

Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Katedra ekologie



Bakalářská práce

Možnosti šíření sladkovodních plžů

Dispersal of freshwater gastropods

Jana Bud'ová

Školitel: RNDr. Martin Černý, PhD.

Praha

květen 2011

Poděkování

Na tomto místě bych chtěla vyjádřit svůj vděk všem, kteří mi tuto práci umožnili dokončit.

Velký dík patří hlavně mému školiteli, RNDr. Martinovi Černému, PhD., za cenné rady a připomínky, mé rodině za to, že mě po celou dobu studií podporovala a měla se mnou trpělivost a v neposlední řadě všem těm, kteří mi pomohli s úpravami textu. Ještě jednou všem moc děkuji.

Abstrakt

Sladkovodní plži (Mollusca: Gastropoda) patří do dvou tradičních taxonomických skupin: předožábří (Prosobranchia) a plicnatí (Pulmonata). Většina těchto plžů je charakteristická nízkou vagilitou, a proto se spoléhají především na pasivní dispersi. Jejich nejčastějšími vektory jsou ptáci a voda. Živočichové mohou plže přenášet jak externě, tak interně. Šíření můžeme sledovat pomocí metod přímých (metody zpětných odchyťů, radiové sledování) a genetických. Pro genetické studie můžeme využít celou řadu markerů, z nichž v současnosti nejpoužívanější jsou mikrosatelity. Z výsledků studií z poslední doby vyplývá, že disperse sladkovodních plžů zřejmě není tak častá a rozšířená, jak se dříve předpokládalo.

Klíčová slova: sladkovodní plži, disperse, vektory disperse, capture - mark - recapture, molekulární markery, populační genetika

Abstract

Freshwater gastropods (Mollusca: Gastropoda) belong to two traditional taxonomic groups: prosobranchs (Prosobranchia) and pulmonates (Pulmonata). Most of these molluscs are characterized by low vagility. Therefore they usually rely on passive dispersal. Their dispersal vectors are mostly birds and water. Animals can transport snails both externally and internally. Direct methods (capture.mark.recapture, radio - tracking) and genetic methods could be used to study dispersal. For genetic studies can be used many type of molecular markers, but the recently most popular are microsatellites. According to recent studies, the dispersal of freshwater gastropods is probably not as frequent and wide - spread as assumed before.

Key words: freshwater snails, dispersal, dispersal vectors, capture - mark - recapture, molecular markers, population genetics

Obsah

1. Úvod a cíle práce	4
2. Charakteristika měkkýšů	5
2.1 Sladkovodní plži (Gastropoda)	5
3. Mechanismy šíření sladkovodních měkkýšů.....	6
3.1 Co je disperse?	6
3.1.2 Význam disperse	7
3.2 Šíření sladkovodních plžů.....	8
3.2.1 Aktivní šíření	9
3.2.2 Vektory pasivního šíření	11
3.2.2.1 Voda.....	11
3.2.2.2 Vítr	12
3.2.2.3 Živočichové	14
3.2.2.4 Člověk.....	18
4. Možnosti sledování šíření měkkýšů	19
4.1 Metody přímého sledování disperse a pohybu.....	19
4.1.1 Metody zpětných odchytů	20
4.1.1.2 Značení plžů.....	20
4.1.2 Radiové sledování	23
4.2 Genetické metody sledování disperse	24
4.2.1 Molekulární markery a jejich použití v určování disperse	27
4.2.2. Genetická struktura populací sladkovodních plžů.....	29
4.2.3 Fylogeografie sladkovodních plžů	31
5. Závěr.....	33
6. Seznam literatury	34

1. Úvod a cíle práce

Máloco zůstávalo tak dlouho zahaleno rouškou tajemství jako disperse sladkovodních organismů. Dlouho zůstávaly poznatky o tomto jevu značně kusé, založené na legendách o „deštích ryb“. Šířením vodních měkkýšů se vědci intenzivně zabývali hlavně v 19. a na začátku 20. století (např. Darwin 1859, Kew 1893). V této době se snažili prozkoumat zejména nejrůznější mechanismy šíření. Poté ale zájem o tuto problematiku opadl a v odborném tisku se objevovaly jen ojedinělá, často náhodná pozorování (Owen 1962, Rosewater 1970).

Sladkovodní bezobratlí jsou pro studium disperse velmi vhodnou skupinou pro řadu výhodných vlastností (Bohonak a Roderick 2001). Sladkovodní habitaty, jako jsou řeky, jezera nebo tůňe, se vyznačují relativně dobře vymezenými hranicemi, což usnadňuje stanovení populací. Sladkovodní bezobratlí se navíc poměrně dobře vzorkují a tvoří velké populace.

V současnosti se výzkum disperse plžů i dalších organismů opět zintenzivňuje, což je velmi důležité. O jejich šíření máme totiž poměrně málo údajů, často jen tradované a experimentálně nepotvrzené. A je to právě „disperse jedinců v prostoru, která spojuje sladkovodní habitaty a disperse genů v čase, která spojuje ekologii s evolucí“ (Bohonak a Jenkins 2003).

Hlavními cíli mé bakalářské práce jsou shrnout hlavní mechanismy disperse u sladkovodních plžů, popsat, jakými způsoby je možné dispersi zkoumat a na základě toho pak zhodnotit dispersní schopnosti této skupiny.

2. Charakteristika měkkýšů

Měkkýši jsou velmi starobylá skupina. Bohaté nálezy patřící této skupině můžeme nalézt již v kambriu, tedy v době zhruba před 500 miliony let. Jsou druhým největším živočišným kmenem po členovcích (Arthropoda). Popsaných druhů měkkýšů je zhruba 50 tisíc současných a 60 tisíc fosilních (Brusca a Brusca 2003). Odhady počtu druhů měkkýšů na Zemi se různí, pohybují se v rozmezí mezi 50 až 200 tisíci (Lydeard et al. 2004).

Kmen se obvykle dělí na 8 skupin na úrovni tříd: Caudofoveata, Solenogastres, Polyplacophora (chroustnatky), Monoplacophora (přilipkovci), Gastropoda (plži), Cephalopoda (hlavonožci), Bivalvia (mlži), Scaphopoda (kelnatky). Fylogenetické vztahy mezi nimi nejsou zcela jasné (viz např. Wilson et al. 2010). Největší druhová bohatost je ve třídách Bivalvia a především Gastropoda. Měkkýši původně vznikli v moři, které obývají všechny třídy, avšak jiné než mořské prostředí osídlily pouze Bivalvia a Gastropoda. Měkkýši se vyskytují prakticky ve všech ekosystémech na Zemi, včetně těch nejextrémnějších jako jsou pouště, polární oblasti (Pugh a Scott 2002) či vývěry „černých kuřáků“ (např. *Crysmallon squamiferum*, Micheli et al. 2002).

2.1 SLADKOVODNÍ PLŽI (GASTROPODA)

Plži jsou největší a nejrozšířenější třídou měkkýšů. Představují důležitou součást sladkovodních ekosystémů. Obývají všechny kontinenty kromě Antarktidy (Pugh a Scott 2002) a nalezneme je v téměř všech typech sladkovodních habitatů.

Dosud je platně popsáno přibližně 4000 druhů sladkovodních plžů (Strong et al. 2008). Plži žijící ve sladkých vodách ovšem nejsou taxonomicky uniformní skupina - osídlili totiž kontinentální vody opakovaně. Představují zhruba 33 až 38 nezávislých linií (Strong et al. 2008). Vnitřní systematika plžů byla na základě nových poznatků revidována. Plži jsou v současnosti členěni na skupiny Vetigastropoda, Neritimorpha, Caenogastropoda a Heterobranchia, kam patří mimo jiné i plicnatí plži (Strong et al. 2008). Přesto se lze ještě často setkat s tradičním dělením sladkovodních plžů na předožábré (Prosobranchia) a plicnaté (Pulmonata). Vztahy mezi jednotlivými skupinami plžů však stále ještě nejsou zcela ujasněné (více např. Grande et al. 2008).

