u krve dobytka uvedli, že obsahuje více proteinů a lipidů než krev kuřecí, na druhou stranu ale obsahuje méně cukru.

Komáři rodu *Culex* jsou považováni za vektory, kteří jsou spíše ornitofilní a v mnoha případech jsou plodnější, když mají k dispozici ptačího hostitele, nikoli savce. Když byla vektorům *Cx. quinquefasciatus* podána hovězí či kuřecí krev, největší počet nakladených vajec i vylíhnutých larev byl pozorován u samic, které se krmily na živém kuřeti (Richards et al. 2012). U novějšího výzkumu, kde byla komárům *Cx. quinquefasciatus* nabídnuta krev kuřecí a prasečí, samice, které se nakrmily na kuřecí krvi, nakladly i více vajec než samice sající pouze na krvi prasete. Nejvíce larev se vylíhlo ze snůšek samic, které se nakrmily buď pouze kuřecí krví, nebo kombinací prasečí a kuřecí krve. Při porovnání obsahu proteinů a lipidů samic, které byly zmrazeny ihned po nasátí bylo zjištěno, že těla samic krmených na ptačí krvi obsahovala více proteinů. Naopak těla samic, které sály na prasečí krvi, obsahovala vyšší množství lipidů (Telang a Skinner 2019). Vliv na plodnost má i věk samic – s postupujícím věkem a dalším gonotrofickým cyklem se plodnost samic snižuje. Samice druhu *Cx. p. quinquefasciatus*, kterým bylo v době prvního sání krve pět dní, vytvořily více vajec (115-230) než samice třináctidenní (25-200 vajec) (McCann et al. 2009).

Pro komáry rodu *Aedes* je mnohdy více atraktivní krev lidská než zvířecí, ačkoli pro ně nakonec nemusí být nejlepší. Ve studii provedené v Thajsku na komárech druhu *Ae. aegypti* a *Ae. albopictus* se ukázalo, že 99 % jednodruhových a 97 % smíšených vzorků z *Ae. aegypti*

obsahovalo lidskou krev (Ponlawat a Harrington 2005). V pozdější studii došlo k analýze DNA u *Ae. aegypti*, kde se tíhnutí k lidským hostitelům potvrdilo – z 890 vzorků krve patřilo 766 (86.1 %) vzorků člověku (Siriyasatien et al. 2010). Otázkou je, zda má na plodnost komáru vliv krevní skupina člověka. Odpověď se snažil najít tým vědců, který samicím druhu *Ae. aegypti* nabídl všechny krevní skupiny (A, B, AB i 0). Rozdíl se sice objevil v preferenci určitých krevních skupin – nejčastěji (30.8 ± 2.00 % samic) se samice krmily na potravě s krevní skupinou 0, naopak nejméně (17.6 ± 2.42 % samic) se krmily na krvi s krevní skupinou A. Rozdíly v plodnosti mezi samicemi krmenými na potravě s odlišnými krevními skupinami ale nijak výrazné nebyly (Prasadini et al. 2019).

Rozsáhlou studii zabývající se vlivem jednotlivých krevních prvků na tři komáří druhy (*Ae. aegypti*, *An. gambiae* a *Cx. quinquefasciatus*) letos provedli Harrison et al. (2021). Zkoumali, zda a jak se bude lišit plodnost a fyziologie samic při pozření různých komponent krve (všech složek, nebo pouze plazmy, pouze červených krvinek). Samice byly krmeny čtyřmi různými typy krve (lidskou, potkaní, kuřecí a krocání). Samice druhu *Ae. aegypti* nakladly nejvíce vajec po nasátí krve z krocana a křasy, naopak při nasátí samotné plazmy ptáků nedošlo k naklazení žádných vajec. U *An. gambiae* byl pozorován podobný trend, při pozření krevní plazmy ptáků také nedošlo k naklazení vajec. Po nakrmení na samotných červených krvinkách pocházejících z lidského hostitele měly oba tyto druhy nejmenší snůšku. Totéž se stalo i u samic druhu *Cx. quinquefasciatus*, naopak nejvíce vajec samice nakladly po pozření ptačích erytrocytů. Kromě toho pozorovali i výrazný rozdíl ve tvorbě vajíček, pokud samičkám v potravě chyběl izoleucin – při nedostatku této aminokyseliny samice nevyprodukovaly žádná vejce, naopak v přítomnosti izoleucinu v potravě samice s tvorbou vajec neměly problém. Z tohoto lze usuzovat, že problematika vlivu krve na plodnost samic je mnohem složitější a při výzkumu je potřeba dát si pozor nejen na typ nasáté krve (savčí, ptačí, plazí, aj.), ale vzít v potaz i její složení (množství proteinů, lipidů a dalších látek) a jednotlivé krevní komponenty. Všechny tyto prvky mohou mít vliv na konečný počet nakladených vajec, jakožto i vylíhnutých larev. Cabral a de Almeida (2018) zkoumali, zda plodnost samic může být ovlivněna i přidáním vitamínů do krevní složky. Provedli experiment, kde samice druhu *An. darlingi* krmili krví, do které přidali multivitaminy v 0.01%, 0.1% a 1% koncentraci. Výsledkem bylo, že samice krmené na krvi s 1% přidanou multivitaminovou složkou nakladly výrazně méně vajec než ostatní skupiny. V počtu vylíhnutých larev byly neúspěšnější samice krmené na krvi obsahující 0.01 % multivitaminu – v porovnání s kontrolní skupinou, která sála na krvi bez přidané složky, se vylíhlo o 20 % více larev.

3.3.2 Počet hostitelů

Xue et al. (2009) zkoumali nejen vliv typu krve na plodnost samic, ale i vliv vícenásobného krmení na různých hostitelích. Zkoumanými byly samice druhu *Ae. albopictus*. Těmto vektorům byli nabídnuti tři různí hostitelé: kuře, morče a člověk. Samice, které sály na lidském a morčecím hostiteli, nakladly v průměru více vajec než samice nasáté na kuřeti (člověk – 80 vajec, morče – 82 vajec, kuře - 62 vajec na jednu samici). Samice, které se krmily víckrát na více hostitelích nakladly v průměru více vajec než samice, které se nasály pouze jednou na jednom hostiteli (nebo dvakrát na hostiteli stejného typu, tj. kuřeti). Podobnou otázku si pokládala i skupina Joy et al. (2010), která chtěla zjistit, zda má omezení potravy vliv na růst, plodnost a délku života komárů druhu *Ae. aegypti*. Ukázalo se, že skupina samic, které byly pravidelně (každý týden) krmeny krví, nakladla více vajec než druhá a třetí skupina – druhá skupina byla krmena 10% dextrózou a třetí skupina byla krmena dextrózou a pouze jednou i krevní složkou. Zároveň tito výzkumníci zjistili, že samice, které měly pravidelný přísun krve každý týden, měly z těchto tří skupin nejkratší délku života, a to o cca 30 % v porovnání se skupinou, která se krmila na dextróze a jednou i na krvi, a o cca 40 % v porovnání se samicemi živící se pouze cukernou složkou.

