Přírodovědecká fakulta
Univerzita Karlova

Plži rodu *Radix* (čeleď *Lymnaeidae*) jako mezihostitelé ptačích schistosom rodu *Trichobilharzia* na území ČR

Kateřina Huňová

Bakalářská práce

Praha 2006

Děkuji svému školiteli prof. RNDr. Petru Horákovi Ph. D. za odborné vedení a cenné připomínky k mé práci, Martinu Podhorskému za pomoc při lovu plžů a všem členům helmintologického týmu za všestrannou ochotu pomoci.

Také bych ráda poděkovala svým rodičům za umožnění studia na vysoké škole a za podporu během celého studia.

P r o h l á š e n í

Prohlašuji, že jsem tuto bakalářskou práci vypracovala samostatně, pod vedením školitele Prof. RNDr. Petra Horáka Ph. D., a že jsem všechny použité prameny řádně citoval.

Jsem si vědom toho, že případné využití výsledků, získaných v této práci, mimo Univerzitu Karlovu v Praze je možné pouze po písemném souhlasu této univerzity.

V Praze dne 2. 5. 2006

.....
podpis

OBSAH:

1. Úvod……5
2. Literární přehled……6
2. 1. Diverzita ptačích schistosom……..6
2. 2. Ptačí schistosomy a jejich mezihostitelé……...8
2. 3. Charakteristika rodu *Trichobilharzia* sp……9
2. 4. Vztahy mezi *Trichobilharzia* sp. a mezihostitelem……..11
2. 4. 1. Nalezení mezihostitele……11
2. 4. 2. Vývoj parazita v plži……12
2. 4. 3. Vnitřní obranný systém (IDS) plžů……12
2. 5. Problematika determinace rodu *Radix*……..13
2. 5. 1. Uvedení do problematiky……13
2. 5. 2. Determinace na základě morfologie ulity……14
2. 5. 3. Determinace na základě rozdílnosti pohlavní soustavy……15
2. 5. 4. Determinace podle karyotypu a na základě molekulární analýzy……16
2. 5. 5. Popis plžů rodu *Radix*……..17
2. 5. 6. Shrnutí……19
3. Praktická část……..20
3. 1. Úvod……20
3. 2. Metodika……..20
3. 3. Výsledky……..21
3. 4. Diskuze……....22
3. 5. Závěr……23
4. Závěr bakalářské práce……24
5. Seznam literatury……25

1. ÚVOD

Schistosomy patří, spolu s ostatními skupinami třídy Trematoda, do kmene Plathelminthes. Na rozdíl od ostatních čeledí, jejichž zástupci jsou dorzoventrálně zploštělí hermafrodité, mají schistosomy oblý průřez těla, oddělené pohlaví a liší se i lokalizací v těle definitivního hostitele. Jejich životní cyklus je dvouhostitelský, jako mezihostitel slouží vždy plž, definitivním hostitelem je pták nebo savec. Mezi savčí druhy patří významní parazité člověka (např. *Schistosoma mansoni*), a proto je jim věnována náležitá pozornost. Ptačí druhy jsou opomíjeny, přestože prevalence nákaz ptáků se pohybuje v desítkách procent (Kolářová a kol. 1997, Rudolfová a kol. 2002) a cerkárie některých druhů mohou proniknout do kůže nespecifického savčího hostitele (včetně člověka), kde způsobují onemocnění nazývané cerkáriová dermatitida (Kolářová a kol. 1997, Horák a kol. 1999, Horák a kol. 2002). Malé rozměry spolu s lokalizací v těle definitivního hostitele, která není pro ostatní čeledi motolic typická, jsou důvodem jejich přehlížení při parazitologických pitvách (Rudolfová a kol. 2002).

Ptačí schistosomy jsou úzce specifické ke svému mezihostiteli. Ve své práci se budu zabývat mezihostiteli schistosom rodu *Trichobilharzia*, jimiž jsou plži z čeledi *Lymnaeidae.*

Zejména dva druhy z této čeledi – *Radix peregra* a *Radix ovata*, jsou od sebe těžko odlišitelné na základě morfologie ulity. Molekulární taxonomie odhalila, že na našem území se vyskytují jiné druhy než se původně myslelo (Bargues a kol. 2001).

Cílem mé práce je podat literární přehled o systematice, rozšíření a mezihostitelích ptačích schistosom. Zaměřím se zejména na mezihostitele rodu *Trichobilharzia* v ČR. V praktické části se pokusím rozlišit *Radix peregra* a *Radix ovata* na základě morfologie ulity

2.LITERÁRNÍ PŘEHLED

2. 1. Diverzita ptačích schistosom

Čeleď *Schistosomatidae* zahrnuje 14 rodů, z nichž osm využívá jako své definitivní hostitele ptáky (Basch 1991) viz Tab. 1. V České republice se vyskytuje pět rodů ptačích schistosom (viz Tab. 2) – *Bilharziella* (Našincová 1992, Kolářová a kol.1997), *Ornithobilharzia* (Vojtek 1981, Kolářová a kol. 1997), *Gigantobilharzia* (Vojtek 1981, Kolářová a kol. 1997), *Trichobilharzia* (Kolářová a kol. 1997, Horák a kol. 1998, Rudolfová 2003) a *Dendritobilharzia* (Kolářová a kol. 1997). Rod *Trichobilharzia* s více jak 40 druhy je nejpočetnějším rodem čeledi. Platnost jednotlivých druhů je však sporná (Horák a kol. 2002). Přestože infekce ptáků jsou časté, prevalence nákaz plžů se pohybují ve zlomcích až jednotkách procent. Tento jev je vysvětlován vysokou rezistencí plžů nebo jejich velkou mortalitou (Van der Knaap a Loker 1990, Thomson 1997 - cit. dle Zbikowska 2004). Příčina může být také v kompetici sporocyst schistosom s jinými motolicemi např. z čeledi *Echinostomatidae*. V plžích infikovaných echinostomami se schistosomy většinou neprosadí (Kian 1973, Sousa 1992)

Tab. 1 Přehled ptačích schistosom vyskytujících se ve světě (Farley 1971, Khalil 2002)

podčeleď	**rod**	**rozšíření**	**mezihostitel**
Schistosomatinae	*Austrobilharzia*	kosmopolitní	*Prosobranchia*
	Macrobilharzia	Severní a Jižní Amerika	?
	Ornithobilharzia	kosmopolitní	*Prosobranchia*
Bilharziellinae	*Bilharziella*	sever. polokoule	*Pulmonata*
	Trichobilharzia	kosmopolitní	*Pulmonata*
	Jilinobilharzia	Asie	*Pulmonata*
Gigantobilharziinae	*Gigantobilharzia*	kosmopolitni	*Pulmonata*
			Opisthobranchia
	Dendritobilharzia	kosmopolitní	?

Pozn. V roce 2006 byl z *Cygnus cygnus* popsán nový rod a druh *Allobilharzia visceralis*. Mezihostitel není známý, druh byl zatím nalezen jen v ptácích pocházejících z Islandu (Kolářová a kol. 2006).