Plži se vyznačují jednochlopňovou, vápenatou schránkou – ulitou. Převážně se živí jako spásací („grazers“) bakteriálních a řasových nárostů, ale mohou požírat i vodní rostliny, detrit a odumřelé živočichy. Některé skupiny, např. Glacidorbidae, jsou dokonce predátoři (Strong et al. 2008). Většina sladkovodních plžů dýchá žábrami, mimo plicnatých, kteří dýchají plicemi, a proto se musí v pravidelných intervalech nadechovat u hladiny. Výjimkou jsou Planorbidae, kteří mají sekundární žábra (Piechocki 1979).

Plži jsou původně gonochoristé (někteří jsou dokonce schopni partenogeneze), plicnatí jsou však hermafrodité se schopností samooplození, přestože dávají přednost out - crossingu, tedy nepříbuzenskému rozmnožování (Dillon 2000).

Řada plžů jsou také přenašeči významných parazitů – motolic, a to včetně lidských. Za všechny jmenujme alespoň okružáky r. *Bulinus* a r. *Biomphalaria*, přenašeče krevničky močové (*Schistosoma haematobium*), respektive krevničky střevní (*Schistosoma mansoni*). *Schistosoma mansoni* je dokonce jeden z nejčastějších lidských parazitů (Morgan et al. 2001). Vyskytují se mezi nimi i významné invazní druhy jako písečník novozelánský (*Potamopyrgus antipodarum*). Sladkovodní plži (Ampullariidae) mohou být dokonce využívány lidmi jako zdroj potravy (Strong et al. 2008) a chováni jako akvariální zvířata.

Ačkoliv v kontinentálních vodách žije pouze 5 % druhů plžů, představují zhruba 20 % zaznamenaných extinkcí všech měkkýšů (Strong et al. 2008). Přesto většina druhů ještě není dobře prozkoumaná (Lydeard et al. 2004). Bylo by velmi záhodno této ohrožené skupině věnovat více pozornosti a zaměřit se na její ochranu.

3. Mechanismy šíření sladkovodních měkkýšů

3.1. CO JE DISPERSE?

Jednou ze základních vlastností organismů je pohyb. K jeho popisu se často používají dva termíny s různými významy: disperse a migrace. Jako migrace bývá označován pohyb velkého množství jedinců druhu z jedné lokality na jinou (Begon 2006). Příkladem může být tah střeoevropských ptáků do zimovišť či diurnální vertikální pohyby planktonu v nádržích. Dispersi definuje například Bohonak a Jenkins (2003) jako „pohyb jedinců přes hranice

populace“, Stenseth a Lidicker (1992) jako „jednosměrné pohyby mimo domovský okrsek“. Bullock et al. (2002) ji velmi zajímavě vymezuje jako „mezigenerační pohyb“. Trakhtenbrot et al. (2005) definuje dispezi velmi široce jako „pohyb organismů, jejich propagulí a genů směrem od zdroje“. Nathan et al. (2003) chápe migraci dokonce jako druh disperse. Nejen, že tyto termíny nemají jednotný výklad, ale jejich významy se dokonce časem posouvají (podrobněji Stenseth a Lidicker 1992). Ať už si tyto pojmy vymezíme jakkoli, jedním z hlavních rozdílů mezi migrací a dispersí je to, že migrace je více určená geneticky, zatímco disperse závisí na podmínkách prostředí (Clobert et al. 2001).

Důležitou součástí šíření organismů je tzv. long - distance dispersal (LDD)¹. Nelze obecně stanovit hranici, od jaké vzdálenosti začíná LDD. Ta se musí stanovit pro každý jednotlivý případ zvlášť. Tato vzdálenost může činit pouhých několik metrů i tisíce kilometrů mezi kontinenty (Nathan 2003). Například Worthington Wilmer et al. (2008) stanovili ve své studii na australském prameništím endemitu *Fonscochlea adepta* tuto vzdálenost na tři kilometry.

Dispersi můžeme dělit podle toho, kdo pohyb vyvíjí, na aktivní a pasivní. K aktivní dochází vlastním pohybem organismů, příkladem může být let ptáků. Pasivní je naproti tomu dosažena pomocí vnějších činitelů, např. větru či vody (Bullock et al 2002). Dále rozlišujeme také tzv. endozoochorii a ektozoochorii, tedy interní (průchodem trávící soustavou), respektive externí (na povrchu těla) přenos živočichy.

Neexistuje jen disperse v prostoru, ale i disperse v čase. Toto období organismy tráví ve stavu dormance, u živočichů často nazývané diapausa (Begon et al. 2006). Příkladem takovéto disperse jsou banky semen a trvalých vajíček (Bilton 2001).

3.1.2 Význam disperse

Schopnost šířit se je pro organismy jedna z klíčových životních strategií (Clobert et al. 2001). Přesto je spojena s mnoha riziky, jako je například náchylnost k predaci během vlastní disperse, nenalezení nové vhodné lokality, sexuálního partnera a také outbreedingová deprese. Outbreedingová deprese nastává při křížení geneticky vzdálenějších jedinců, adaptovaných

¹ v češtině bývá tento termín často ponecháván v této podobě anebo překládán jako dálkové výsadky, dálkové šíření apod.

na rozdílné lokální podmínky. Potomci při ní vykazují nižší fitness, protože nejsou tak dobře přizpůsobeni podmínkám prostředí (Begon et al 2006). Naopak ke kladům disperse patří možnost předejít inbreedingu², uniknout z prostředí s nevhodnými podmínkami (jakými jsou např. nedostatek zdrojů, vysoká predace a parazitace) a také osídlit nové lokality s příznivějšími podmínkami (Bilton 2001).

Disperse je schopna velkou měrou ovlivňovat genetickou strukturu populace. Úspěšná kolonizace, při které se dispersující jedinci zapojí do rozmnožování, vede k toku genů („gene flow“), tedy vlastně migraci genů z jedné populace do druhé. Dokonce může zřetelně redukovat genetickou diferenciaci mezi populacemi (Bohonak 1999).

Disperse působí na všech úrovních biologický systémů: v rámci genů, jedinců, populací i společenstev (Bohonak a Jenkins 2003). Nemožnost disperse mezi jednotlivými populacemi může vést až ke vzniku nového druhu.

3.2 ŠÍŘENÍ SLADKOVODNÍCH PLŽŮ

Jak je předesláno v úvodu, šířením sladkovodních živočichů se intenzivně zabývali vědci již v 19. století. Z této doby pochází řada pozorování, často velmi kuriózních, o šíření vodních živočichů (např. „deště ryb a žab“, Kew 1893). Je s podivem, že takto důležité téma se postupem 20. století z centra vědeckého zájmu přeneslo na jeho okraj. V současné době se ovšem studium šíření sladkovodních organismů, včetně plžů, opět rozvíjí. I přes dlouhou dobu výzkumu této problematiky zůstává většina poznatků nepřímá a dispersi ještě zdaleka není dobře porozuměno (Bohonak a Jenkins 2003).

Na rozdíl od mnoha jiných vodních bezobratlých, jako jsou žábřonožky (Anostraca) či mechovky (Bryozoa) (Bilton 2001), nemají měkkýši žádné specializované dormantní propagule (Cacarés 1997). Plži se tedy nešíří jen v určitém stadiu, ale po celý život - jako vajíčka, juvenilové i dospělci.

² Inbreeding je příbuzenské křížení. Jeho důsledkem je inbreedingová deprese, při které mohou projevit recesivní škodlivé alely (Begon et al. 2006).

Plži jsou organismy poměrně málo vagilní a převládá u nich pasivní disperse. Za hlavní vektor jsou tradičně považováni ptáci a vodní proud (Kew 1893). Měkkýšům toto šíření usnadňuje jejich schopnost dormance v nepříznivých podmínkách. V tomto stavu jsou velmi odolní. Zřejmě nejdelší známou dobu přežití plže v dormanci zaznamenal Baker (1934) u druhu *Oxystyla capax*, a to 23 let.