3.3.3 Cukr

Kromě krevní složky může mít vliv na plodnost a délku života i samotná cukerná složka potravy, podobně jako tomu je i u komářích samců. Na samicích vektora druhu *Ae. albopictus* byl proveden pokus, v němž chtěli vědci zjistit, zda bude mít rozdílná koncentrace cukerného roztoku vliv na plodnost a přežití. Komárům byly nabídnuty cukerné roztoky o koncentraci 10 %, 30 %, 50 % a 70 %. Samice, které se krmily 50% a 70% sacharózou častěji sály na hostiteli a nakladly výrazně více vajec (176 ± 34 vajec na samici), než samice, které byly krmeny nižšími koncentracemi sacharózy (117 ± 21 vajec na samici). U samic, které byly krmeny vyššími koncentracemi sacharózy, se ovšem vyskytla vyšší mortalita v porovnání se skupinami samic, které sály na 10% a 30% koncentraci sacharózy (Naziri et al. 2016). Samice, které se krmily pouze krví, ale ne cukrem, měly výrazně kratší délku života (*Ae. aegypti* v průměru kolem 38 dní, *Ae. albopictus* v průměru kolem 31 dní) než samice, které se živily krví i cukrem (cca 57 dní u *Ae. aegypti* a cca 51 dní u *Ae. albopictus*). Samice, kterým cukerná složka potravy chyběla, sály na svých hostitelích častěji, což vedlo i k vyššímu množství nakladených vajec. Tyto samice ale uhynuly dříve, než samice krmené i na cukru (Braks et al. 2006).

4 Prvoci

Bezesporu nejznámějším parazitickým prvokem přenášeným komáry je *Plasmodium* (Haematozoa: Haemosporida) způsobující malárii, nemoc, na kterou každoročně zemře kolem 400 tisíc lidí (WHO 2020). Komáři ovšem mezi hostiteli nepřenáší pouze tyto parazity, ale mohou přenášet i další prvoky, jako je *Trypanosoma* (Kinetoplastea: Trypanosomatida), *Gregarina* (Apicomplexa: Gregarina) a Microsporidia. *Plasmodium* i *Gregarina* patří do superskupiny SAR (která se dělí na Stramenopiles, Alveolata a Rhizaria), konkrétně mezi Alveolata (Adl et al. 2019). *Trypanosoma* je řazena do kmenu Euglenozoa (Cavalier-Smith 1981). Microsporidia jsou považována za samostatný kmen živočichů podobných houbám, jsou řazena do skupiny Opisthosporidia (Karpov et al. 2014). Vliv krevní složky potravy komárů na vývoj a přenos většiny těchto prvoků je ale málo prozkoumaný. Studie se nejvíce soustředí na *Plasmodium*, jeho vztah s vnitřním prostředím hostitelů (vliv na buňky v krvi obratlovce a posléze i v mezenteronu komára), a případným možnostem léčby malárie.

Prvoci rodu *Trypanosoma* jsou zkoumáni především ve vztahu ke svému vektoru a hostiteli (člověku, dobytku, ptáku). U *T. brucei rhodesiense* a *gambiense* jsou vektorem mouchy z čeledi bodalkovitých (Diptera: Glossinidae), u *T. cruzi* je vektorem ploštice z čeledi zákeřnicovitých (Hemiptera: Reduviidae, Triatominae). Svým hostitelům trypanosomy způsobuje závažné choroby jako je spavá nemoc, Chagasova choroba, nagana aj. Trypanosomy mohou být přenášeny i komáry mezi ptačími hostiteli. Na rozdíl od trypanozomiázy u lidí je ale nákaza ptačích trypanosom u obratlovcích hostitelů většinou mírnější (Macfie a Thomson 1929). To může být důvodem, proč jsou ptačí trypanosomy poněkud opomíjeným tématem a proč se zkoumají převážně „lidské“ trypanosomy.

4.1 Plasmodium

4.1.1 Obecná charakteristika

Plasmodium je parazitický prvok patřící do kmenu Apikomplexa, řádu Haemosporidia. Typickým znakem členů tohoto kmenu je apikální komplex a apikoplast.

Apikoplast je semiautonomní organela, která vznikla sekundární endosymbiózou červené řasy, není tedy schopna provádět fotosyntézu. Má ovšem svůj vlastní genom, který kóduje geny potřebné pro genovou expresi plastidu. I přes svou absenci chloroplastu má pro buňku veliký význam, neboť se účastní syntézy mastných kyselin, isoprenoidů a dalších látek.

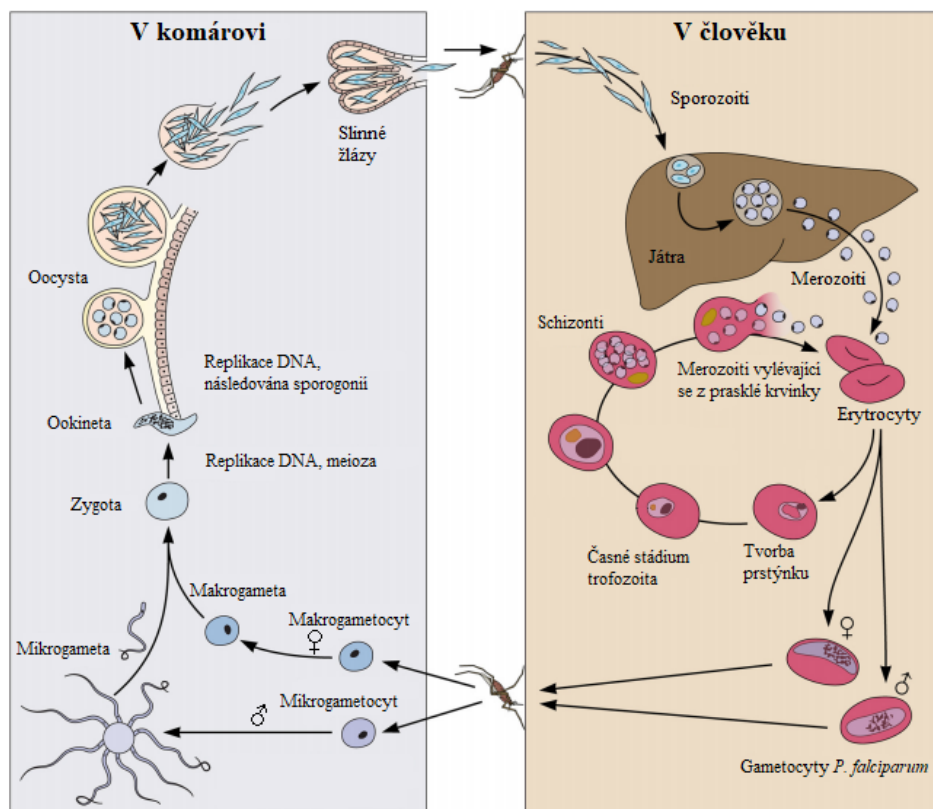
Z tohoto důvodu je apikoplast považován za dobrý cíl účinných látek (včetně antimalarik) proti parazitům z kmenu Apicomplexa (Sato a Wilson 2005).