Tab. 2 Přehled ptačích schistosom nalezených v České republice

druh	**mezihostitel**	**definitivní hostitel**	**nalezené stadium**	**autor**
Bilharziella polonica	*Planorbarius corneus*		cerkárie	Žďárská 1963, Gelnar 1980, Našincová 1992
Bilharziella polonica		*Anas clypeata, Anas crecca, Anas querquedula, Anas platyrhynchos, Aythya ferina, Aythya fuligula, Anser anser, Podiceps nigricollis, Podiceps cristatus, Ciconia ciconia, Ciconia nigra, Porzana parva, Ardea cinerea*	dospělec	Vojtek 1981, Kolářová a kol. 1997
Dendritobilharzia pulverulenta		*Anas acuta, Anas querquedula, Anas platyrhynchos, Aythya ferina, Cygnus olor, Fulica atra, Rallus aquaticus*	dospělec	Vojtek 1981, Kolářová a kol. 1997
Gigantobilharzia acotylea		*Larus ridibundus, Larus minutus, Sterno hirundo*	dospělec	Vojtek 1981, Kolářová a kol. 1997

Gigantobilharzia sp.	*Anisus vortex, Gyraulus albus, Segmentina nitida, Physa fontinalis, Physella sp.*		cerkárie	Rudolfová 2003
Ornithobilharzia canaliculata		*Sterno hirundo, Hydroprogne tschegrava*	dospělec	Vojtek 1981, Kolářová a kol. 1997
Trichobilharzia franki	*Radix auricularia*	*Anseriformes*	cerkárie	Kolářová a kol. 1997
Trichobilharzia regenti	*Radix ovata, Radix peregra*		cerkárie	Dvořák 2000, Rudolfová 2003
Trichobilharzia regenti		*Anseriformes*	dospělec	Dvořák 2000, Rudolfová 2003
Trichobilharzia filiformis		*Anseriformes*	dospělec	Rudolfová 2003
Trichobilharzia sp.	*Stagnicola palustris, Planorbarius corneus, Anisus vortex, Anisus leucostomus, Gyraulus albus*		cerkárie	Našincová 1992, Kolářová a kol. 1997
Trichobilharzia szidati *	*Lymnaea stagnalis*	*Anseriformes*	cerkárie	Kolářová 1997, Rudolfová 2003

* Dříve uváděný druh *Trichobilharzia ocellata* byl na základě molekulární analýzy ztotožněn s *Trichobilharzia szidati* (Rudolfová a kol. 2005).

2. 2. Ptačí schistosomy a jejich mezihostitelé

Ptačí schistosomy jsou úzce specifické ke svému mezihostiteli, jímž je vždy plž. V ČR byly nalezeny cerkárie schistosom pouze v plžích čeledi *Lymnaeidae*, *Planorbidae* a

Physidae (podtřída Pulmonata, řád Basommatophora). Přehled mezihostitelů je uveden v Tab. 3.

Zástupci čeledi *Planorbidae* mají terčovitou pravotočivou ulitu vinutou v jedné rovině, jejíž kotouč je vpadlý. U plochých druhů se závity často vzájemně překrývají. Hlava a noha živočicha jsou poměrně malé, tykadla dlouhá a nitkovitá. Krevním barvivem je, na rozdíl od jiných čeledí, hemoglobin.

Lymnaeidní plži mají širokou nohu a hlavu s širokými přiústními makadly a krátkými plochými tykadly trojúhelníkovitého tvaru. Krevním barvivem je hemocyanin (Ložek 1956).

Tab. 3. Přehled mezihostitelů ptačích schistosom

čeleď	**druh**	**parazit**	**autor**
Planorbidae	*Planorbarius corneus*	*Bilharziella polonica*	1, 2, 3
Planorbidae	*Anisus vortex, Gyraulus albus, Segmentina nitida*	*Gigantobilharzia* sp.	6
Planorbidae	*Planorbarius corneus, Anisus vortex, Anisus leucostomus, Gyraulus albus*	*Trichobilharzia* sp.	3, 4
Lymnaeidae	*Radix auricularia*	*Trichobilharzia franki*	4
Lymnaeidae	*Radix ovata, Radix peregra*	*Trichobilharzia regenti*	5, 6
Lymnaeidae	*Lymnaea stagnalis*	*Trichobilharzia szidati*	4
Lymnaeidae	*Stagnicola palustris*	*Trichobilharzia* sp.	3, 4
Physidae	*Physa fontinalis*, *Physella* sp.	*Gigantobilharzia* sp.	6

Vysvětlivky : **1** = Žďárská (1963), **2** = Gelnar (1980), **3** = Našincová (1992), **4** = Kolářová a kol. (1997), **5** = Dvořák (2000), **6** = Rudolfová (2003)

Pozn. *Trichobilharzia* sp. nebyla dále determinována. Nálezy v planorbidních plžích patří pravděpodobně do rodu *Gigantobilharzia* (Rudolfová 2003).

2. 3. Charakteristika rodu *Trichobilharzia* sp.

Do rodu *Trichobilharzia* Skrjabin et Zacharov, 1920 patří asi 40 druhů (Horák a kol. 2002). V České republice jsou dokumentovány 4 druhy – *T. franki*, *T. regenti*, *T. szidati* a *T. filiformis* (nalezen pouze dospělec u *Cygnus olor*) (Rudolfová 2003). Dříve hojně uváděný druh *T. ocellata* (evropský izolát) byl synonymizován s *T. szidati* (Rudolfová a kol. 2005).

Podle lokalizace v těle definitivního hostitele se schistosomy rozdělují na nazální a viscerální. Nazální druhy jsou frekventovaní parazité ptáků střední Evropy, ale při pitvách

unikají často pozornosti kvůli malé velikosti těla a nenápadnému zbarvení, které znesnadňuje jejich nalezení v nazální sliznici (Rudolfová a kol. 2002). U hostitelů způsobují hemorhagie a záněty v nosní sliznici, poruchy rovnováhy, při silné infekci i parézy dolních končetin (hlavní migrační cesta do nosní dutiny vede přes míchu a mozek) (Horák a kol. 1998, 1999). Do této skupiny patří *T. regenti*.

Mezi viscerální druhy patří *T. franki* vyskytující se v jaterních a mezenteriálních cévách (nikdy se nevyskytuje přímo v oblasti střevní sliznice) a *T. szidati*, která žije přímo v oblasti střevní tkáně a jen výjimečně v mezenteriálních cévách (Neuhaus 1952).

Životní cyklus trichobilharzií je dvouhostitelský. Definitivním hostitelem, ve kterém parazit dokončuje svůj vývoj, jsou vodní ptáci, často z řádu Anseriformes. Nově byl rod *Trichobilharzia* sp. nalezen též u *Motacilla alba* z řádu Passeriformes (Rudolfová a kol. 2006). Trichobilharzie, stejně jako ostatní schistosomy, mají úzkou mezihostitelskou specifitu (McLeod a Little 1942, Wu 1953 – cit. dle Rudolfová 2003). Jako mezihostitelé slouží pulmonátní plži z čeledi *Lymnaeidae – Lymnaea stagnalis* pro *T. szidati*, *Radix auricularia* pro *T. franki*, *Radix peregra* a *Radix ovata* pro *T. regenti.* Starší nálezy schistosom (Našincová 1992) z plžů čeledi *Planorbidae* (rod *Anisus*, *Gyraulus*) patří zřejmě do rodu *Gigantobilharzia* (Rudolfová 2003).

Stadia životního cyklu :

- Vajíčko: variabilní tvar – buď protáhlý, zakřivený se dvěma zašpičatělými, různě dlouhými konci (kratší s háčkem) např. *T*. *szidati* nebo vejčitý např. *T*. *filiformis* (Horák a kol. 2002)
- Miracidium: líhne se z vajíčka buď ve vodě (*Trichobilharzia franki*, *Trichobilharzia szidati*) nebo již ve tkáni definitivního hostitele (*Trichobilharzia regenti*). Tvar pyriformní, povrch opatřen ciliemi, které umožňují aktivní pohyb a vyhledání mezihostitele.V přední části těla je lokalizováno terebratorium s vývody penetračních žláz (slouží k proniknutí do hostitele).
- Mateřská sporocysta: protáhlý vakovitý útvar vznikající z miracidia. Je lokalizována v hlavonožní části plže. Zralé mateřské sporocysty produkují dceřinné sporocysty.
- Dceřinná sporocysta: protáhlý tvar, v přední části jsou u *T. ocellata* lokalizovány ostny (Neuhaus 1952). Migruje z hlavové části do hepatopankreatu plže, kde produkuje cerkárie.
- Cerkárie: členěna na tělo a ocásek s furkou. Výraznými strukturami na těle jsou oční skvrny, acetabulum a hlavový orgán s vývody penetračních žláz. Cerkárie opouštějí plže, aktivně vyhledávají a pronikají do definitivního hostitele (pomocí sekretů penetračních žláz).