Vzhledem k tomu, jakými způsoby se plži šíří, k dispersi ve většině případů dochází na krátké vzdálenosti, LDD jsou relativně vzácná (Charbonnel et al. 2002).

Úspěch migrace plžů závisí podle Jokineny 1983 (podle Martin 1999) na několika faktorech, a to:

- 1) lokální početnosti druhu
- 2) velikosti živočicha
- 3) životní strategii druhu
- 4) specifitě mikrohabitatů
- 5) jeho reprodukční biologii.

To, jak dobře se druh šíří, nám může napovědět velikost jeho areálu. Druhy značně rozšířené, s velkými areály, mívají často dobré dispersní schopnosti (Figuerola a Green 2002a) a naopak. Disperse v rámci vodních bezobratlých by měla být tedy velmi častá a rozšířená, protože mají často velké areály, jak už si povšiml Darwin (1859).

3.2.1 Aktivní šíření

Aktivní disperse není u sladkovodních plžů běžná. Obecně se dá říci, že sladkovodní plži neumí plavat a jsou jen málo pohybliví (Dillon 2000).

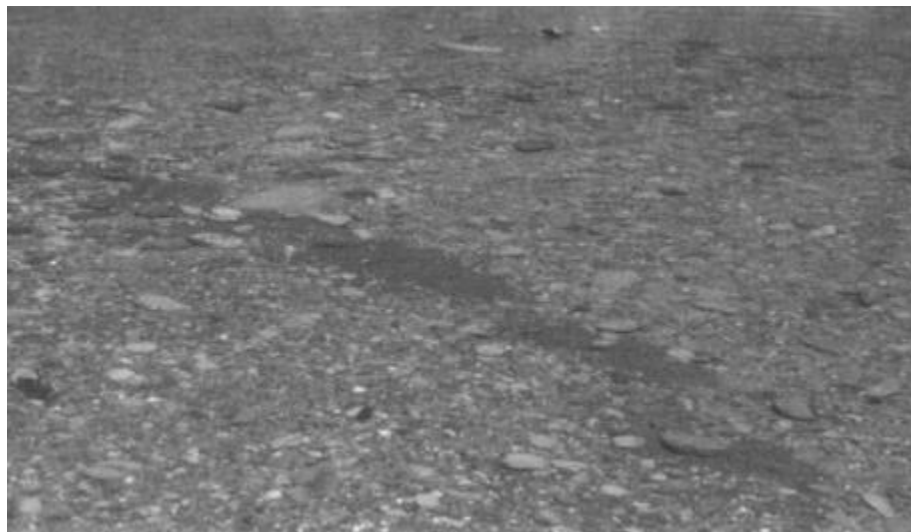
Jopp (2006) experimentálně zjišťoval, jakou vzdálenost okružák ploský (*Planorbarius corneus*) může urazit v laboratorních podmínkách. Maximální vzdálenost, kterou byli okružáci schopni dosáhnout za dvě minuty, činila 14,6 cm. Většina plžů ovšem neurazila více než 5 cm. Ze zjištěných dat stanovil, že by v ideálních podmínkách mohl plž urazit více než 100 metrů za den. Tato vzdálenost je značná, ovšem v přírodě podmínky ideální nebývají. Deigana a Orlovsky (1990) zjistili, že se *Planorbarius corneus* při hledání potravy pohybuje po dráze připomínající sinusoidu, tedy ne přímo rovně. Ribi (1986) ovšem popisuje i případ, kdy jím pozorované bahenky *Viviparus ater* udržovaly několik dní přímý směr a urazily takto

zhruba 1,6 metru denně. je také potřeba zmínit, že okružáci *Planorbarius corneus* (a podobně i *Viviparus ater*) dosahují poměrně značných rozměrů, což má také jistě vliv na vzdálenost, kterou jsou schopni urazit. Můžou dorůst do velikosti i více než 40 mm (Piechocki 1979). U daleko menšího písečníka novozélandského *Potamopyrgus antipodarum* (4 - 6,5 mm, Piechocki 1979) se vzdálenost uražená za 15 minut v laboratorích podmínkách, pohybovala v rozmezí od 2 do 44,5 cm ve dne a od 1,5 do 17,5 cm v noci (Ribi 1986). To souhlasí i s poznatky autorů Deigana a Orlovsky (1990), že plži vykazují daleko větší pohybovou aktivitu přes den než v noci. V noci značně převládají pouze dýchací pohybu k hladině. Ribi (1986) se navíc domnívá, že u vodních plžů se liší pohybová aktivita během roku a nejvyšší je v létě.

U některých plžů bylo prokázáno, že aktivně migrují proti proudu. Toto chování bylo pozorováno jak u plžů předožábřých (např. *Elimia catenari* z čeledi Pleuroceridae), tak u plžů plicnatých (např. *Physella integra* z čeledi Physidae). Souhrnný přehled plžů migrujících proti proudu nalezneme v práci Huryna a Dennyho (1997). Schneider a Frost (1986) a Schneider a Lyons (1993) dokonce zaznamenali obrovské (a to i druhově smíšené) proti proudu táhnoucí agregace plžů druhů *Neritina latissima* (čeleď Neritidae) a *Cochliopina tryoniana* (č. Hydrobiidae) na řece Rio Claro v Kostarice. Agregace tvořilo i více než 500 000 jedinců a dosahovaly délky až 32 m. Schneider a Lyons (1993) předpokládají, že migrace proti proudu slouží ke kompenzaci driftu. Na horním toku je také méně predátorů, a to hlavně čtverzubce *Spherooides annulatus*, který se specializuje právě na měkkýše. U zubovce má pohyb proti proudu i jiný účel. *Neritina latissima* má volně plovoucí larvy, které se nechávají unášet proudem do oceánu. Ke svému správnému vývoji totiž pravděpodobně potřebují slanou vodu. Toto chování plžům umožňuje šířit se do dalších sladkovodních habitatů i přes přirozenou bariéru tvořenou oceánem. Je třeba dále zmínit i to, že proti proudu migrovali pouze mladí jedinci, kdežto starší dospělci vykazovali pouze nízkou vagilitu.

Miller et al. (2006) shrnují, že podle obecného mínění je migrace proti proudu mechanismus zajišťující vyhnutí se predátorům, kompenzaci driftu a také dostupnost potravy. Soudí ovšem, že by mohla být mechanismem ke snížení či úplnému odstranění genetické struktury populací v malých měřítcích. Huryn a Denny (1997) se dokonce domnívají, že plži

se mohou pohybovat proti proudu spíše z důvodů mechanických než adaptivních. Tlak, kterým působí točivý moment (torze) na ulitu v proudící vodě, totiž může způsobit, že se ulita začne otáčet. Když plž otočí přední stranu ulity směrem proti proudu, je přední strana ulity, která je vystavená proudění, symetrická podle osy tvořenou kolumelárními svaly, a torze je tak odstraněna.



Obr. 1 Migrační vlna zubovce *Neritina latissima*. Převzato z Schneider a Lyons (1993).

Sladkovodní plži se mohou krátkodobě vyskytovat i na souši, ačkoliv se tam vystavují riziku vyschnutí. Mnoho sladkovodních plžů je k vysychání dobře přizpůsobeno, překonávají ho ovšem v neaktivním stavu (Alyakrinskaya 2003). Přesto jsou zdokumentovány případy aktivního šíření sladkovodních plžů po souši, například Kew (1893) uvádí pozorování živé bahnatky *Galba truncatula* (z čeledi Lymnaeidae) lezoucí přes pole. Pohyb po souši usnadňuje spodnookým plžům i fakt, že na rozdíl od předožábřých dýchají plicemi.