Lidská malárie je způsobena pěti různými druhy parazitického prvoka, kterými je *Plasmodium falciparum*, *P. vivax*, *P. ovale*, *P. malariae* a *P. knowlesi*. *P. knowlesi* bylo původně považováno za čistě zoonotický druh, vyskytující se v tělech infikovaných makaků. To se ovšem změnilo, když v roce 2004 vyšla studie zabývající se rozborem krevních vzorků od lidí nakažených plasmodiem. Singh et al. (2004) zjistili, že 120 z 280 jedinců bylo nakažených *P. knowlesi*. V následujících letech vyšlo mnoho dalších prací zabývajících se tímto tématem. Lee et al. (2009) dokonce zjistili, že v krevních vzorcích z roku 1996 se nachází *P. knowlesi*, nikoli *P. malariae*, jak se původně předpokládalo. *P. ovale* se někdy považuje za dva druhy – *P. ovale wallickeri* a *P. ovale curtisi* (Milner 2018). Nejčastějším původcem lidské malárie bývají druhy *P. falciparum* a *P. vivax* (Kotepui et al. 2014).

Plasmodium způsobuje horečnaté záchvaty, které se cyklicky opakují po určité době v závislosti na druhu prvoka (po 48 hodinách v případě *P. vivax* a *P. ovale*, po 72 hodinách v případě *P. malariae*). Nejzávažnějším druhem je *P. falciparum* (Gardner et al. 2002). Způsobuje totiž nejen vysoké horečky, ale i křeče, anémii, hypoglykémii a nakonec i selhání orgánů. Důvodem pro takto drastický konec života hostitele je modifikace erytrocytů, v nichž probíhá část životního cyklu *P. falciparum*. Prvok upraví povrch červených krvinek tak, aby se krvinky přichytily na povrch cév a nedošlo tak k dopravení infikovaných buněk do sleziny, kde by následně došlo k jejich zničení (Deitsch a Wellems 1996). Tato vynucená adheze posléze vede k nahromadění krvinek v cévě, a nakonec k samotnému selhání orgánu.

4.1.2 Životní cyklus

Plasmodium během svého životního cyklu střídá dva hostitele – přenašeče a obratlovce. U tohoto prvoka stejně jako u jiných zástupců kmene Apikomplexa rozlišujeme tři fáze životního cyklu: merogonii, gamogonii a sporogonii. Přenašeč (komár) *Plasmodium* inokuluje do těla obratlovce, když je parazit ve stádiu sporozoita. Prvok následně putuje po těle a vnikne do vnitřních orgánů obratlovce, především do jater, kde proběhne merogonie. K další merogonii může dojít i v erytrocytech v periferní krvi. Následující fází životního cyklu je tvorba gametocytů, ke které dochází v červených krvinkách. Vektor nasaje gametocyty, ty se posléze změní v gamety, jejichž spojením dojde ke vzniku zygoty. Při konečné fázi, sporogonii, dojde ke vzniku sporozoitů, kteří jsou opět infekční pro obratlovce. Sporozoitů nakonec doputují do slinných žláz komára, kde čekají na inokulaci a cyklus se opakuje (Volf et al. 2007, kap. 2.3.2).



Obr. 2: Životní cyklus prvka rodu *Plasmodium* (Převzato a upraveno z Lee et al. 2014 https://www.researchgate.net/figure/The-Plasmodium-life-cycle-A-malaria-infection-begins-with-the-transmission-of-a_fig1_265342427)

4.1.3 Přenos a vývoj

Plasmodium pro svůj vývoj potřebuje získat řadu látek, které má k dispozici v krvi hostitele. Tento prvek je intracelulárním parazitem, takže většinu potřebných látek, jako jsou aminokyseliny a ionty, získává uvnitř buněk hostitele. Některé látky si ovšem musí obstarat transportem z extracelulárního prostředí. Mezi tyto látky patří např. izoleucin, který patří mezi klíčové látky hrající roli v růstu a znásobení počtu plasmodií v hostiteli. U infikovaných lidských erythrocytů byl pozorován významný rozdíl v transportu izoleucinu – oproti nenakaženému erythrocytu byl přísun izoleucinu až pětkrát vyšší. Důvodem je parazitární manipulace permeability membrány erythrocytu (Martin a Kirk 2007). *Plasmodium* si látky obsažené v extracelulárním prostředí selektivně odebírá z krevního séra a následně je využívá pro svůj vývoj (Tougan et al. 2020).

Významný vliv na vývoj i na přenos má dostatečné a dostupné množství látek, které *Plasmodium* vyžaduje k úspěšnému průběhu a dokončení svého životního cyklu. Nedostatečná výživa může mít na vývoj i na rozmnožování parazita negativní vliv. Ve střevě komára může

tento prvek využívat i lipidů, pokud ovšem dojde k přerušení jejich dodávky, může dojít ke zmenšení velikosti oocyst, a také i k inhibici sporulace oocyst (Costa et al. 2018). Problém může nastat i v případě, kdy se ve vektoru vyskytne příliš mnoho oocyst, z nichž posléze vznikne příliš mnoho sporozoitů, kteří následně soutěží o omezené množství živin v komárovi. U nadměrné infekce *P. berghei* v komáru druhu *An. stephensi* byl počet sporozoitů, kteří doputovali do slinných žláz nakaženého komára nižší než u komára, u něhož byla infekce mírnější (Pollitt et al. 2013). Pokud se *Plasmodium* setká s nedostatkem aminokyselin, dojde ke zpomalení jeho metabolismu i jeho vývoje. V tomto stádiu je schopno přežít a po obnovení přísunu aminokyselin se opět vrátit do původního stavu (Babbitt et al. 2012). Výzkumná skupina, která využila komára druhu *An. coluzzii* a prvoky druhu *P. falciparum* a *P. berghei* tuto hypotézu potvrdila – při intenzivnější infekci došlo ke zpomalení vývoje oocyst a nakonec i ke zpomalení jejich metabolismu. Autoři tvrdí, že oocysty reagují na příliš velké množství parazitů a nedostatek živin v těle hostitele stavem dormance (Habtewold et al. 2021).

K opačnému trendu, tedy zrychlení vývoje tohoto krevního parazita a nakonec i zefektivnění přenosu vektorem může dojít tehdy, když komár opakovaně přijme krev. Samice během svého života mohou sát krev víckrát za účelem získání živin pro tvorbu většího množství vajec, toho ovšem může *Plasmodium* využít ve svůj prospěch. To následně může vést ke zrychlení vývoje oocyst, a posléze i většímu počtu sporozoitů – komáři, kteří přijali krev víckrát, mohou mít ve slinných žlázách více sporozoitů, než komáři, kteří sáli krev jen jednou (Ponnudurai et al. 1989). Toto tvrzení potvrzuje skupina Shaw et al. (2020), která pozorovala vliv více než jednoho krmení vektora druhu *An. gambiae* na vývoj (a potenciálně i přenos) prvoka druhu *P. falciparum*. Po dvou krmeních skutečně došlo ke zrychlení vývoje oocytů, jakožto i ke zvětšení jejich velikosti. Poměrně zajímavým poznatkem bylo i to, že u transgenních komárů s redukovanou schopností reprodukce došlo ke zvýšení prevalence sporozoitů ve slinných žlázách, a to v případě jednoho i dvou sání na krvi. Autoři se obávají, že by se z těchto komárů geneticky upravených ke snížené schopnosti reprodukce mohli ve skutečnosti stát efektivnější přenašeči patogenů, než jsou komáři geneticky neupravení.