- Dospělec : podlouhlý tvar, zadní konec špachtlovitě rozšířen. Mají ústní a břišní (acetabulum) přísavku a senzorické papily v přední části těla. Jedinci jsou odděleného pohlaví a živí se krví.

Cerkárie mohou pronikat i do nespecifického savčího hostitele, včetně člověka. Způsobují kožní onemocnění nazývané cerkáriová dermatitida. Poslední výzkumy ukazují (Horák a kol. 1998, 1999, Hrádková a Horák 2002), že cerkárie *T. regenti* jsou schopné změnit se v schistosomulum i v nespecifickém savčím hostiteli a pronikat do jeho nervové soustavy, ale nemůžou zde úspěšně dokončit svůj vývoj.

2. 4. Vztahy mezi *Trichobilharzia* sp. a mezihostitelem

Schistosomy rodu *Trichobilharzia* jsou úzce druhově specifické ke svým mezihostitelům, jimiž jsou plži čeledi *Lymnaeidae*. Pro životní cyklus parazita je nezbytné nalezení správného mezihostitele, penetrace do tkání a překonání imunitních reakcí plže.

2. 4. 1. Nalezení mezihostitele

Dospělci schistosom produkují vajíčka, z nichž se líhnou (díky změně osmotického tlaku a dalších stimulů) ve vnějším prostředí miracidia.

Miracidia mají na povrchu epiteliální destičky opatřené ciliemi, které umožňují rychlý pohyb. Na povrchu je oční skvrna a v přední části miracidia nalezneme terebratorium s vývody penetračních žláz. Miracidia nemají trávicí soustavu a energeticky jsou zcela odkázána na zásoby glykogenu, který štěpí v citrátovém cyklu. Po vyčerpání zásob miracidia hynou. K rychlejšímu nalezení mezihostitele jim slouží také jejich chování – miracidia se po vylíhnutí rozptýlí a plavou lineárně od místa líhnutí, což zvyšuje jednak šanci na nalezení plže a zároveň snižuje riziko silných infekcí u jednotlivých mezihostitelů (Haas 2000 – cit. dle Horák a kol. 2002). K orientaci jim slouží koncentační gradient sloučenin vylučovaných exkrečně – sekrečním systémem plže (secreted/excreted products, SEP) (Horák a kol. 2002). Miracidia jsou přitahována makromolekulárními složkami SEP – glykoproteiny, které se nazývají MAGs (miracidia attracting glycoproteins) (Kalbe a kol. 2000). Poté co miracidia narazí na SEP, mění svou dráhu pohybu směrem k vyšší koncentraci SEP. Pohybují se tedy stále k plži. Po nalezení mezihostitele následuje penetrace do jeho tkání pomocí proteolytických enzymů, jež jsou lokalizovány ve vývodech penetračních žláz na terebratoriu.

MAGs produkty mají u různých druhů plžů podobnou peptidovou kostru, ale rozdílnou sacharidovou část. Parazité si selektivně vybírají plže, kteří jsou vnímaví a zabezpečí jim úspěšný vývoj. K tomu jim slouží právě rozdílná sacharidová složka MAGs např. *T. franki* je schopna vývoje pouze v *R. auricularia* a *R. ovata*, nikoliv v dalších zástupcích čeledi *Lymnaeidae* (Kock 2001).

2. 4. 2. Vývoj parazita v plži

Během penetrace a po ní prochází miracidium transformací v mateřskou sporocystu, což je doprovázeno výraznými morfologickými a fyziologickými změnami. Tyto změny zahrnují odhození epiteliálních ciliátních destiček, expanzi intracelulárních valů a formování syncytiálního tegumentu (neodermis). Ciliátní destičky jsou často napadány vnitřním obranným systémem (internal defence system, IDS) plže, proto je jejich odhození nezbytné pro přežití parazita. Transformační kroky jsou doprovázeny změnou povrchových antigenů (zejména sacharidů), což parazitovi umožní únik před IDS plže. Fyziologické změny zahrnují přeměnu aerobního metabolismu miracidií na fakultativně anaerobní u sporocyst, který jim dovolí přežít v různých částech plže (Tielens a kol. 1991, 1992).

Po transformaci migrují mateřské sporocysty z subepidermální vrstvy do tkání hlavonožní oblasti plže. Zde se jejich germinální buňky mitoticky dělí, diferenciují se tkáně a vzniká další vývojové stádium – dceřinná sporocysta. Mnoho mateřských sporocyst zůstává v místech své původní lokalizace, některé však migrují do ovotestis a žláz trávicího systému (hepatopankreas). Tyto oblasti jsou následně obsazovány dceřinnými sporocystami. Některé mateřské sporocysty degenerují, jiné zůstávají nadále schopné produkovat dceřinné sporocysty. Z germinálních buněk dceřinných sporocyst se vyvíjejí cerkárie, které po opuštění sporocysty migrují přes „krevní cévy“ do oblasti plicního vaku a penetrují přes tělní stěnu plže ven (Horák a kol. 2002).

Vývoj v plži je závislý na teplotě. S rostoucí teplotou klesá délka prepatentní periody (doba od proniknutí miracidia do produkce cerkárií plžem) a vývoj parazita je rychlejší (Sluiters 1981, Zbikowska 2005). Nakažení plži se pravděpodobně pohybují v chladnější vodě, čímž snižují rychlost vývoje parazita, pohyblivost a množství cerkárií, a tím i stupeň poškození epitelií při pronikání cerkárií do vnějšího prostředí (Zbikowska 2005).

2. 4. 3. Vnitřní obranný systém (IDS) plžů

Pouze někteří plži jsou vhodnými mezihostiteli pro schistosomy. Prevalence infekcí v populacích plžů jsou nízké (Kolářová a kol. 1997). Adaptace plžů a geneticky podmíněná rezistence výrazně snižuje vnímavost plže jako mezihostitele (Grassi a kol. 2001).

Interakce ptačích schistosom a IDS plže jsou studovány zejména na modelu *T. ocellata* a *L. stagnalis* (Horák a Kolářová 2005). IDS se skládá z buněčné a humorální složky. Hlavní roli v rozpoznávání patogena hrají lektiny, buď v rozpustné formě nebo asociované s membránou obranných buněk (Horák a van der Knaap 1997).

Plži mají jen imunitu vrozenou. IDS obsahuje několik typů buněk, z nichž nejdůležitější jsou hemocyty. Tyto buňky se volně pohybují v hemolymfě, jsou schopné fagocytózy a vstupu do pojivových tkání (Adema a van der Knaap 1991 – cit. dle Horák a Kolářová 2005). Patogeny velikosti schistosomní larvy jsou tyto buňky schopné enkapsulovat

a zničit pomocí lyzozomálních enzymů, radikálů kyslíku (Hahn a kol. 2001 a) nebo oxidy dusíku (Hahn a kol. 2001 b). *Trichobilharzia ocellata* je schopná inhibovat některé funkce hemocytů např. fagocytózu, enkapsulaci a likvidaci bakterií (Amen a kol. 1992, Adema a kol. 1994, Nuñez a kol. 1994).

Součástí obranných mechanismů plže jsou dvě molekuly s antagonististickou funkcí produkované granulocyty pojivové tkáně obklopující mozkové ganglium (Horák a Kolářová 2005):

a) MDM (molluscan defence molecule): povzbuzuje fagocytickou funkci hemocytů, jeho množství klesá v pozdějších fázích infekce (Hoek a kol. 1996).

b) Granularin: v době nákazy slouží jako opsonin, čímž aktivuje fagocytickou aktivitu. V průběhu infekce jeho množství roste (Smit a kol. 2004).