3.2.2 Vektory pasivního šíření

3.2.2.1. Voda

Jak už bylo zmíněno v kapitole 3.2.1, plži mohou být unášeni vodním proudem, což je tzv. drift. Plži se často nechávají unášet, a to tak, že se pustí podkladu, vystoupají k hladině a tam se zachytí povrchu (Brown 1994). Plži jsou schopni se zespona hladinové blanky velmi dobře pohybovat (Lee et al. 2008). Tento pohyb jim umožňuje mimo jiné tvorba vzduchových bublinek vevnitř v ulitě (Miller et al 2006). Marsh 1980 (podle Taylora 2003) studoval drift

na levatce *Physa (physella) gyrina* a vyvodil, že drift byl v tomto případě odpovědí na přemnožení plžů. Zároveň zaznamenal pravděpodobně dosud nejvyšší pozorovanou rychlost driftu pro sladkovodní plže. Ta byla stanovena na těžko představitelných 533 000 jedinců na m³/s. Drift umožňuje plžům se po proudu šířit rychle na poměrně značné vzdálenosti. Dazo et al. (1966) zkoumali schopnost šíření plži *Bulinus truncatus* a *Biomphalaria alexandrina*. Plže označili pomocí bílého laku na nehty a vypustili ve vodním kanálu. Zjistili, že část jimi označených jedinců se po devíti dnech dostala dokonce až 5 km po proudu od místa vypuštění. Šíření ve stojatých vodách je tedy kvůli absenci driftu omezenější než v tekoucích (Bousset et al. 2004).

Ve stojatých i v tekoucích vodách se jedinci můžou šířit pomocí povodní (Kew 1893, Miller et al. 2006). Plži mohou být takto zaneseni na různá místa a mohou tak osídlit nové lokality (Zhao et al. 2010, Zhou et al. 2002) zjistili, že *Oncomelania hupensis*, mezihostitel významného lidského parazita *Schistosoma japonicum*, expandoval díky častějším velkým záplavám. Terrier et al. (2006) také předpokládá, že se *Anisus vorticulus* (Planorbidae) šíří záplavami, často přichycený na proudem unášených rostlinách. Bousset et al. (2004) ovšem pomocí CMR (capture - mark - recapture – viz kap. 4.1.1.) zjistil, že při povodni se 98 % značených jedinců druhu *Physa (Physella) acuta* nepřeneslo dále než 28 metrů. Je ale možné, že odnesení povodní tyto levatky kompenzovaly migrací proti proudu. Z toho autoři vyvozují, že pro dispersi bude zřejmě významnější vektor drift než povodeň.

Binney (1851) zmiňuje kuriózní případ pozorování jantarky (*Succinea* sp.) zamrzlé v ledu, která přežila jeho zamrznutí i roztátí bez úhony.

Výčet mechanismů šíření pomocí vody by nebyl úplný, kdy nebyl zmíněn i rafting (tedy transport na předmětech plavoucích na hladině). Uplatňuje se zde přenos zejména na rostlinách a jejich částech, například kmenech (Pugh a Scott 2002). Rafting by se mohl uplatňovat zejména v dispersích na velké vzdálenosti. Woodruff a Mulvey (1997) se domnívají, že plž *Biomphalaria*, hostitel důležitých lidských parazitů rodu *Schistosoma*, se mohl z Jižní Ameriky, kde tento taxon vznikl (Morgan et al. 2001), rozšířit do Afriky právě raftingem. Rafting je zřejmě významným způsobem disperse zejména u vaječných snůšek a juvenilních jedinců. Ti se mohou přichytit například na volně plovoucí makrofyty

nebo na kousky dřeva (Städler a Jarne 1997). Například na jezeře Zürich bylo pozorováno množství písečníků *Potamopyrgus antipodarum* na plovoucích řasách rodu *Cladophora* (Ribi a Arter 1986 podle Ribi 1986).

3.2.2.2 Vítr

Vagvolgyi (1975) si všiml, že velikost různých nalezených úlomků hornin, které byly přeneseny vzdušnými proudy, odpovídá či dokonce značně přesahuje velikost některých plžů. Předpokládá, že právě šířením pomocí větru (a také ptáků), byli plži schopni osídlit ostrovy v Tichém oceánu. Také Rees (1965) takovýto způsob šíření plžů považuje za možný. Jeví se výhodnější než rafting, protože by transport větrnými proudy byl rychlejší a také účinnější než mořským prouděním (Vagvolgyi 1975).

Obecně se předpokládá šíření plžů, ať už suchozemských či sladkovodních, pomocí hurikánů a tornád (Darwin 1859, Vagvolgyi 1975, Bohonak a Roderick 2001). Přesto ovšem zatím nikdo přímý důkaz o přenosu plžů větrem nepřinesl. Například Vanschoenwinkel et al. (2008a) sice prováděl pokus, při kterém měřil dispersi vodních bezobratlých pomocí větru na systému periodických tůní v Jižní Africe, ale mezi zachycenými propagulemi se nevyskytovali ani plži, ani jejich vajíčka.

Kirchner et al. (1997) experimentálně studovali, jak daleko může vítr nést suchozemské plže drobničky (r. *Truncatellina*). Do tohoto rodu náleží nejmenší plži (kolem 1 mm), které můžeme na řeckých ostrovech nalézt. V pokusu nahradily živé plže prázdné schránky naplněné vaselínou. Schránky díky tomu měly velmi podobnou hmotnost i hustotu jako živé drobničky. Zjistili, že sedimentační rychlost průměrného plže s váhou 350 μg činí 2.6 ms^{-1} . To v přepočtu znamená, že takový jedinec je schopen při velké bouři s rychlostí větru $27,8 \text{ ms}^{-1}$ (zhruba 100 kmh^{-1}) při výchozí výšce 100 m.n.m. urazit vzdálenost větší než 3 300 m.

Šíření plžů, ať už sladkovodních či suchozemských, pomocí větru je velmi diskutabilní. Názory na tuto problematiku se u různých autorů liší, ovšem dle mého názoru se jeví pasivní šíření, ať už vajíček nebo dospělých jedinců drobných druhů, pomocí větru jako možné, i když u sladkovodních druhů rozhodně nebude běžné. Důležitější bude u velmi malých druhů (velikosti několika milimetrů) či mlád'at.

3.2.2.3 Živočichové

Ptáci

Ptáci představují jeden z nejdůležitějších přirozených vektorů disperse sladkovodních živočichů mezi různými povodími a izolovanými vodními tělesy (Santamaría a Klaassen 2002). To platí hlavně pro vodní ptáky, jakými jsou například vrubozobí (Anseriformes) či brodiví (Ciconiiformes) (Green et al. 2002). Samozřejmě vodní bezobratlé mohou přenášet i ostatní ptáci, kteří se chodí k vodě napít či vykoupat (Green a Figuerola 2005).



Obr. 2 Srdcovka *Cerastoderma edule* (Bivalvia) přichycená na jespáku obecném (*Calidris alpina*). Převzato z Green a Figuerola (2005).