Vliv živin a vnitřního prostředí komára na parazita se může lišit i v závislosti na druhu zkoumaného prvoka. V experimentu s vektorem *An. gambiae* a prvoky druhu *P. falciparum* a *P. berghei* byla pozorována odlišná reakce na opakované přijmutí krve komárem. U *P. falciparum* při opakovaném krmení krví došlo ke zvětšení oocyst, ovšem u *P. berghei* nebyla zaznamenána žádná změna. Kromě toho bylo po opětovném nasátí komára pozorováno snížení počtu nedovyvinutých oocyst *P. berghei*. U oocyst *P. falciparum* tento efekt pozorován

nebyl. Autoři se domnívají, že důvodem může být porušení bazální laminy vlivem roztažení střev při nasátí další potravy, což pak může vést ke snížení počtu oocyst pomocí imunitního systému komára (Kwon et al. 2021).

Překážkou pro parazita může být i genetická mutace krvinek lidského hostitele, například srpková anémie. Tato nemoc je dědičná a je způsobena mutací genu pro hemoglobin (při této mutaci dochází k výměně glutamové kyseliny, která je přítomna na šesté pozici β -řetězce, za valin). Pro homozygotní jedince je tato nemoc velmi nevýhodná, protože způsobuje anémii, poruchy cévního systému, a může vést až k úmrtí. Lidé, kteří jsou heterozygoty, mohou mít ovšem proti malárii jisté výhody. Při infekci erytrocytu *P. falciparum* upravuje povrch krvinky tak, aby se buňka následně přichytila na stěnu cévy a nedošlo tak k jejímu zničení ve slezině. Erytrocyty s mutovaným hemoglobinem (HbS, sickle hemoglobin S) mají ovšem oproti nemutovaným erytrocytům (HbA, normal hemoglobin A) slabší vazbu k endotelu (Cholera et al. 2008). Mutované erytrocyty nakažené *P. falciparum* navíc mohou být fagocytovány častěji než nakažené nemutované erytrocyty, což opět může vést ke snížení počtu parazitů v infikovaném hostiteli (Ayi et al. 2004).

Potenciální vliv na přenos mohou mít i léčiva obsažená v krvi hostitele, jelikož pro vektory jsou také důležití mikrobionti ve střevě. Nerovnováha ve střevě komárů může mít následky nejen pro vektora, ale také parazitické prvoky. Gendrin et al. (2015) krmili komáry druhu *An. gambiae* krví obsahující antibiotika (penicilin a streptomycin) a sledovali jejich vliv na střevo vektora. Výsledkem bylo narušení střevní mikrobioty, což mělo za následek i větší náchylnost k infekci *P. falciparum*. Tato studie poukazuje na možné riziko snazšího přenosu těchto parazitických krevních prvoků při nadměrném používání antibiotik.

Dalším příkladem vlivu léčiv v krvi na prvoky jsou antimalarika. Zde je situace poněkud složitější, jelikož antimalarik existuje více druhů – různý typ antimalarik může fungovat na různá životní stádia prvoka. Příkladem budiž studie, kterou provedli Villa et al. (2021). Tato skupina zkoumala, zda mají dva různé typy léků (artesunát a sulfadoxin-pyrimethamin) proti malárii sporontocidní účinek, tedy zda jsou tyto látky schopné zarazit vývoj oocyst a sporozoitů krevního prvoka druhu *P. relictum*. Nakažení i nenakažení komáři druhu *Cx. pipiens quinquefasciatus* měli na výběr mezi hostitelem, kterému byla podána antimalarická látka a hostitelem, který léčen nebyl. Po nasátí krve obsahující antimalarika vědci sledovali změny v množství oocytů v mezenteronu a prevalence a zátěže sporozoitů. U vektorů nakrmených krví obsahující sulfadoxin-pyrimethamin došlo k navýšení počtu oocyst a výraznému snížení

prevalence (- 30 %) a počtu? (- 80 %) sporozoitů. U vektorů nasátých na krvi s artesunátem žádný takový efekt pozorován nebyl, rozdíly v počtu oocyst i v prevalenci sporozoitů nebyly nijak výrazné. Důvodem je nejspíš to, že artesunát a další deriváty artemisininu mají gametocytocidní efekt, když se nachází ve vnitřním prostředí cévního systému člověka, ale ve vektoru takto nefungují (Wadi et al. 2019).

4.1.4 Ovlivnění jinými patogeny

Vliv na přenos tohoto prvoka mohou mít i jiní prvoci. Herren et al. (2020) zjistili, že maternálně přenosný prvek nazvaný *Microsporidia MB*, který se v těle komára vyskytuje jako nepatogenní symbiont, může bránit *P. falciparum* v přenosu z hostitele na vektora. Tato výzkumná skupina otestovala komáry druhu *An. arabiensis* (kteří byli tímto symbiontem nakaženi) na gametocyty *P. falciparum*, tento test byl ovšem negativní. Komáry se symbiotickým prvokem následně experimentálně nakazili *P. falciparum*, ale ve vektorech nevypátrali žádné sporozoity. Tato studie poukazuje na to, že by se tento symbiont mohl potenciálně použít při boji proti přenosu malárie.

Během sání na hostiteli se může komár infikovat krví obsahující nejen *Plasmodium*, ale i trypanosomu, což může také ovlivnit přenos plasmodia. *T. brucei brucei* je schopna přežít v mezenteronu komára (*An. coluzzi*) po dobu minimálně 48 hodin po nasátí infikované krve. Během tohoto období může trypanosoma ovlivnit prostředí ve střevě, což pak může mít vliv na reprodukční fitness komára (líhivost nakladených vajec). Kromě toho přítomnost trypanosomy ve střevě může i ovlivnit, resp. zvýšit, schopnost vektora přenášet *Plasmodium* (Dieme et al. 2020).

Ovlivnit vektora a potenciálně i přenos parazitických prvoků mohou i viry. Při infekci komára druhu *Ae. aegypti* virem dengue byl pozorován rozdíl v chování komára v porovnání s komárem neinfikovaným. Vektor, který byl nakažen tímto virem, strávil více času hledáním cévy, a následně i sáním na hostiteli (Platt et al. 1997). Infekce tímto patogenem může mít vliv i na opětovné sání na hostiteli. Komáři nakažení virem dengue se po vyrušení při krmení pokoušeli o opětovné sání častěji, než komáři neinfikovaní (Maciel-de-Freitas et al. 2013).

5 Závěr

Komáři (Diptera: Culicidae) jsou celosvětově rozšířeným hmyzem významným především pro svou schopnost přenášet řadu patogenů, kvůli kterým každoročně zemře až milion lidí. Obě pohlaví se krmí na rostlinných šťávách, z nichž získávají cukr. Pro tvorbu snůšky ovšem samice potřebují více živin než samci. Autogenní samice krev zpravidla nevyhledávají a snůšku vytvoří z živin, které získaly ve stádiu larvy. Anautogenní samice po kopulaci vyhledají hostitele, z něhož nasají krev a živiny z krve získané použijí pro tvorbu vajíček.