Ptačí schistosomy ovlivňují také metabolismus a neuroendokrinní systém mezihostitele. Změny neuroendokrinního systému mohou ovlivnit IDS, protože oba systémy spolupracují na udržení homeostáze. Vývoj cerkárií je doprovázen uvolňováním neznámého parazitárního faktoru, který stimuluje plže k produkci schistosominu (Hordijk a kol. 1991). Schistosomin je antagonistou samičího gonadotropního hormonu kalfluxinu a blokuje vývoj bílkovinné žlázy (Hordijk a kol. 1991). Dále inhibuje aktivitu neuroendokrinních buněk zodpovědných za ovulaci a kladení vajec. Způsobuje tak „parazitární“ kastraci, která je doprovázena gigantickým růstem infikovaného plže (de Jong–Brink a kol. 2001).

T. ocellata způsobuje fyzické poškození mezihostitele, ale délka života nakažených a nenakažených plžů se neliší (Sluiters 1981). Parazit aktivně a výrazně mění vnitřní fyziologii plže – získává tak maximum živin a prostoru. Změny metabolismu zahrnují zvýšení srdeční a dýchací činnosti, změny v hladině proteinů, sacharidů, lipidů a dusičnanů (Thompson 1997). Díky schopnosti využívání zdrojů mezihostitele k vlastnímu prospěchu a snižování jeho fitness k nule jsou ptačí schistosomy vážnými patogeny hostitelských plžů.

2. 5. Problematika determinace rodu *Radix*

Nejednotná taxonomie plžů neumožňuje přesně určit specifitu schistosom k mezihostiteli a vnímavost plže k parazitům. Velký počet jmen pro jednotlivé druhy plžů, jejich synonymizace a používání již zažitých jmen pro geograficky odlišné druhy popsané na základě molekulárních dat (např. *R. peregra*) znesnadňuje orientaci v počtu mezihostitelů parazita.

2. 5. 1. Uvedení do problematiky

Radix sp. patří do čeledi Lymnaeidae. V taxonomii této čeledi a uvedeného rodu panuje velký zmatek. Na základě morfologie ulit, která je velmi variabilní a závislá na

podmínkách prostředí, v němž plž žije, bylo popsáno velké množství druhů. Později se prokázalo, že se jedná o synonymní pojmenování *R. peregra*. Ještě větší nejasnosti do taxonomického postavení jednotlivých druhů vnesla molekulární taxonomie (Bargues a kol. 2001). Systém není jednotný a nelze rozhodnout, který je správnější.

Jediný druh, jehož platnost uznávají všechny práce (Ložek 1956, Buchar a kol. 1995, Bargues a kol. 1997, Jackiewicz 2000, Bargues a kol. 2001, Beran 2002, Glöer 2002, Remigio 2002, Glöer a Zettler 2005) je *R. auricularia*. Taxonomické postavení ostatních druhů se u jednotlivých autorů liší.

Různé pojetí platnosti jednotlivých druhů:

a) Validními druhy jsou *R. auricularia* a *R. peregra*. Ostatní tzv. druhy jsou jen poddruhy *R. peregra* lišící se tvarem ulity (závisí na podmínkách vnějšího prostředí) a mohou být velmi variabilní. Patří sem *R. peregra ampla*, *R. peregra peregra*, *R. peregra ovata*, *R. peregra lagotis* (Ložek 1956, Beran – ústní sdělení).
b) Validními druhy jsou *R. auricularia*, *R. peregra*, *R. ovata* (Buchar a kol. 1995, Jackiewicz 2000, Remigio 2002), *R. ampla* (Buchar a kol. 1995, Glöer 2002)
c) Tzv. *R. peregra* vyskytující se v severní a střední Evropě je přejmenován na *R. labiata* (s ním synonymizovány i názvy *R. alpicola* a *R. excerpta*). Druhu *R. ovata* žijící v severní a střední Evropě byl dán název *R. balthica*. Název *R. peregra* je nadále používán pro druh vyskytující se v západní a jižní Evropě a na Islandu (Glöer 2002, Glöer a Zettler 2005). Další validní druhy pro střední Evropu jsou *R. auricularia*, *R. ampla*, *R. lagotis*.
d) *R. peregra* je ztotožněn s *R. ovata* a *R. balthica* vyskytující se v západní Evropě do 2000 m. n .m. (pro tento druh se používá jméno *R. peregra*). Ve střední Evropě se vyskytuje *R. labiata* (synonymum pro dřívější pojmenování *R. peregra*). Validními druhy střední Evropy jsou také *R. auricularia*, *R. ampla* a *R. lagotis* (Bargues a kol. 2001).

2. 5. 2. Determinace na základě morfologie ulit

Jako rozlišovací znaky slouží zejména celkový tvar ulity, tvar ústí a poměr výšky ulity a ústí. Tyto znaky podléhají velkému vlivu prostředí (Ložek 1956, Beran 1998, Wullscheger, Jokela 2002) a mění se během ontogeneze plže (Ložek 1956). Z těchto důvodů je potřeba mít pro správnou determinaci větší počet jedinců z jedné lokality. Zatímco údaje o tvaru ulity a ústí se v literatuře vyskytují běžně (Ložek 1956, Buchar a kol. 1995, Jackiewicz 2000, Glöer 2002), informace o poměru výšky ulity a ústí se vyskytují zřídka a jsou neúplné (Jackiewicz 2000, Glöer 2002). Jediným zdrojem, který uvádí poměry u všech zástupců je Ložek 1956. Proto se v následujícím textu budu držet nomenklatury tohoto autora.

a) *R. auricularia*: ústí široce opačně uchovité, horní okraj tvoří od svého nasazení jen slabě nahoru vyklenutý oblouk (často probíhá téměř vodorovně). Výška ústí obvykle trochu menší než výška ulity.
b) *R. peregra ampla*: ústí široce opačně uchovité se zaoblenými obrysy, horní vnější okraj tvoří od svého nasazení výrazně nahoru vyklenutý oblouk, jehož nejvyšší bod leží často výše než vrchol kotouče ulity. Výška ústí je nepatrně menší nebo totožná a výškou ulity.
c) *R. peregra peregra*: ústí úzce vejčité, nahoru zúžené.Vnější okraj vybíhá od svého nasazení trochu do strany, pak se náhle lomí prudce dolů. Výška ústí zabírá 30 – 40% výšky ulity (pozn. Glöer (2002) udává přes 60% výšky ulity).
d) *R. peregra ovata*: ústí vejčité, vnější okraj se hned od svého nasazení stáčí mírně klenutým obloukem prudce dolů. Výška ústí neklesá pod 70% výšky ulity, běžně přesahuje 75%
e) *Radix peregra lagotis*: ústí vejčité, vnější okraj běží nejprve od svého nasazení téměř vodorovně a poté se klenutým obloukem stáčí pravidelně dolů. Výška ústí nepatrně přesahuje 60% výšky ulity.

2 .5. 3. Determinace na základě rozdílnosti pohlavní soustavy

Plži rodu *Radix* jsou hermafrodité. Pro determinaci jsou nejdůležitějšími částmi pohlavní soustavy kopulační bursa, stopka kopulační bursy, vagina, prostata, odvodné kanálky (vas deferens), falotéka a praeputium. Druhy *R. auricularia*, *R. balthica* a *R. labiata* se od sebe liší délkou stopky kopulační bursy a poměrem délky praeputia a falotéky (Glöer 2002) (viz Obr. 1). Determinační znaky pro ostatní druhy nejsou známé.