Možnosti šíření sladkovodních měkkýšů pomocí ptáků si povšiml již Darwin (1859). Ten se domníval, že ptáci mohou plže přenášet přichycené na vodních rostlinách, které se jim zachytí v peří. Za nejúčinnější způsob ovšem považoval transport drobných čerstvě vylíhlých, jedinců na nohách vodního ptactva, viz ilustrační obr. 2. Pozoroval, že plži, ačkoliv vodní, přežijí při vyšší vzdušné vlhkosti až 24 hodin. Ptáci za tuto dobu mohou urazit i desítky kilometrů. Ptáci tak pravděpodobně tvoří nejdůležitější vektor LDD pro plže. Například Gittenberger et al. (2006) či Vagvolgyi (1975) předpokládají, že se plži dostávají na vzdálené oceánské ostrovy spíše pomocí ptáků než raftingem. Plži se mohou takto šířit na různých částech těla ptáků: na peří, nohách či zobácích (Figuerola a Green 2002a). Figuerola a Green (2002b) zjistili, že se bezobratlí živočichové, například na rozdíl od semen rostlin, nachází více na ptačích nohách. Vysvětlují si to tím, že na nohách ptáků se zachycuje bláto, které obsahuje vodní bezobratlé, a také, že semena mají často na povrchu přídatné struktury, které

jim umožní dobře se zachytit kupříkladu právě v peří. Existuje řada pozorování externího transportu sladkovodních měkkýšů ptáky. Kupříkladu Roscoe (1955) popisuje nález ibisa amerického (*Plegadis chihi*, dříve i *P. mexicana*), na jehož opeření byli objeveni nedospělí jedinci plžů dokonce tří rodů: *Lymnaea*, *Physa* a *Helisoma*. Malone (1965a) při svém experimentu použil nohy mrtvých kulíků zrzoocasých (*Charadrius vociferus*), aby zkoumal, zda a jak dlouho se na nich zachytí sladkovodní plži. Zjistil, že *Promenetus exacuous* (Planorbidae) i *Lymnaea (Galba) obrussa* (Lymnaeidae) vydrží přichycení i několik (až 14) hodin. U *L. obrussa* však většina dospělých jedinců nevydržela přichycená déle než 5 minut, a to kvůli své vyšší hmotnosti. Při pokusu s tělem ptáka však dokonce dva jedinci tohoto druhu vyšplhali nahoru a zachytili se v peří. Schopnost zachytit se na noze ptáka zaznamenal i u snůšky *L. obrussa*. Velmi zajímavé je chování bartremie dlouhoocasé (*Bartramia longicauda*), ptáka z čeledi slukovitých (*Scolopacidae*). Ta si před migrací zastrkává plže rodu *Physa* do peří a bere si je s sebou jako „živou konzervu“ (McAtee 1914 podle Martin 1999).

Ovšem ptáci nemusí plže šířit jen externě, ale také interně (tedy vlastně průchodem trávicím traktem). Tuto možnost uváděl už i Kew (1893), přestože on sám ji považoval za krajně nepravděpodobnou. Bezobratlé a jejich vaječné snůšky často ptáci aktivně nepřijímají, ale přijmou je spolu s jinou potravou. Malone (1965b) prováděl experimenty, ve kterých stanovoval, kolik sladkovodních plžů druhů *Physa anatina* a *Helisoma trivolvis* a jejich vajíček přežije průchod zaživacím traktem kachny divoké (*Anas platyrhynchos*) a kulíka zrzoocasého (*Charadrius vociferus*). Průchod nepřežil ani jeden dospělý plž a pouze několika vaječným snůškám se podařilo projít neporušené. Některá vajíčka se dále vyvíjela, ale tato embrya nebyla životaschopná. Ovšem jednotlivé druhy i jedinci se mohou v potenciálu pro interní dispersi značně lišit (Figuerola a Green 2002a). Interní disperse pomocí ptáků je obvyklá u mnoha jiných sladkovodních organismů (viz např. Charalambidou a Santamaría 2002, Figuerola a Green 2002a).

Savci

V malých a izolovaných tělesech je disperse vodních bezobratlých ptáky omezená, více se zde uplatňuje disperse savci nebo i člověkem (Henry 2002 podle Bousset et al. 2004).

Vanschoenwinkel et al. (2008b) studoval potenciál prasete divokého (*Sus strofa*) jako vektora sladkovodních bezobratlých. Zjistili, že transport je možný externě i interně, přičemž externí transport převažoval. Ani jeden z taxonů, které byly v této studii nalezeny na praseti divokém, sice nebyl měkkýš, ale takovýto typ disperse je i pro ně velmi pravděpodobný.

Možné je i šíření sladkovodních měkkýšů v srsti vodních savců, např. vyder (*Lutra lutra*) (Kew 1893). Waterkeyn et al. (2010) studovali možný přenos sladkovodních bezobratlých nutriemi (*Myocaster coypus*). V srsti 10 zastřelených nutrií našli stovky bezobratlých různých taxonů, mezi kterými ovšem opět sladkovodní plži chyběli. Podle mého názoru je však pravděpodobnější, že nutrie a další vodní hlodavci mohou přenášet sladkovodní plže, ať už vajíčka či dospělé, spíše v bahně na svých nohách, na rostlinách či vnitřně.

Obojživelníci a plazi

Jsou zdokumentovány případy, kdy byli nalezeni mlži rodů *Sphaerium* nebo *Pisidium* zachycení lasturami na prstech žab (Kew 1893, Beran 1998). Je tedy možný i transport plžů pomocí obojživelníků. Pravděpodobný je také přenos pomocí vodních plazů, například žel (Čejka 2008).

Ryby

Jak bylo v předchozí kapitole zmíněno, plži, kteří v experimentech prošli trávicím traktem ptáků, většinou nebyli životaschopní. Brown (2007) ovšem prokázal, že plži přežijí průchod trávicím traktem ryb. Pokusy prováděl na síhách *Coregonus pidschian* a *C. nasus*, kteří se živí převážně měkkýši. V trávicích traktech ryb byly nalezeny hrachovky *Pisidium idahoensis*, točenky *Valvata sincera* a plovatky *Lymnaea atkaensis* (viz obr. 3). Ve výkalech jednotlivých ryb bylo pozorováno průměrně 483 živých hrachovek a 833 točenek. Ve všech vzorcích byla však nalezena pouze jedna živá plovatka. To si autor vysvětluje tím, že hrachovka si může zavřít svoji lasturu, stejně jako točenka, která má trvalé víčko. *Lymnaea* ovšem trvalé víčko nemá. Průměrná velikost plovatek ve studii byla navíc znatelně větší než točenek (5 - 14 mm proti 1 - 6 mm u *Valvata sincera*).



Obr. 3 Měkkýši ze vzorků výkalů síha nosatého (*Coregonus pidschian*). Některé schránky zůstaly celé, jiné jsou rozdrčené. Velké hrachovky na snímku jsou viditelně živé – mají vystrčenou nohu. Převzato z Brown (2007).

Interní transport plžů, ať už pomocí ptáků, ryb či savců, by byl potřeba ještě detailněji prostudovat, a to zejména transport vaječných snůšek, jemuž byla zatím věnována jen velmi malá pozornost.

Bezobratlí

Ačkoliv by se mohlo zdát nepravděpodobné, že plže mohou šířit jiní vodní bezobratlí, máme o tom množství záznamů. Již Darwin (1859) zmiňuje, že ho Sir Charles Lyell zpravil o chycení potápníka rodu *Dytiscus* nesoucího kamomila (*Ancylus fluviatilis*). Darwin (1859) předpokládá, že transport vodním hmyzem může probíhat i na delší vzdálenosti. Sám totiž pozoroval, jak na palubě lodi Beagle, desítky kilometrů od nejbližší pevniny, přistál potápník r. *Colymbetes*. Při nočním svícení Rosewater (1970) našel na krovkách velkého jedince potápníka r. *Cybister* dva kamomily druhu *Laevapex fuscus*. Podobným způsobem Owen (1962) našel jednu mohutnatku (*Lethocerus americanus*; Hemiptera), která nesla na svém štítku³ nedospělého okružáka druhu *Helisoma (Planorbella) anceps*. Benard (2010) pozoroval během terénního cvičení dokonce dvě mohutnatky *Belostoma flumineum* s přichycenými jedinci *Laevapex fuscus* (viz obr. 4).

(Kew 1893) uvažuje i o možnosti, že by plži mohli být transportováni pomocí chrostíků (Trichoptera). Po vylétnutí chrostíků ze schránky by se mohli šířit po proudu vody. Je ovšem velmi nepravděpodobné, že by jako součást schránky přežili delší dobu.

³ Štítek = scutellum



Obr. 4 Ploštice *Belostoma flumineum* s přichycenými plži *Laevapex funus*. Převzato z Benard (2010).