Samice těchto vektorů si vybírají hostitele za pomoci řady faktorů – vnitřních (změna v expresi genu) i vnějších (vydechovaný CO₂, pach hostitele, barva, teplo, vlhkost, roční období aj.) U různých rodů komárů lze najít určitou preferenci pro hostitele, např. rod *Culex* je spíše ornitofilní. I zde však lze najít rozdíly, a to i mezi druhy komárů v jednom rodu. Je tedy patrné, že ačkoli komáři mohou mít určité vnitřní předpoklady pro preferenci hostitele (např. zvýšenou/sníženou expresí genu), tak i vnější faktory mohou mít na konečný výběr hostitele významný vliv. Pokud se v okolí komára nevyskytuje jeho preferovaný hostitel, nebo pokud je přístup k preferovanému hostiteli omezen (např. pomocí ochranných sítí), komár se nasaje na jiném, méně preferovaném typu hostitele.

Plodnost samic může ovlivnit řada faktorů – potrava, kterou přijaly ve stádiu larvy, výživa samců, ale také živiny, které samice získají v dospělosti. Rostlinné šťávy samicím dodají cukr a energii, což pak může mít vliv nejen na jejich plodnost, ale i délku života. Krevní složka jejich potravy je použita na tvorbu vajíček. Vliv na velikost snůšky i líhivost vajec má nejen typ krve, které samice nasají (krev ze savce, ptáka, obojživelníka aj.), ale i množství nasáté krve a opakované sání na hostitelích.

Potrava komárů může ovlivnit nejen vývoj, ale i přenos prvoků – při nedostatku živin potřebných pro jejich vývoj může *Plasmodium* zpomalit svůj metabolismus a přejít do stádia dormance a takto vyčkávat, dokud se podmínky pro jeho vývoj nezlepší. Naopak dostatek živin a opakované sání na hostiteli mohou být pro tyto prvoky prospěšné, podpoří jejich vývoj a počty patogenů se rychle zmnoží. Vliv na přenos mohou mít i látky obsažené v krvi hostitele, jako jsou antibiotika a antimalarika. Kromě toho mohou přenos ovlivňovat i jiní prvoci. Nejlépe je tato problematika prostudována na plasmodiu, ostatní komárem přenášené prvoci jsou z tohoto hlediska spíše přehlíženy.

6 Seznam použité literatury

- Adl, S. M., Bass, D., Lane, C. E., Lukeš, J., Schoch, C. L., Smirnov, A., Agatha, S., Berney, C., Brown, M. W., Burki, F., Cárdenas, P., Čepička, I., Chistyakova, L., Campo, J., Dunthorn, M., Edvardsen, B., Eglit, Y., Guillou, L., Hampl, V., Heiss, A. A., Hoppenrath, M., James, T. Y., Karnkowska, A., Karpov, S., Kim, E., Kolisko, M., Kudryavtsev, A., Lahr, D. J. G., Lara, E., Le Gall, L., Lynn, D. H., Mann, D. G., Massana, R., Mitchell, E. A. D., Morrow, C., Soo Park, J., Pawlowski, J. W., Powell, M. J., Richter, D. J., Rueckert, S., Shadwick, L., Shimano, S., Spiegel, F. W., Torruella, G., Youssef, N., Zlatogursky, V. & Zhang, Q. (2019). Revisions to the Classification, Nomenclature, and Diversity of Eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 66(1), 4–119.
- Awasthi, A. K., Wu, C.-H., & Hwang, J.-S. (2012). Diving as an Anti-Predator Behavior in Mosquito Pupae. *Zoological Studies*, 51(8), 1225-1234.
- Ayi, K., Turrini, F., Piga, A., & Arese, P. (2004). Enhanced phagocytosis of ring-parasitized mutant erythrocytes: A common mechanism that may explain protection against falciparum malaria in sickle trait and beta-thalassemia trait. *Blood*, 104(10), 3364–3371.
- Babbitt, S. E., Altenhofen, L., Cobbold, S. A., Istvan, E. S., Fennell, C., Doerig, C., Llinas, M., & Goldberg, D. E. (2012). Plasmodium falciparum responds to amino acid starvation by entering into a hibernatory state. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 109(47), E3278–E3287.
- Benhamed, D., Bendali-Saoudi, F. & Soltani, N. (2016). Effect of two blood meal types on reproduction and development in the mosquito Anopheles maculipennis. *Journal of Entomology and Zoology Studies*, 4, 335–339.
- Braks, M. A. H., Juliano, S. A., & Lounibos, L. P. (2006). Superior reproductive success on human blood without sugar is not limited to highly anthropophilic mosquito species. *Medical and Veterinary Entomology*, 20(1), 53–59.
- Brett, G.A. (1938) On the relative attractiveness to Aedes aegypti of certain coloured cloths. *Transactions of The Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*. 32(1), 113–124.
- Brown, A. W. A. (1954). Studies on the Responses of the Female Aedes Mosquito. Part VI.—The Attractiveness of coloured Cloths to Canadian Species. *Bulletin of Entomological Research*, 45(1), 67–78.

- Cavalier-Smith, T. (1981). Eukaryote kingdoms: Seven or nine? *Biosystems*, *14*(3–4), 461–481.
- Clements, A. N. (1992). *The Biology of Mosquitoes. Volume 1: Development, Nutrition and Reproduction*. London: Chapman & Hall.
- Clifton, M. E., Correa, S., Rivera-Perez, C., Nouzova, M., & Noriega, F. G. (2014). Male *Aedes aegypti* mosquitoes use JH III transferred during copulation to influence previtellogenic ovary physiology and affect the reproductive output of female mosquitoes. *Journal of Insect Physiology*, *64*, 40–47.
- Cornet, S., Nicot, A., Rivero, A., & Gandon, S. (2013). Malaria infection increases bird attractiveness to uninfected mosquitoes. *Ecology Letters*, *16*(3), 323–329.
- Costa, G., Gildenhart, M., Eldering, M., Lindquist, R. L., Hauser, A. E., Sauerwein, R., Goosmann, C., Brinkmann, V., Carrillo-Bustamante, P., & Levashina, E. A. (2018). Non-competitive resource exploitation within mosquito shapes within-host malaria infectivity and virulence. *Nature Communications*, *9*(1), 3474.
- Crans, W. J. (1970). The blood feeding habits of *Culex territans* Walker. *Mosquito News* *30*: 445–447
- Day, J. F., & Edman, J. D. (1984). Mosquito Engorgement on Normally Defensive Hosts Depends on Host Activity Patterns¹. *Journal of Medical Entomology*, *21*(6), 732–740.
- Deitsch, K. W., & Wellems, T. E. (1996). Membrane modifications in erythrocytes parasitized by *Plasmodium falciparum*. *Molecular and Biochemical Parasitology*, *76*(1–2), 1–10.
- Dekker, T., Steib, B., Cardé, R. T., & Geier, M. (2002). L-lactic acid: A human-signifying host cue for the anthropophilic mosquito *Anopheles gambiae*: L-lactic acid host cue for *Anopheles gambiae*. *Medical and Veterinary Entomology*, *16*(1), 91–98.
- Devenport, M., Alvarenga, P. H., Shao, L., Fujioka, H., Bianconi, M. L., Oliveira, P. L., & Jacobs-Lorena, M. (2006). Identification of the *Aedes aegypti* Peritrophic Matrix Protein AeIMUCI as a Heme-Binding Protein. *Biochemistry*, *45*(31), 9540–9549.
- Dieme, C., Zmarlak, N. M., Brito-Fravallo, E., Travillé, C., Pain, A., Cherrier, F., Genève, C., Calvo-Alvarez, E., Riehle, M. M., Vernick, K. D., Rotureau, B., & Mitri, C. (2020). Exposure of *Anopheles* mosquitoes to trypanosomes reduces reproductive fitness and enhances susceptibility to *Plasmodium*. *PLOS Neglected Tropical Diseases*, *14*(2), e0008059.