Znaky jednotlivých druhů :

Radix auricularia – poměr praeputium : falotéka 1 : 1, stopka kopulační bursy dlouhá

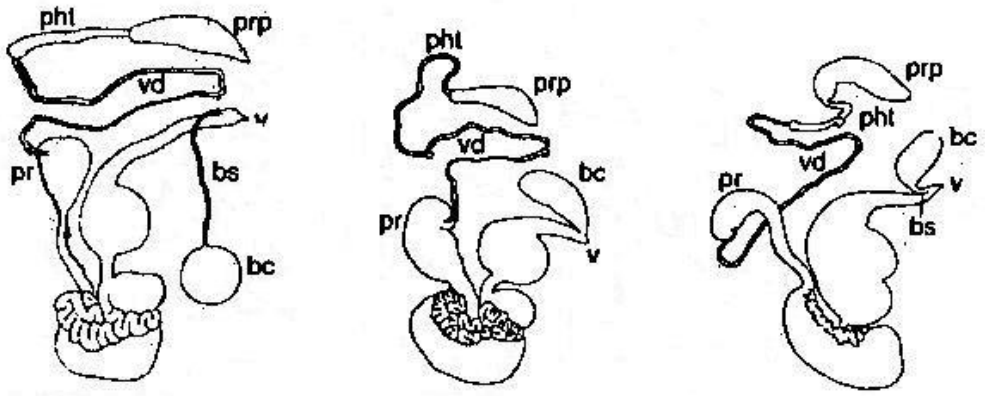
Radix labiata – poměr praeputium : falotéka 2 : 1, stopka kopulační bursy velmi krátká

Radix balthica – poměr praeputium : falotéka 1 : 1, stopka kopulační bursy chybí

Vzhledem k obtížnosti nalezení těchto znaků je používají jen někteří autoři (Jackiewicz 2000, Glöer 2002, Beran – ústní sdělení).

Obr. 1 Anatomie pohlavní soustavy plžů

Radix auricularia *Radix balthica* *Radix labiata*



Popis obrázku : bc = kopulační bursa, bs = stopka kopulační bursy, pht = falotéka, pr = prostata, prp = praeputium, vd = odvodné kanálky (vas deferens), v = vagina (Glöer 2002)

2. 5. 4. Determinace podle karyotypu a na základě molekulární analýzy

R. labiata a *R. balthica* se liší počtem subtelomerických chromozómů, který je jeden pro *R. labiata* resp. pět pro *R. balthica* (Garbar a Korniushin 2003).

Fylogenetická analýza se provádí sekvenací genu pro malou ribozomální podjednotku (Bargues a kol. 1997), malou podjednotku mitochondriálního ribozomu (Remigio 2002) a ITS2 oblasti (Bargues a kol. 2001).Nejvíce nových poznatků pro taxonomii plžů rodu *Radix* přináší analýza ITS2 oblasti.

Bargues a kol. (2001) provedli sekvenaci ITS2 oblasti u 66 populací jednoho severoamerického a 13 evropských tzv. druhů plžů čeledi Lymnaeidae. Délka ITS2 narůstá během evoluce čeledi, a proto byly za fylogeneticky nejstarší označeny *Radix sp*. a *Galba* sp. (370 – 406 párů bází), za nejmladší *Lymnaea* sp., evropské druhy rodu *Stagnicola* sp. a *Omphiscola* sp. (468 – 491 párů bází), což odpovídá i paleontologickému pohledu na fylogenezi skupiny. Analýza rozlišila dvě větve lymnaeidních plžů, kteří se vyskytují v Evropě:

a) *Lymnaea* sp. – *Stagnicola* sp. – *Omphiscola* sp.
b) *Radix* sp. – *Galba truncatula*: *Galba truncatula* je pravděpodobně bazální skupinou k rodu *Radix*. Bylo rozlišeno pět druhů rodu *Radix* – *R. auricularia* (dobře odlišitelná od ostatních radixů, byly nalezeny odlišnosti i mezi jednotlivými populacemi plže), *R. ampla* (potvrzena validita druhu), *R. peregra* (= *R. ovata*, *R. balthica*), *R. labiata*, *R. lagotis*. Na území ČR se vyskytují *R. auricularia*, *R. labiata* a *R. lagotis*. *R. peregra* je rozšířen v západní Evropě (Francie, Holandsko, Španělsko) a na Islandu do 2000 m. n. m.

Fylogenetické stromy byly sestaveny na základě sekvenace malého množství plžů (Horák – ústní sdělení), a proto nelze s jistotou říci, které druhy plžů se skutečně vyskytují na území ČR.

2. 5. 5. Popis plžů rodu *Radix*

Jednotlivé struktury ulity používané při popisu plžů jsou znázorněné na Obr. 2. Protože na systém plžů rodu *Radix* existují různé názory (viz kap. 2. 5. 1.), bude se autorka držet systému Ložka (1956) (pozn. Autor považuje rod *Radix* za podrod rodu *Lymnaea*. Tento názor již není platný. Proto jsou následující plži uvedeny pod rodem *Radix*.). Přestože dílo není nejnovější, morfologie ulit se nemění. Tvar ústí již v popisu uveden není, dostatečně byl zmíněn v kapitole 2. 5. 2.

Radix auricularia (Linné, 1758)

Ulita: Uchovitě nadmutá s malým špičatým kotoučem s konkávními obrysnicemi, většinou přesahuje oblouk vnějšího okraje ústí. Tenkostěnná, křehká, průsvitná, lesklá, jemně nepravidelně rýhovaná. Barva světle rohová. Závitů 3,5 – první dva slabě klenuté tvoří špičku kotouče, poslední závit převládá a tvoří velkou část ulity. Výška 25–31 mm, šířka 23–28mm.

Píštěl: téměř zakrytá

Cívka: vinutá, v ústí vytvořen nápadný cívkový záhyb, strofostylní

Ekologie: stojaté, zarostlé nebo mírně tekoucí vody

Radix peregra ampla (Hartmann, 1841)

Ulita: Uchovitě nadmutá s velmi nízkým kupovitým kotoučem s konvexními obrysnicemi, často nepřesahuje oblouk vnějšího okraje ústí. Silnější a pevnější než u *R .auricularia***,** průsvitná, lesklá, jemně nepravidelně rýhovaná. Barva světle rohová. Závitů 3–3,5, poslední vzrůstá velmi rychle. Výška 20–25 mm, šířka 19-25mm.

Píštěl: úzká, otevřená nebo nedokonale zakrytá

Cívka: cívkový úsek bez záhybu, orthostylní

Ekologie: tekoucí vody, hlavně větší řeky, řidčeji i potoky

*Radix peregra per*egra (Müller, 1774)

Ulita: Špičatě vejčitá, špičatě kuželovitý kotouč s téměř rovnými obrysnicemi, poměrně silnostěnná, ale křehká, slabě průsvitná, matně lesklá, nepravidelně jemně rýhovaná až žebírkatá. Barva světle rohově hnědá. Závitů 4–5, mírně klenuté, všechny rostou rychle a pravidelně, poslední nepravidelně klenutý a stlačený ze stran. Výška i šířka ulity značně kolísají.

Píštěl: úzká, není zakrytá

Cívka: rovná, nevytváří záhyb

Ekologie: potoky, prameny, tůňky, periodické tůně

Radix peregra lagotis (Schrank, 1803)

Ulita: Vejčitá se špičatě kuželovitým kotoučem, jehož první tři závity mají obrysnice rovné nebo nepatrně konkávní, celkové obrysnice jsou vždy konkávní, tenkostěnná, křehká, mírně průsvitná, slabě lesklá, velmi jemně nepravidelně rýhovaná. Barva světle rohová. Závitů 4–5, všechny dobře pravidelně klenuté s hlubokým švem, poslední dosti nadmutý. Výška 15–17 mm, šířka 10–11 mm.