3.2.2.4 Člověk

Člověk je bezesporu velmi důležitým dispersním činitelem pro řadu organismů. Wichman et al. (2009) definují dispersi zprostředkovanou lidmi „jako šíření přímo lidmi, na jejich šatech nebo s lidmi asociovanými vektory, zahrnujícími všechny lidské dopravní prostředky, domácí i hospodářská zvířata, lidské vybavení a jídlo“.

Možnosti přenosu sladkovodních plžů lidmi si povšiml již Kew (1893). Člověk se významnou měrou podílí na dalším šíření invazivních druhů, včetně písečníka novozélandského (*Potamopyrgus antipodarum*). Tento druh plže se rozšířil prakticky po celém světě (Alonso a Castro - Díez 2008). Jeho úspěšnost významně ovlivnilo i to, že je schopen jako jeden z mála plžů partenogeneze (Strong et al. 2008). Na příkladu tohoto druhu bych chtěla uvést několik způsobů, kterými mohou lidé sladkovodní plže rozšiřovat. Zavlečení nepůvodních druhů na jiné kontinenty je typicky možné balastní vodou lodí (Zaranko et al. 1997). Na americký kontinent se *P. antipodarum* však pravděpodobně dostal s nepůvodními druhy ryb (Bowler 1991 podle Alonso s Castro - Díez 2008). Na menší vzdálenosti se významně uplatňuje transport plžů například na botách, holínkách, automobilech, lodích či sítích. Pro veřejnost je proto vydávána celá řada informativních letáků s instrukcemi, které mají zabránit dalšímu šíření tohoto invazivního druhu (např. Oregon Sea Grant 2010).

Beran (2006) zaznamenal velmi zajímavý případ neúmyslného zavlečení sladkovodních plžů. Tato událost by možná proběhla bez povšimnutí, kdyby mezi plži vodní nádrže v Praze Stodůlkách, nebylo zaznamenáno několik druhů vyskytující se převážně v periodických tůních (*Anisus spirorbis*, *Stagnicola corvus*, *Segmentina nitida*) a dokonce v ČR kriticky ohrožená točenka velústá (*Valvata macrostoma*). Nádrž byla mezi lety 2004 a 2005 revitalizována a její břehy byly zpevněny kokosovými válci a rohožemi, které pocházely ze severovýchodního Polska. Ty byly ještě před použitím umístěny ve vodních nádržích a osázeny vodním rostlinstvem. Alespoň někteří vodní měkkýši transport přežili a osídlili novou lokalitu i přesto, že jim neposkytovala ideální podmínky.

4. Možnosti sledování šíření plžů

Sladkovodní bezobratlí jsou velmi vhodnou skupinou pro studium disperse. Krom velkých populací je důležitých faktorem i to, že na rozdíl od suchozemských i mořských ekosystémů, je sladkovodní prostředí relativně dobře ohraničené a podobně i populace sladkovodních bezobratlých (Bohonak a Jenkins 2003). Přesto se o jejich šíření ví poměrně málo a naše porozumění dispersi bylo „často založeno na širokém zobecnění, nespolehlivých pozorováních a špatných taxonomických předpokladech“ Bohonak a Jenkins 2003).

Způsobů, jak sledovat a odhadovat dispersi je celá řada, ovšem tři jsou nejdůležitější, a to: 1) metody přímého sledování jedinců a jejich pohybu, 2) genetické analýzy a 3) matematické modely (Nathan 2001). Z těchto způsobů se zaměřím hlavně na přímé sledování disperse a metody značení plžů.

4.1 METODY PŘÍMÉHO SLEDOVÁNÍ DISPERSE A POHYBU

Tyto metody zahrnují především capture - mark - recapture metody (viz 4.1.1) a metody radiového sledování (viz 4.1.2.). Používají se napříč živočišnou říší, ve většině případů však u obratlovců. Henry a Jarne (2007) uvádějí, že CMR studie jsou u suchozemských obratlovců dokonce více jak desetkrát častější než u plžů. Výhodou je možnost sledovat konkrétní jedince a jejich pohyb. Nevýhodou je, že značení může ovlivňovat mortalitu.

4.1.1. Metoda zpětných odchyťů

Princip metody zpětných odchyťů (capture - mark - recapture, často také capture - recapture, mark - recapture, tag - recapture; dále jen CMR), jak už z jejího anglického názvu vyplývá, spočívá v odchycení náhodného vzorku jedinců z populace, jeho označení, vypuštění a opětovném odchycení jiného náhodného vzorku. CMR byla původně vytvořena k určení velikosti populace (Sergent et al. 1998) a stále představuje jednu ze základních metod k jejímu určení (Begon et al. 2006). Pomocí této metody lze ale také získat množství dalších různých důležitých populačních parametrů, jakým je například přežívání jedinců (např. Hanski et al. 2000). Analýzou těchto dat můžeme získat informace o životní strategii („life - history“) a tak i sledovat míru migrace mezi jednotlivými populacemi (např. Hanski et al. 1994) a zároveň i dispersi. Vhodným nástrojem pro analýzu dat jsou různé počítačové programy, např. MARK (White a Burnham 1999).

4.1.1.2 Značení plžů

Možností značení měkkýšů je celá řada. Většina těchto technik se používá jak u suchozemských, tak u sladkovodních i mořských měkkýšů, často jen s menšími modifikacemi podle typu prostředí, ve kterém živočich žije. U plžů opatřených schránkou je právě ulita nejčastějším cílem značení.

Jednoznačně nejobvyklejší a nejjednodušší technikou je značení pomocí nejrůznějších barev aplikovaných na ulitu. Jeho výhodou je, že se dá použít i pro individuální značení. Běžně se používá lak na nehty (např. Chlyeh et al. 2002, Schneider a Lyons 1993), dále také voděodolný inkoust (např. Severns 2009), tuš (např. Schilthuisen a Lombaerts 1994), barva na auta (Henry a Jarne 2007), barva na smalt (např. Johnson a Black 1998, Nechovetich a Esch 2008) či kvašové barvy⁴ (Henry et al. 2004). Časté je i použití opravného laku pro korektury textu (Baur a Baur 1995) a permanentního značkovače (např. Giokas a Mylonas 2004, Edelstam a Palmer 1950). Velmi důležité je nanášet barvu na osušené a vyčištěné schránky. Severns (2009) uvádí, že se mu nepodařilo ulity dostatečně osušit, a proto, i když byl plž úspěšně označen, barva nedržela a bylo pravděpodobné, že se brzy smyje. Kvůli tomu

⁴ Kvašová barva se skládá z pigmentového prášku, arabské gumy, vody a běloby. Díky tomu je vzniklý nátěr neprůhledný.

je vhodné ve vodě rozpustné barvy, např. tuš, ještě před vypuštěním označených měkkýšů fixovat pryskyřicí (Henry a Jarne 2007). Tato fixace také prodlužuje trvanlivost značení. Fixování ovšem trvá několik hodin (Debrot 1990) a není tedy vhodné pro plže, kteří neodolávají ani krátkodobému vyschnutí. Poměrně novou metodou individuálního značení jsou plastové značky, které se připevňují na ulitu pomocí lepidla (Henry a Jarne 2007). Mohou být samozřejmě různě barevné či očíslované pro individuální značení.

Dopady jednotlivých technik na životní strategie („life - histories“) plžů jsou jen omezeně známy a často nejsou zahrnuty v analýze výsledků CMR. Nejúplnější přehled dopadů jednotlivých technik na plže ve své práci shrnují Henry a Jarne (2007). Jejich modelovým organismem byla sladkovodní levatka *Physella (Physa) acuta*. Z jejich výsledků vyplývá, že zřejmě největší dopad má na plže aplikace umělohmotných značek, a to zejména na menší jedince. Počet vajíček i vaječných snůšek byl u takto označených jedinců nižší, i přestože rozdíl nebyl signifikantní. Na druhou stranu, tyto značky vykazovaly minimální ztráty (1 %). Plastové značky mají kromě nižšího přežívání označených jedinců ještě další nevýhody (Henry a Jarne 2007). Jednou z hlavních je zejména složitější a náročnější aplikace značky a vyšší pořizovací cena oproti tradičním barevným značkám. Další nezanedbatelnou nevýhodou je rozdíl v tom, jak se značení ztrácí. Značení barevnou skvrnou se postupně odlupuje, takže i téměř ztracená skvrna je stále rozpoznatelná. Naproti tomu plastové značky mají daleko větší integritu, takže se nalézají buď neporušené, nebo se ztrácí celé.