- Edman, J. D., & Scott, T. W. (1987). Host defensive behaviour and the feeding success of mosquitoes. *International Journal of Tropical Insect Science*, 8(4-5-6), 617-622.
- Edman, J., Webber, L., & Schmid, A. (1974). Effect of Host Defenses on the Feeding Pattern of *Culex nigripalpus* When Offered a Choice of Blood Sources. *The Journal of Parasitology* 60(5), 874-883.
- Focks, D. A. (2007). Toxorhynchites as biocontrol agents. *Journal of the American Mosquito Control Association*, 23(sp2), 118-127.
- Gardner, M. J., Hall, N., Fung, E., White, O., Berriman, M., Hyman, R. W., Carlton, J. M., Pain, A., Nelson, K. E., Bowman, S., Paulsen, I. T., James, K., Eisen, J. A., Rutherford, K., Salzberg, S. L., Craig, A., Kyes, S., Chan, M.-S., Nene, V., Shallom, S. J., Suh, B., Peterson, J., Angiuoli, S., Pertea, M., Allen, J., Selengut, J., Haft, D., Mather, M. W., Vaidya, A. B., Martin, D. M. A., Fairlamb, A. H., Fraunholz, M. J., Roos, D. S., Ralph, S. A., McFadden, G. I., Cummings, L. M., Subramanian, G. M., Mungall, C., Venter, J. C., Carucci, D. J., Hoffman, S. L., Newbold, C., Davis, R. W., Fraser, C. M. & Barrell, B. (2002). Genome sequence of the human malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Nature*, 419, 498-511.
- Gendrin, M., Rodgers, F. H., Yerbanga, R. S., Ouédraogo, J. B., Basáñez, M.-G., Cohuet, A., & Christophides, G. K. (2015). Antibiotics in ingested human blood affect the mosquito microbiota and capacity to transmit malaria. *Nature Communications*, 6(1), 5921.
- Habtewold, T., Sharma, A. A., Wyer, C. A. S., Masters, E. K. G., Windbichler, N., & Christophides, G. K. (2021). *Plasmodium* oocysts respond with dormancy to crowding and nutritional stress. *Scientific Reports*, 11(1), 3090.
- Harrison, R. E., Brown, M. R., & Strand, M. R. (2021). Whole blood and blood components from vertebrates differentially affect egg formation in three species of anautogenous mosquitoes. *Parasites & Vectors*, 14(1), 119.
- Helinski, M. E. H., Deewatthanawong, P., Sirot, L. K., Wolfner, M. F., & Harrington, L. C. (2012). Duration and dose-dependency of female sexual receptivity responses to seminal fluid proteins in *Aedes albopictus* and *Ae. aegypti* mosquitoes. *Journal of Insect Physiology*, 58(10), 1307-1313.
- Herndon, L. A., & Wolfner, M. F. (1995). A *Drosophila* seminal fluid protein, Acp26Aa, stimulates egg laying in females for 1 day after mating. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 92(22), 10114-10118.

- Herren, J. K., Mbaisi, L., Mararo, E., Makhulu, E. E., Mobegi, V. A., Butungi, H., Mancini, M. V., Oundo, J. W., Teal, E. T., Pinaud, S., Lawniczak, M. K. N., Jabara, J., Nattoh, G., & Sinkins, S. P. (2020). A microsporidian impairs *Plasmodium falciparum* transmission in *Anopheles arabiensis* mosquitoes. *Nature Communications*, *11*(1), 2187.
- Huber, M., Cabib, E., & Miller, L. H. (1991). Malaria parasite chitinase and penetration of the mosquito peritrophic membrane. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *88*(7), 2807–2810.
- Huck, D. T., Klein, M. S., & Meuti, M. E. (2021). Determining the effects of nutrition on the reproductive physiology of male mosquitoes. *Journal of Insect Physiology*, *129*, 104191.
- Chandrasegaran, K., Kandregula, S. R., Quader, S., & Juliano, S. A. (2018). Context-dependent interactive effects of non-lethal predation on larvae impact adult longevity and body composition. *PLOS ONE*, *13*(2)
- Cheng, L., ed. (1976). *Marine insects*. North-Holland, Amsterdam.
- Chikwendu, J. I., Onekutu, A., & Ogbonna, I. O. (2019). Effects of Host Blood on Fecundity and Longevity of Female *Anopheles* Mosquitoes. *International Journal of Pathogen Research*, 1–7.
- Cholera, R., Brittain, N. J., Gillrie, M. R., Lopera-Mesa, T. M., Diakite, S. A. S., Arie, T., Krause, M. A., Guindo, A., Tubman, A., Fujioka, H., Diallo, D. A., Doumbo, O. K., Ho, M., Wellems, T. E., & Fairhurst, R. M. (2008). Impaired cytoadherence of *Plasmodium falciparum*-infected erythrocytes containing sickle hemoglobin. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *105*(3), 991–996.
- Joy, T. K., Arik, A. J., Corby-Harris, V., Johnson, A. A., & Riehle, M. A. (2010). The impact of larval and adult dietary restriction on lifespan, reproduction and growth in the mosquito *Aedes aegypti*. *Experimental Gerontology*, *45*(9), 685–690.
- Kalpage, K. S. P., & Brust, R. A. (1974). Studies on Diapause and Female Fecundity in *Aedes atropalpus* 12. *Environmental Entomology*, *3*(1), 139–145.
- Karpov, S. A., Mamkaeva, M. A., Aleoshin, V. V., Nassonova, E., Lilje, O., & Gleason, F. H. (2014). Morphology, phylogeny, and ecology of the aphelids (Aphelidea, Opisthokonta) and proposal for the new superphylum Opisthosporidia. *Frontiers in Microbiology*, *5*, 112.