Píštěl: úzká, není zakrytá

Cívka: cívkový úsek zřetelně odsazen od patra, buď rovný nebo má náznak záhybu

Ekologie: luční příkopy, tůně, stará říční ramena, nádrže, potoky a velké prameny

Radix peregra ovata (Draparnaud, 1805)

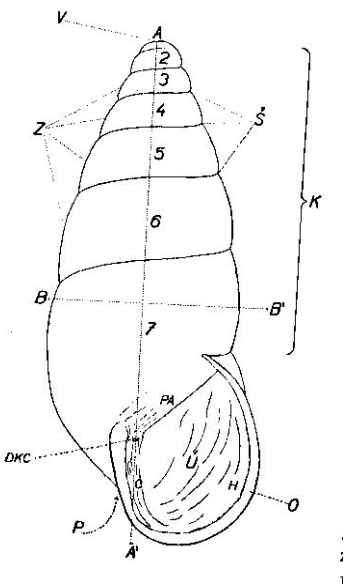
Ulita: Vejčitá se stlačeně kuželovitým kotoučem, tři závity mají rovné obrysnice, tenkostěnná, křehká, slabě průsvitná, mírně lesklá, jemně až silněji nepravidelně rýhovaná.barva žlutá až narudle rohová. Závitů 4–4,5, mírně pravidelně klenutých, poslední převládá, ale není vytažený do stran. Výška 17-26 mm, šířka 11–18 mm.

Píštěl: nedokonale zakrytá

Cívka: často náznak záhybu, cívkový úsek tvoří s patrovým téměř přímku nebo slabý oblouk či velmi tupý úhel

Ekologie: zarostlé stojaté vody, hlavně tůně, ramena řek a bažiny

Obr. 2. Popis morfologie ulity plže



Popis obrázku: K = kotouč, Ú = ústí, V = vrchol, P = píštěl, Z (2, 3, 4, 5, 6, 7) = závity, Š = šev, DKC = dolní konec cívky, O = obústí, Pa = patro, C = cívka, A-A´= výška ulity, B-B´= šířka ulity (ložek 1956)

2. 5. 6. Shrnutí

Z výše uvedeného vyplývá, že taxonomie plžů čeledi *Lymnaeidae* a zejména rodu *Radix* je velmi nejednotná a problematická. Vedle sebe existují čtyři rozdílné pohledy na systém. K jejich sjednocení by byly potřeba nové molekulární analýzy doplněné podrobnými morfologickými a ekologickými studiemi.

3. PRAKTICKÁ ČÁST

3. 1. Úvod

Plži čeledi *Lymnaeidae* slouží jako mezihostitelé motolic rodu *Trichobilharzia.* Nejdůležitějšími mezihostiteli v ČR jsou *Lymnaea stagnalis*, *Radix peregra*, *Radix ovata*, *Radix auricularia*. Dle morfologie ulity lze *L. stagnalis*, stejně jako dospělé *R. auricularia*, dobře rozlišit. Problematika determinace a validity taxonů *R. peregra* a *R. ovata* je velmi stará. V dnešní době existuje několik systémů členění rodu *Radix* (viz kapitola 2. 5.). Problémem při determinaci je obrovská variabilita ulit, která může být dána vnějšími podmínkami. Přesto se ve své práci se pokusím rozlišit *R. peregra* a *R. ovata* na základě morfologie ulity.

3. 2. Metodika

Plži byli sbíráni ve volné přírodě ve spolupráci s RNDr. Faltýnkovou (Parazitologický ústav AV ČR, České Budějovice) a RNDr. Beranem (Správa CHKO Kokořínsko, Mělník). Naleziště jsou uvedena v Tab. 4. Po přinesení do laboratoře byli plži standardně vyšetřeni na přítomnost motolic - plži se dají jednotlivě do kádinek s vodou, po několikahodinovém osvícení lampou cerkárie (pokud jsou přítomny) opouštějí plže. Cerkárie byly určovány pod binokulární lupou.

Pro morfometrické měření byli vybráni jedinci, které bylo možno určit za pomoci literatury do druhu. Ostatní byli z pokusu vyřazeni. Živí plži nebo jejich ulity byli změřeni posuvným měřidlem. Zjišťovala se délka ulity, délka ústí, šířka ulity a šířka ústí. U plžů, jejichž délka ulity nepřesáhla délku 10 mm, nebyla měřena šířka ulity a ústí. Hlavní důvodem pro toto rozhodnutí byla skutečnost, že rozměry a tvar ústí se v průběhu vývoje plže mění a získaná data by nebyla validní. Pro další statistické zpracování byly použity jen poměry délek (byly získány vydělením délky ulity délkou ústí), protože množství naměřených dat o šířce nebylo dostatečné. Ke zpracování byl použit statistický program NCSS (Number Cruncher Statistical System).

Tab. 4 Počet a naleziště jednotlivých izolátů plžů

Naleziště	**Izolát**	**Počet jedinců**	**Typy vodních ploch**
Příbram	*Radix ovata*	15	stojatá
Dobrohošť (SR)	*Radix ovata*	4	stojatá
Vojka (SR)	*Radix ovata*	2	stojatá
Bodíky (SR)	*Radix ovata*	6	stojatá

Velký Dunaj (SR)	*Radix ovata*	2	stojatá voda
Boťky (SR)	*Radix ovata*	10	mírně tekoucí
Prager	*Radix ovata*	16	mírně tekoucí
Litovelské Pomoraví	*Radix peregra*	10	stojatá
Kokořínsko	*Radix peregra*	13	mírně tekoucí

3. 3. Výsledky

Celkem bylo vyšetřeno a změřeno 78 kusů plžů. V několika případech byly nalezeny echinostomní cerkárie a xifidiocerkárie. Cerkárie trichobilharzií nalezeny nebyly. V Tab. 5 jsou shrnuté průměry podílů délek ulity a ústí (D/DÚ) a směrodatné odchylky od podílu poměru (SD).

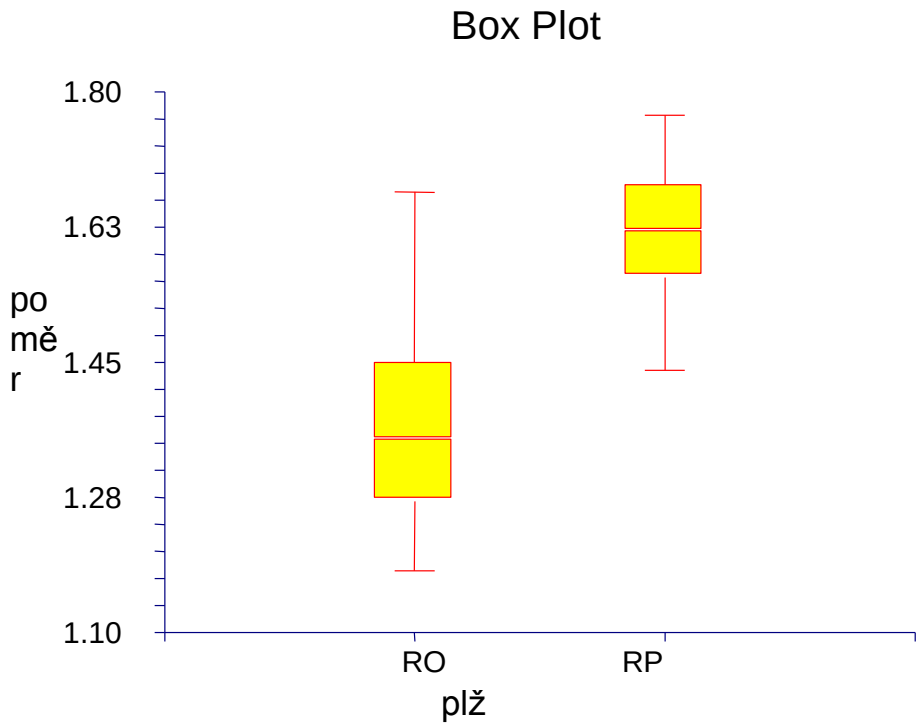
Tab. 5 Průměrné podíly délek ulit a ústí plžů z jednotlivých lokalit

lokalita	průměr D/DÚ	SD D/DÚ
Příbram	1,34	0,11
Dobrohošť	1,30	0,08
Vojka	1,37	0,03
Bodíky	1,40	0,04
Velký Dunaj	1,30	0,03
Boťky	1,29	0,08
Prager	1,44	0,11
Lit. Pomoraví	1,61	0,09
Kokořínsko	1,63	0,08

Vysvětlivky k tabulce : D/DÚ = podíl délky ulity (D) a délky ústí (DÚ)
SD = směrodatná odchylka od průměrů podílu délek

Pro statistické zpracování mezidruhové variability byly použity hodnoty poměrů D/DÚ. Data byla zpracována pomocí nepárového T-testu v programu NCSS.