Autoři také zkoumali značení pomocí kvašových barev, barvy na auto, laku na nehty a opravného laku. Zjistili, že tyto značky mají větší ztráty (3 - 5 %). U kvašových barev byly tyto ztráty velmi výrazně závislé na odstínu (u červené 3 %, u tmavě modré 22 %). Zajímavé bylo také zjištění, že jedinci označovaní opravným lakem měli větší plodnost než neznačovaní, i když tento rozdíl opět nebyl signifikantní. Přímé dopady značení voděodolným inkoustem nebyly experimentálně studovány, ale Severns (2009) se domnívá, že zřejmě přežívání plžů nijak neovlivňuje. Po dvou týdnech z jím označených 357 jedinců rodu *Vesperiola* totiž uhynulo pouze 7.



Obr. 5: *Hexaplex trunculus* označená štítkovačem Dymo (v kroužku).

Převzato z Vasconcelos et al. 2006

Opravdu permanentní formu značení vytvořil Wolda (1963, podle Kleewein, 1999). Značil jedince páskovky hajní (*Cepea nemoralis*) pomocí vyvrtávání otvorů o průměru 0,8 mm do schránek. Plži si sice poškozenou schránku opraví, na povrchu však zůstane stále viditelná jizva. Autor ve své práci zároveň zkoumal i to, jak tato forma značení ovlivňuje své nositele. Nezjistil přitom žádný vliv značení na mortalitu ani plodnost.

Zajímavé je použití štítkovače⁵ ke značení mořských plžů ostranek (Vasconcelos et al. 2006) - viz obr. 4. Štítky byly přilepeny kyanoakrylátovým lepidlem a pokryty epoxidovým lepidlem. Autoři uvádějí, že nezjistili žádné nepříznivé ovlivnění zdraví či chování plžů ani bezprostřední mortalitu po označení.

Rivera (2008) značil sladkovodního plže *Cipangopaludina chinensis* pomocí přilepení kousku papíru lepidlem. Tento experiment ovšem probíhal v laboratorních podmínkách pouze po dobu několika dnů. Zůstává tedy otázkou, jakou životnost by takovéto značení mělo v přírodních podmínkách či při dlouhodobějším pokusu.

Je samozřejmě možné, a pro některé účely velmi vhodné, různé metody značení kombinovat (např. Baur a Baur 1995). V této studii umožnila kombinace použití tuše a opravného laku individuální značení. Jednotlivým ovsenkám (*Chondrina clienta*) na značku z bílého opravného laku výzkumníci nanесли ještě číslo pomocí tuše. Dále plže označili různou barvou laku na nehty podle místa vypuštění.

⁵ Štítkovač je přístroj tisknoucí na papírové či hliníkové pásky. Často se používá například k označování kabelů.

Značení plžů s redukovanými schránkami

Protože se většina značek umisťuje na schránku, nastává problém u plžů, u kterých se ulita redukovala nebo dokonce zcela zmizela. Tradičním způsobem, jak tento problém vyřešit, bylo podávání potravy obarvené např. methylčervení (Sturm et al. 2006). Bohužel tato značka vydrží jen dočasně, protože je v těle rozložena. Je také možné použít značení radioaktivními izotopy. Ani jedna z těchto metod ovšem neumožňuje individuální značení.

K individuálnímu značení Richter (1976) vyvinul metodu mrazového značení, kdy se pomocí tekutého dusíku vypálí plži jakýsi cejch. Podle Foltana a Konvicky (2008) ovšem toto značení nevydrží déle než 3 měsíce, protože poškozená tkáň zcela zregeneruje. Grimm (1996) proto k trvalému individuálnímu značení navrhla metodu značení pomocí magnetických transpondérů. Zjistila, že tato metoda nijak nepříznivě neovlivňuje přežívání ani rozmnožování. Nevýhodou je ovšem její poměrně značná časová náročnost (transpondéry se aplikují implantací do svalnaté nohy plže v anestézii), možnost uplatnění jen u plžů dorůstajících větších rozměrů a hlavně finanční náročnost. Poměrně jednoduchou a levnou techniku značení pomocí UV fluorescenčního pigmentu popisují ve své práci Foltan a Konvicka (2008). Tento stálý a netoxický pigment se aplikuje pomocí jehly pod plášť. Autoři při pokusech zjistili, že toto značení neovlivňuje ani přežívání a dokonce ani míru predace značených jedinců. V experimentu byli použiti jako predátoři brouci *Pterostichus melanarius*. U některých predátorů plžů, např. určitých druhů ptáků, ovšem byla prokázána schopnost vnímat záření v UV oblasti (Tovee 1995). Byl by proto vhodný výzkum toho, jestli by značení UV pigmentem ovlivňovalo predaci plžů predátory se schopností vnímat UV záření.

4.1.2. Radiové sledování

Radiové sledování se při studiu plžů využívá spíše ojediněle (Tomiyaama a Nakane, 1993). Tato metoda nachází uplatnění zejména při studiu obratlovců. Většina plžů totiž dosahuje jen malých velikostí. Pro ilustraci, jeden z našich běžných sladkovodních plžů, nepůvodní druh levatky *Physella acuta* (Draparnaud, 1805), dosahuje v dospělosti výšky ulity 8 - 17 mm a šířky 6 - 10 mm (Piechocki 1979). Ohbayashi - Hodoki (2004) uvádí, že ve vzorku jedinců pocházejících z vodní nádrže a kanálu v japonském městě Kakegawa vážili

menší jedinci levatek průměrně 0,030 g a větší 0,088 g. Není tedy divu, že Tomiyama a Nakane (1993) ve svém experimentu sledovali oblovku *Achatina fulica* (Ferussac, 1821). Právě tento plž je jedním z největších suchozemských plžů na světě (tuto vlastnost si nese i ve svém anglickém jméně - giant snail). Přitom jeho živá váha činí zhruba pouhých 32 g (Otchoumou et al. 2010). Radiový vysílač použitý v předcházející studii vážil tři gramy, což činilo zhruba 5 až 10 % hmotnosti těla sledovaných plžů. Odpovídající vysílač by tedy u zmíněné levatky *Physella acuta* musel vážit jen několik miligramů. To ještě neodpovídá technickým možnostem, přestože se současná technika neustále zlepšuje a existují už i velmi lehké vysílače, které váží bez baterie jen 0,08 g (Naef - Daenzer et al. 2005).

4.2 GENETICKÉ METODY SLEDOVÁNÍ DISPERSE

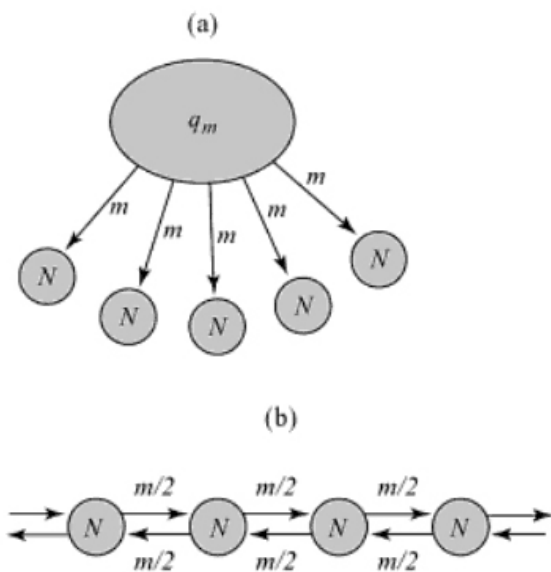
Bouřlivý rozvoj molekulární genetiky od 2. poloviny minulého století znamenal průlom snad ve všech odvětvích biologie, a to včetně studia disperse organismů. V současné době je možné studovat dispersi tak, že se analyzuje genotypová variabilita pomocí molekulárních markerů. Jak už bylo zmíněno v kapitole 3.1.2, disperse ovlivňuje genetickou strukturu populací. Na základě údajů o genetické struktuře populací tedy můžeme odhadnout počet migrantů několika způsoby, z nichž uvádím nejběžnější.