- Kellogg, F. E. (1970). Water vapour and carbon dioxide receptors in *Aedes aegypti*. *Journal of Insect Physiology*, 16(1), 99–108.
- Kilpatrick, A. M., Kramer, L. D., Jones, M. J., Marra, P. P., & Daszak, P. (2006). West Nile Virus Epidemics in North America Are Driven by Shifts in Mosquito Feeding Behavior. *PLoS Biology*, 4(4), e82.
- Kotepui, M., Phunphuech, B., Phiwklam, N., Chupeerach, C., & Duangmano, S. (2014). Effect of malarial infection on haematological parameters in population near Thailand-Myanmar border. *Malaria Journal*, 13(1), 218.
- Kwon, H., Simões, M. L., Reynolds, R. A., Dimopoulos, G., & Smith, R. C. (2021). Additional Feeding Reveals Differences in Immune Recognition and Growth of *Plasmodium* Parasites in the Mosquito Host. *MSphere*, 6(2).
- Lacroix, R., Mukabana, W. R., Gouagna, L. C., & Koella, J. C. (2005). Malaria Infection Increases Attractiveness of Humans to Mosquitoes. *PLoS Biology*, 3(9), e298.
- Land, M. F., Gibson, G., & Horwood, J. (1997). Mosquito eye design: Conical rhabdoms are matched to wide aperture lenses. *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences*, 264(1385), 1183–1187.
- Lee, A. H., Symington, L. S., & Fidock, D. A. (2014). DNA Repair Mechanisms and Their Biological Roles in the Malaria Parasite *Plasmodium falciparum*. *Microbiology and Molecular Biology Reviews*, 78(3), 469–486.
- Lee, K.-S., Cox-Singh, J., Brooke, G., Matusop, A., & Singh, B. (2009). *Plasmodium knowlesi* from archival blood films: Further evidence that human infections are widely distributed and not newly emergent in Malaysian Borneo. *International Journal for Parasitology*, 39(10), 1125–1128.
- Macfie, J. W. S., & Thomson, J. G. (1929). A trypanosome of the canary (*Serinus canarius* Koch). *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 23(2), 185–191.
- Maciel-de-Freitas, R., Sylvestre, G., Gandini, M., & Koella, J. C. (2013). The Influence of Dengue Virus Serotype-2 Infection on *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae) Motivation and Avidity to Blood Feed. *PLoS ONE*, 8(6), e65252.
- Marquardt, W. C. (2004). *Biology of disease vectors* (2nd ed). Elsevier Academic Press.

- Martin, R. E., & Kirk, K. (2007). Transport of the essential nutrient isoleucine in human erythrocytes infected with the malaria parasite *Plasmodium falciparum*. *Blood*, *109*(5), 2217–2224.
- McBride, C. S., Baier, F., Omondi, A. B., Spitzer, S. A., Lutomiah, J., Sang, R., Ignell, R., & Vosshall, L. B. (2014). Evolution of mosquito preference for humans linked to an odorant receptor. *Nature*, *515*(7526), 222–227.
- McCann, S., Day, J. F., Allan, S., & Lord, C. C. (2009). Age modifies the effect of body size on fecundity in *Culex quinquefasciatus* Say (Diptera: Culicidae). *Journal of Vector Ecology*, *34*(2), 174–181.
- Milner, D. A. (2018). Malaria Pathogenesis. *Cold Spring Harbor Perspectives in Medicine*, *8*(1), a025569.
- Molaei, G., & Andreadis, T. G. (2006). Identification of Avian- and Mammalian-Derived Bloodmeals in *Aedes vexans* and *Culiseta melanura* (Diptera: Culicidae) and Its Implication for West Nile Virus Transmission in Connecticut, U.S.A. *Journal of Medical Entomology*, *43*(5), 6.
- Naziri, M. A., Kassim, N. F. A., Jong, Z.-W., & Webb, C. E. (2016). Effects of sugar concentration on fecundity, biting behavior and survivability of female *Aedes* (*Stegomyia*) *albopictus* (Skuse). *Southeast Asian J Trop Med Public Health*, *47*(6), 7.
- O'Meara, G. F. (1985). Gonotrophic Interactions in Mosquitoes: Kicking the Blood-Feeding Habit. *The Florida Entomologist*, *68*(1), 122.
- Perrone, J. B., & Spielman, A. (1986). Microfilarial Perforation of the Midgut of a Mosquito. *Journal of Parasitology*, *72*(5), 723.
- Platt KB, Linthicum KJ, Myint KS, Innis BL, Lerdthusnee K, Vaughn DW. (1997) Impact of dengue virus infection on feeding behavior of *Aedes aegypti*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *57*(2), 119–125.
- Pollitt, Laura. C., Churcher, T. S., Dawes, E. J., Khan, S. M., Sajid, M., Basáñez, M., Colegrave, N., & Reece, S. E. (2013). Costs of crowding for the transmission of malaria parasites. *Evolutionary Applications*, *6*(4), 617–629.
- Pondeville, E., Maria, A., Jacques, J.-C., Bourgouin, C., & Dauphin-Villemant, C. (2008). *Anopheles gambiae* males produce and transfer the vitellogenic steroid hormone 20-

hydroxyecdysone to females during mating. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 105(50), 19631–19636.

Ponlawat, A., & Harrington, L. C. (2005). Blood Feeding Patterns of *Aedes aegypti* and *Aedes albopictus* in Thailand. *Journal of Medical Entomology*, 42(5), 6.

Ponnudurai T., Lensen A. H., van Gemert G. J., Bensink M. P., Bolmer M., Meuwissen J. H. (1989). Sporozoite load of mosquitoes infected with *Plasmodium falciparum*. *Trans R Soc Trop Med Hyg.* 83(1), 67-70.

Prasadini, M., Dayananda, D., Fernando, S., Harischandra, I., De Silva, N. (2019). Blood Feeding Preference of Female *Aedes aegypti* Mosquitoes for Human Blood Group Types and Its Impact on Their Fecundity: Implications for Vector Control. *American Journal of Entomology*, 3(2), 43.

Radrova, J., Seblova, V., & Votypka, J. (2013). Feeding Behavior and Spatial Distribution of *Culex* Mosquitoes (Diptera: Culicidae) in Wetland Areas of the Czech Republic. *Journal of Medical Entomology*, 50(5), 1097–1104.

Richards, S. L., Anderson, S. L., & Yost, S. A. (2012). Effects of blood meal source on the reproduction of *Culex pipiens quinquefasciatus* (Diptera: Culicidae). *Journal of Vector Ecology*, 37(1), 1–7.

Rizzoli, A., Bolzoni, L., Chadwick, E. A., Capelli, G., Montarsi, F., Grisenti, M., de la Puente, J. M., Muñoz, J., Figuerola, J., Soriguer, R., Anfora, G., Di Luca, M., & Rosà, R. (2015). Understanding West Nile virus ecology in Europe: *Culex pipiens* host feeding preference in a hotspot of virus emergence. *Parasites & Vectors*, 8(1), 213.

Sato, S., & Wilson, R. J. M. (2005). The Plastid of *Plasmodium* spp.: A Target for Inhibitors. In R. W. Compans, M. D. Cooper, T. Honjo, H. Koprowski, F. Melchers, M. B. A. Oldstone, S. Olsnes, M. Potter, P. K. Vogt, H. Wagner, D. J. Sullivan, & S. Krishna (Ed.), *Malaria: Drugs, Disease and Post-genomic Biology*. Springer-Verlag. 295, 251–273.

Savage, H. M., Niebylski, M. L., Smith, G. C., Mitchell, C. J., & Craig, G. B. (1993). Host-Feeding Patterns of *Aedes albopictus* (Diptera: Culicidae) at a Temperate North American Site. *Journal of Medical Entomology*, 30(1), 27–34.

Shaw, W. R., Holmdahl, I. E., Itoe, M. A., Werling, K., Marquette, M., Paton, D. G., Singh, N., Buckee, C. O., Childs, L. M., & Catteruccia, F. (2020). Multiple blood feeding in mosquitoes

shortens the *Plasmodium falciparum* incubation period and increases malaria transmission potential. *PLOS Pathogens*, 16(12), e1009131.

Shirai, O., Tsuda, T., Kitagawa, S., Naitoh, K., Seki, T., Kamimura, K. & Morohashi, M. (2002). Alcohol ingestion stimulates mosquito attraction. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 18(2), 91-6.