Obr. 3 Box – plot podílu D/DÚ



Popis obrázku: RO = *Radix ovata*, RP = *Radix peregra*

Z Obr. 3 vyplývá, že T–test prokázal nutnost zamítnutí nulové hypotézy (D/DÚ *R. peregra* se rovná D/DÚ *R. ovata*) na 5% hladině pravděpodobnosti. Průměrná hodnota podílu D/DÚ u *R. peregra* je 1,62 (= 61,7%) (směrodatná odchylka 0,08), u *R. ovata* 1,36 (= 73,5%) (směrodatná odchylka 0,11). Ústí *R. peregra* tedy zabírá z celkové délky ulity průměrně menší část než u *Radix ovata*.

3. 4. Diskuze

Podíl délky ulit a délky ústí byl měřen u 78 plžů. U *R. peregra* zabírala délka ústí 61,7%, u *R. ovata* 73,5% délky ulity.

Údaje o podílech délky ulity k délce ústí nejsou v literatuře hojné. Ložek (1956) uvádí, že délka ústí u *R. ovata* (pozn.: Autor nepovažuje *R. ovata* a *R. peregra* za samostatné druhy, ale za podruhy *R. peregra*.) neklesá pod 70% délky ulity a běžně překračuje 75%. Stejná čísla uvádí ve své publikaci i Jackiewicz (2000).

Srovnávané hodnoty zjištěného podílu délky ulity a ústí u *R. peregra* jsou problematické. Údaje v literatuře nejsou jednoznačné. Ložek (1956) uvádí, že délka ústí zabírá 30 – 40% délky ulity, Jackiewicz (2000) 50% a Glöer (2002) mírně přes 60%. Hodnotu 60% uvádí Ložek (1956) jen pro *Radix peregra lagotis*, který se liší tloušťkou ulity a nasednutím vnějšího okraje ústí (viz kap. 2. 5. 2.) od mnou měřených exemplářů. Glöer

(2002) hodnotu poměru ani podrobnou morfologii ulity *R. lagotis* neuvádí. Přestože *R. lagotis* se na území ČR vyskytuje (Bargues a kol. 2001, Glöer 2002), v mém vzorku pravděpodobně nebyl.

Zjištěný podíl pro *R. ovata*, odpovídá hodnotám, které jsou uvedené v literatuře. Podíl pro *R. peregra*, stejně jako celková morfologie ulity, se shodují s údaji Glöera (2002). Odlišné výsledky uváděné Ložkem (1956) a Jackiewicz (2000) jsou možná dány odlišným pohledem na systematiku rodu *Radix* nebo variabilitou mezi jednotlivými populacemi plžů.

3. 5. Závěr

Měřením byly prokázány rozdíly v podílu D/DÚ u *R. peregra* a *R. ovata*. Průměrný podíl délek je u *R. peregra* je 1,62 (= 61,7%) (směrodatná odchylka 0,08); u *R. ovata* 1,36 (= 73,5%) (směrodatná odchylka 0,11).

Naměřené hodnoty se pro *R. ovata* shodují s údaji uvedenými v literatuře. Složitější je situace pro *R. peregra*, kde zjištěná data odpovídají jen údajům uvedeným v díle Glöera (2002). Možný výskyt *R. lagotis* ve vzorku měřených plžů je, na základě popisu morfologie ulity v literatuře (Ložek 1956), nepravděpodobný.

Na základě morfometrického měření lze od sebe *R. ovata* a *R. peregra* rozeznat.

4. ZÁVĚR BAKALÁŘSKÉ PRÁCE

Jako mezihostitelé ptačích schistosom slouží v ČR plži čeledi *Lymnaeidae*, *Planorbidae* a *Physidae*. Rod *Trichobilharzia* si vybírá lymnaeidní plže rodu *Radix* a *Lymnaea*, ke kterým je druhově specifický – *T. szidati* pro *L. stagnalis*, *T. franki* pro *R. auricularia*, *T. regenti* pro *R. ovata* a *R. peregra*.

Taxonomické postavení druhů rodu *Radix* je problematické. Vedle sebe existují čtyři odlišné systémy. Důvodem pro nejasnosti je velká morfologická variabilita ulit plžů a nové poznatky, které přináší molekulární taxonomie.

Na základě morfometrického měření ulit se mi podařilo rozlišit *R. peregra* a *R. ovata*. Liší se podílem výšky ulity a ústí. U *R. peregra* zabírá ústí 61,7%, u *R. ovata* 73,5%.

Téma bakalářské práce budu rozvíjet ve své diplomové práci. Její náplní bude molekulární taxonomie mezihostitelů ptačích schistosom, především rodu *Radix*, doplněná o podrobná morfologická data. Z parazitologického hlediska se budu zabývat vnímavostí jednotlivých druhů plžů rodu *Radix* k *T. regenti*. Práce by měla přispět k objasnění problému systematického postavení jednotlivých druhů rodu *Radix* a doplnění poznatků o vztahu trichobilharzie k jejímu bezobratlému mezihostiteli.

5. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

Adema C. M., van Deutekom–Mulder E. C., van der Knaap W. P. W., Sminia T. (1994) Schistosomicidal activities of *Lymnaea stagnalis* hemocytes – the role of oxygen radicals. Parasitology 109, 479-485

Amen R. I., Baggen J. M. C., Bezemer P. D., de Jong–Brink M. (1992) Modulation of the activity of the internal defense system of the pond snail *Lymnaea stagnalis* by the avian schistosome *Trichobilharzia ocellata*. Parasitology 104, 33-40

Bargues M. D., Mas–Coma S. (1997) Phylogenetic analysis of lymnaeid snails based on 18S rDNA sequences. Molecular Biology and Evolution 14, 569-577

Bargues M. D., Vigo M., Horák P., Dvořák J., Patzner R. A., Pointier J. P., Jackiewicz M., Meier–Brook C., Mas–Coma S. (2001) European Lymnaeidae (Mollusca: Gastropoda), intermediate host of trematodiases, based on nuclear ribosomal DNA ITS2 sequences. Infection, Genetics and Evolution 1, 85–107

Bash P. F. (1991) Schistosomes, development, reproduction and host relations. Oxford University Press

Beran L. (2002) Vodní měkkýši ČR – rozšíření a jeho změny, stanoviště, šíření, ohrožení a ochrana, červený seznam. Sborník přírodovědného klubu v Uherském Hradišti, Supplementum 10

Buchar J., Ducháč V., Hůrka K., Lellák J. (1995) Klíč k určování bezobratlých, Scientia

De Jong–Brink M., Bergamin–Sassen M., Soto M.S. (2001) Multiple strategies of schistosomes to meet their requirements in the intermediate snail host. Parasitology 123, 129-141

Dvořák J. (2000) Morfologie, životní cykly a taxonomie vybraných druhů trichobilharzií. Diplomová práce, PřF UK Praha

Farley J. (1971) A reviw of the family Schistosomatidae: excluding the genus *Schistosoma* from mammals. Journal of Helminthology, 280-320

Garbar A. V., Korniushin A. V. (2003) Karyotypes of European species of *Radix* (Gastropoda: Pulmonata: Lymnaeidae) and their relevance to species distinction in the genus. Malacologia 45, 141-148

Gelnar M. (1980) Taxonomie a morfologie vývojových stádií motolic. Diplomová práce, Univerzita J. E. Purkyně Brno

Glöer P. (2002) Die Süsswassergastropoden Nord-und Mitteleuropas. 2. neubearbeitete Auflage, Conchbooks

Glöer P., Zettler M. L. (2005) Kommentierte Artenliste der Süsswassermollusken Deutschlands. Malakologische Abhandlungen 23, 3-26