Shuey, J., Bucci, A & Romoser, W. (1987). A behavioral mechanism for resting site selection by pupae in three mosquito species. *Journal of the American Mosquito Control Association*. 3. 65-9.

Singh, B., Sung, L. K., Matusop, A., Radhakrishnan, A., Shamsul, S. S., Cox-Singh, J., Thomas, A., & Conway, D. J. (2004). A large focus of naturally acquired *Plasmodium knowlesi* infections in human beings. *The Lancet*, 363(9414), 1017–1024.

Siriyasatien, P., Pengsakul, T., Kittichai, V., Phumee, A., Kaewsaitiam, S., Thavara, U., Tawatsin, A., Asavadachanukorn, P., & Mulla, M. S. (2010). Identification of blood meal of field caught *Aedes aegypti* (L.) by multiplex PCR. *The Southeast Asian Journal of Tropical Medicine and Public Health*, 41(1), 5.

Snodgrass, R. E. (1959). The anatomical life of the mosquito. *Smithsonian Miscellaneous Collections*. 139(8), 1–87.

Souza, R. S., Virginio, F., Riback, T. I. S., Suesdek, L., Barufi, J. B., & Genta, F. A. (2019). Microorganism-Based Larval Diets Affect Mosquito Development, Size and Nutritional Reserves in the Yellow Fever Mosquito *Aedes aegypti* (Diptera: Culicidae). *Frontiers in Physiology*, 10, 152.

Steffan, W. A., & Evenhuis, N. L. (1981). Biology of Toxorhynchites. *Annual Review of Entomology*, 26(1), 159–181.

Takken, W., Smallegange, R. C., Vigneau, A. J., Johnston, V., Brown, M., Mordue-Luntz, A. J., & Billingsley, P. F. (2013). Larval nutrition differentially affects adult fitness and *Plasmodium* development in the malaria vectors *Anopheles gambiae* and *Anopheles stephensi*. *Parasites & Vectors*, 6(1), 345.

Tavares Cabral, N., & De Almeida e Silva, A. (2018). Blood supplementation with vitamins increases the fertility of *Anopheles darlingi* (Diptera: Culicidae). *Revista de Patologia Tropical / Journal of Tropical Pathology*, 47(1), 46.

- Telang, A., & Skinner, J. (2019). Effects of host blood meal source on reproductive output, nutrient reserves and gut microbiome of West Nile virus vector *Culex quinquefasciatus*. *Journal of Insect Physiology*, *114*, 15–22.
- Telang, A., & Wells, M. A. (2004). The effect of larval and adult nutrition on successful autogenous egg production by a mosquito. *Journal of Insect Physiology*, *50*(7), 677–685.
- Tempelis, C. H., & Galindo, P. (1970). Feeding Habits of Five Species of Deinocerites Mosquitoes Collected in Panama. *Journal of Medical Entomology*, *7*(2), 175–179.
- Tempelis, G. H., & Washino, R. K. (1967). Host-Feeding Patterns of *Culex tarsalis* in the Sacramento Valley, California, With Notes on Other Species. *Journal of Medical Entomology*, *4*(3), 315–318.
- Lefèvre, T., D., Gouagna, L.-C., Dabiré, Elguero, E., Fontenille, K. R., Renaud, F., Costantini, C. & Thomas, F. (2009). Beyond Nature and Nurture: Phenotypic Plasticity in Blood-Feeding Behavior of *Anopheles gambiae* s.s. When Humans Are Not Readily Accessible. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *81*(6), 1023–1029.
- Toma, T., Miyagi, I., Higa, Y., Okazawa, T., & Sasaki, H. (2005). Culicid and Chaoborid flies (Diptera: Culicidae and Chaoboridae) attracted to a CDC miniature frog call trap at Iriomote Island, the Ryukyu Archipelago, Japan. *Medical Entomology and Zoology*, *56*(2), 65–71.
- Toma, T., Miyagi, I., Tamashiro, M., Higa, Y., Okudo, H., & Okazawa, T. (2011). Bionomics of the Mud Lobster–Hole Mosquito *Aedes* (*Geoskusea*) *baisasi* in the Mangrove Swamps of the Ryukyu Archipelago, Japan. *Journal of the American Mosquito Control Association*, *27*(3), 207–216.
- Tougan, T., Edula, J. R., Morita, M., Takashima, E., Honma, H., Tsuboi, T., & Horii, T. (2020). The malaria parasite *Plasmodium falciparum* in red blood cells selectively takes up serum proteins that affect host pathogenicity. *Malaria Journal*, *19*(1), 155.
- Van Handel, E. (1976). The chemistry of egg maturation in the unfed mosquito *Aedes atropalpus*. *Journal of Insect Physiology*, *22*(4), 521–522.
- van Breugel, F., Riffell, J., Fairhall, A., & Dickinson, M. H. (2015). Mosquitoes Use Vision to Associate Odor Plumes with Thermal Targets. *Current Biology*, *25*(16), 2123–2129.

- Villa, M., Buysse, M., Berthomieu, A., & Rivero, A. (2021). The transmission-blocking effects of antimalarial drugs revisited: Fitness costs and sporontocidal effects of artesunate and sulfadoxine-pyrimethamine. *International Journal for Parasitology*, *51*(4), 279–289.
- Volf, P., & Horák, P. et al. (2007). *Paraziti a jejich biologie*. Vyd. 1., Praha: Triton.
- Votýpka, J., Šeblová, V., & Rádrová, J. (2008). Spread of the West Nile virus vector *Culex modestus* and the potential malaria vector *Anopheles hyrcanus* in central Europe. *Journal of Vector Ecology*, *33*(2), 269–277.
- Wadi, I., Nath, M., Anvikar, A. R., Singh, P., & Sinha, A. (2019). Recent advances in transmission-blocking drugs for malaria elimination. *Future Medicinal Chemistry*, *11*(23), 3047–3088.
- World Health Organization (2020). *World malaria report 2020: 20 years of global progress and challenges*. Geneva.
- Xue, R.-D., Barnard, D. R., & Ali, A. (2009). Influence of Multiple Blood Meals on Gonotrophic Dissociation and Fecundity in *Aedes albopictus*. *Journal of the American Mosquito Control Association*, *25*(4), 504–507.
- Yan, J., Gangoso, L., Martínez-de la Puente, J., Soriguer, R., & Figuerola, J. (2017). Avian phenotypic traits related to feeding preferences in two *Culex* mosquitoes. *The Science of Nature*, *104*(9–10), 76.
- Yan, J., Gangoso, L., Ruiz, S., Soriguer, R., Figuerola, J., & Martínez-de la Puente, J. (2021). Understanding host utilization by mosquitoes: Determinants, challenges and future directions. *Biological Reviews*, *96*(4), 1367–1385.
- Yan, J., Kibech, R., & Stone, C. M. (2021). Differential effects of larval and adult nutrition on female survival, fecundity, and size of the yellow fever mosquito, *Aedes aegypti*. *Frontiers in Zoology*, *18*(1), 10.
- Yan, J., Martínez-de la Puente, J., Gangoso, L., Gutiérrez-López, R., Soriguer, R., & Figuerola, J. (2018). Avian malaria infection intensity influences mosquito feeding patterns. *International Journal for Parasitology*, *48*(3–4), 257–264.