Grassi L., Jorda M. T., Andrade Z., Cappa S. M. G. (2001) *Schistosoma mansoni* miracidia are killed by defense system of an Argentine strain of *Biomphalaria straminea*. American Journal of Tropical Medicine and Hygiene 65, 290-292

Hahn U. K., Bender R. C., Bayne C. J. (2001) Involvement of nitric oxide in killing of *Schistosoma mansoni* sporocysts by hemocytes from resistant *Biomphalaria glabrata*. Journal of Parasitology 87, 778-785

Hahn U. K., Bendr R. C., Bayne C. J. (2001) Killing of *Schistosoma mansoni* sporocyst by hemocytes from resistant *Biomphalaria glabrata*: Role of reactive oxygen species. Journal of Parasitology 87, 292-299

Hoek R. M., Smit A. B., Frings H., Vink J. M., de Jong–Brink M., Geraerts W. P. M. (1996) A new Ig–superfamily member, molluscan defence molecule (MDM) from *Lymnaea stagnalis*, is down–regulated during parasitosis. European Journal of Immunology 26, 939-944

Horák P., Kolářová L. (2005) Molluscan and vertebrate immune responses to bird schistosomes. Parasite Immunology 27, 247-255

Horák P., Kolářová L., Adema C. M. (2002) Biology of the schistosome genus *Trichobilharzia*. Advances in Parasitology 52, 155–233

Horák P., Dvořák J., Kolářová L., Trefil L. (1999) *Trichobilharzia regenti*, a pathogen of the avian and mammalian central nervous systems, Parasitology 119, 577-581

Horák P., Kolářová L., Dvořák J. (1998) *Trichobilharzia regenti* n. sp. (Schistosomatidae, Bilharziellinae), a new nasal schistosome from Europe. Parasite 5, 349–357

Horák P., van der Knaap W. P. W. (1997) Lectins in snail – trematode immune interactions: a review. Folia Parasitologica 44, 161-172

Hordijk P. L., Schallig H. D. F. H., Ebberink R. H. M., de Jong–Brink M., Joosse J. (1991) Primary structure and origin of schistosomin, an anti–gonadotropic neuropeptide of the pond snail *Lymnaea stagnalis*. Biochemical Journal 279, 837-842

Hrádková K., Horák P. (2002) Neurotropic behaviour of *Trichobilharzia regenti* in ducks and mice. Journal of Helminthology 76, 137-142

Jackiewicz M. (2000) Blotniarki Europy (Gastropoda: Pulmonata: Lymnaeidae), Wydawnictwo Kontekst, Poznań

Kalbe M., Haberl B., Haas W. (2002) Snail host finding by *Fasciola hepatica* and *Trichobilharzia ocellata*: compound analysis of „miracidia–attracting glycoproteins“. Experimental Parasitology 96, 231-242

Khalil L. F. (2002) Family Schistosomatidae Stiles and Hass all, 1898. In: *Keys to Trematoda*, (DI Gibson, A Jones & RA Bray eds.), Vol. 1, Wallingford: CAB International

Kian J. L. (1973) Larval trematode antagonism: Principles and possible application as a control method. Experimental Parasitology 33, 343-349

Kock S. (2001) Investigations of intermediate host specifity help to elucide the taxonomic status of *Trichobilharzia ocellata* (Digenea : Schistosomatidae). Parasitology 123, 67-70

Kolářová L., Horák P., Sitko J. (1997) Cercarial dermatitis in focus: schistosomes in the Czech Republic. Helminthologia 34, 127–139

Kolářová L., Rudolfová J., Hampl V., Skirnisson K. (2006) *Allobilharzia visceralis* gen. nov. (Schistosomatidae – Trematoda) from *Cygnus cygnus* (L.) (Anatidae). Parasitology International (in press)

Ložek V. (1956) Klíč československých měkkýšů. Vydavateľstvo Slovenskej akadémie vied, Bratislava

Našincová V. (1992) Vývojová stádia motolic v našich vodních plžích a vývojové cykly vybraných druhů čeledi Omphalometridae a Echinostomatidae. Kandidátská dizertační práce, Parazitologický ústav ČSAV České Budějovice

Neuhaus W. (1952) Der Einfluss des Zwischenwirtes auf die Gestalt der Cercarriae von *Trichobilharzia szidati* Neuhaus 1951 und ihre systematische Kennzeichnung. Zoologicher Anzeiger 148, 275–285

Núñez P. E., Adema C. M., de Jong–Brink M. (1994) Modulation of the bacterial clearance activity of hemocytes from fresh–water mollusc, *Lymnaea stagnalis*, by the avian schistosome, *Trichobilharzia ocellata*. Parasitology 109, 299-310

Remigio E. A. (2002) Molecular phylogenetic relationships in the aquatic snail genus *Lymnaea*, the intermediate host of the causative agant of fascioliasis: insights from broader taxon sampling. Parasitology Research 88, 687 - 696

Rudolfová J. (2003) Nové nálezy ptačích schistosom a fylogenetická analýza vybraných druhů. Diplomová práce, PřF UK Praha

Rudolfová J., Hampl V., Bayssade–Dufour C., Lockyer A. E., Littlewood D. T. J., Horák P. (2005) Validity reassessment of *Trichobilharzia* species using *Lymnaea stagnalis* as the intermediate host. Parasitology Research 95, 79-89

Rudolfová J., Sitko J., Horák P. (2002) Nasal schistosomes of wildfowl in the Czech Republic. Parasitology Research 88, 1093-1095

Rudolfová J., Sitko J., Horák P. (2006) Unusual finding of *Trichobilharzia* sp. in *Motacilla alba* in the Czech Republic. Journal of Helminthology 80, 83-85

Sluiters J. F. (1981) Development of *Trichobilharzia ocellata* in *Lymnaea stagnalis* and the effects of infection on the reproductive system of the host. Zeitschrift für Parasitekunde 64, 303-319

Smit A. B., de Jong–Brink M., Li K. W., Sassen M. M. J., Spijker S., van Elk R., Buijs S. P., van Minnen J., van Kesteren R. E. (2004) Granularin, a novel molluscan opsonin comprising a single vWF type C domain is up–regulated during parasitation. FASEB Journal 18, 845-847

Sousa W. P. (1992) Interspecific interactions among larval trematode parasites of freshwater and marine snails. American Zoology 32, 583- 592

Thompson S. N. (1997) Physiology and biochemistry of snail – larval trematode relationships. In: Advances in Trematode Biology (B. Fried and T. K. Graezyk, eds), Boca Raton : CRC Press

Tielens A. G. M., Horemans A. M. C., Dunnewijk R., van der Meer P., van der Bergh S. G. (1992) The facultative anaerobic energy metabolism of *Schistosoma mansoni* sporocyst. Molecular and Biochemical Parasitology 56, 49-58

Tielens A. G. M., van de Pas F. A. M., van der Heurel J. M., van der Bergh S. G. (1991) The aerobic energy metabolism of *Schistosoma mansoni* miracidia. Molecular and Biochemical Parasitology 46, 181-184

Vojtek J. (1981) Fauna motolic ptáků v ČSSR. Univerzita J. E. Purkyně Brno

Wullschleger E. B., Jokela J. (2002) Morfological plasticity and divergence in life–history traits between two closely related freshwaters snails, *Lymnaea ovata* and *Lymnaea peregra*. Journal of Molluscan. Studies 68, 1-5

Zbikowska E. (2004) Infection of snail with bird schistosomes and threat of swimmers itch in selected Polish lakes. Parasitology Research 92, 30–35

Zbikowska E. (2005) Do larvae of *Trichobilharzia szi*dati and *Echinostoma revolutum* generate behavioral fever in Lymnaea stagnalis individuals? Parasitology Research 97, 68-72

Žďárská Z. (1963) Larvální stadia motolic z vodních plžů na území ČSSR. Československá parazitologie 10, 207-262