F - statistika a modely disperse

Pro odhad počtu migrantů se nejběžněji používá hodnoty fixačního indexu F_{ST} (Bohonak a Roderick 2001). Původně F_{ST} zavedl Wright (1951) podle Neigel (2002). F_{ST} je hodnota kvantifikující rozdíly mezi frekvencemi alel mezi populacemi. Na základě genetické rozdílnosti se používá k stanovení míry genetické vzdálenosti. Nabývá hodnot od nuly do jedné, kde nula znamená, že jsou populace geneticky identické. Tento index neudává dispersi přímo, ale přes vztah:

$$N_e m = (1 - F_{ST}) / 4 F_{ST}$$

kde je N_e efektivní velikost populace a m míra migrace. Hodnota $N_e m$ udává počet migrantů za generaci. Obecně se uvádí, že již jeden migrant za generaci je dostačující k tomu, aby se zabránilo změnám v důsledku genetického driftu (Hedrick 2011). Čím je vyšší hodnota $N_e m$, tím více klesá hodnota F_{ST} . Takovýto přepoččet ovšem platí jen pro populace se strukturou ostrovního modelu Wright (1931). Ostrovní model je znázorněn na obr. 5a. Ten vychází ze základního předpokladu, že druh je rozdělen na populace o stejné velikosti (N), které si mezi sebou vyměňují migranty se stejnou frekvencí. Tyto podmínky ovšem nebývají v reálných podmínkách splněny, a proto nemusí takto získané výsledky odpovídat skutečnosti. Tato problematika je v současnosti v odborné literatuře často diskutována, viz např. Bohonak a Roderick (2001), Bohonak a Jenkins (2006) či Neigel (2002).



Obr. 6 Znázornění modelů populační struktury (podle Hedrick 2011)

a) Ostrovní model

b) Jednodimenzionální stepping stone model

Dalším základním modelem populační struktury je tzv. „stepping stone“ model (Kimura 1953), schéma na obr. 5b. Tento model předpokládá, že celý druh je rozdělen na jednotlivé populace a jedinci z těchto populací mohou migrovat pouze do sousedních populací.

Jako alternativy pro stanovení genetické diferenciace populací se používají i ekvivalenty F_{ST} , G_{ST} , R_{ST} , Φ_{ST} a Q_{ST} (více viz Holsinger a Weir 2009).

Privátní alely

Privátní alely jsou takové alely, které můžeme najít jen v jediné populaci (Avisé 2004).

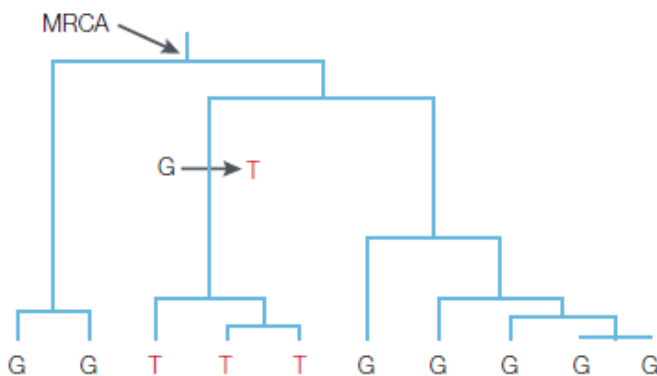
Z průměrné frekvence privátních alel v populaci ($p(1)$) vyvodil Slatkin (1985) vztah pro výpočet Nm :

$$\ln p(1) = -0,505 \ln(Nm) - 2,44$$

Z tohoto odvození tedy vyplývá, že privátní alely budou mít vysoké frekvence, jen pokud bude Nm dostatečně nízké.

Koalescenční metody

Tyto metody pracují na principu maximální pravděpodobnosti („maximum likelihood“) a k jejím zakladatelům patří např. Peter Beerli (Beerli a Felsenstein 1999). Základním principem koalescenčních metod je rekonstrukce genealogického stromu pro různé genotypy a nalezení MRCA („most recent common ancestor“), tedy posledního společného předka (Rosenberg a Nordborg 2002). Tyto metody na základě selekčně neutrálních genů vlastně rekonstruuji genealogii nazpět v čase (Freeland 2005). To se děje tak, že se hledají koalescence, tedy místa splývání dvou oddálených linií. K tomu dochází pomocí složitých matematických modelů. Koalescenční metody dnes nalézají široké uplatnění ať už v populační genetice nebo ve fylogeografii (Freeland 2005).



Obr. 7 Daný polymorfismus vznikl mutací. Pokud půjdeme dál po genealogickém stromu, dojdeme k místům koalescence (splnutí) linií až k jejich poslednímu společnému předkovi (MRCA). Převzato z Rosenberg a Nordborg 2002.

4.2.1 Molekulární markery a jejich použití v určování disperse

Důležitým rozhodnutím při genetické analýze je výběr správného molekulárního (genetického) markeru. Genetický marker by měl být selekčně neutrální (Selkoe a Toonen 2006). To znamená, že změny v něm neovlivňují či jen velmi málo ovlivňují fitness příslušného jedince. Při výběru vhodného markeru je důležité také věnovat pozornost tomu, jak je daný marker variabilní a také jestli je dominantní nebo kodominantní (Freeland 2005). Kodominantní markery, na rozdíl od markerů dominantních, poskytují informace o všech alelách přítomných na daném lokusu a jsou tedy přesnější. Dominantní markery totiž nejsou schopny odlišit homozygoty a heterozygoty. K nejčastěji používaným typům markerů patří alozymy, sekvenování genů mtDNA, RAPD, AFLP, mikrosatelity.

Dříve se velmi často používala analýza variability alozymů neboli polymorfních enzymů (např. Woodruff a Mulvey 1997, Dillon a Wethington 2006). Tato metoda je založena na multilokusové proteinové elektroforéze, která vznikla již v 60. letech. Nedenaturované proteiny jsou při ní rozděleny v elektrickém poli na gelu podle svého náboje a poté jsou zviditelněny barvami specifickými pro dané enzymy (Avisé 2004). Alozymy jsou velmi levné, rychlé a jednoduché, ale zároveň mají také řadu nevýhod (Bohonak 1999). Podle Freeland (2005) jsou jejich hlavní nevýhody následující: 1) Jejich variabilita, na rozdíl od variability DNA, závisí pouze na nesynonymních substitucích v daných kódujících genech. 2) Alozymy jsou funkční proteiny - enzymy, takže nemusí být selekčně neutrální. 3) Nejsou vhodné ke zkoumání evolučních vztahů mezi jednotlivými alelami. Kromě toho je tato technika je také náročná na kvalitu vzorků (Sunnocks 2000).

V současnosti jsou zřejmě v molekulární ekologii nejčastěji používanými markery mikrosatelity čili STR - „short tandem repeats“⁶ (Selkoe a Toonen 2006). Stejně tak je tomu i v molekulární ekologii sladkovodních plžů (např. Mavárez et al. 2002, Worthington Wilmer et al. 2008, Wilkinson et al. 2007). Mikrosatelity jsou krátká tandemová opakování jednoho až šesti nukleotidů (viz tab. 1), vyskytující se nejenom v jaderném, ale i v chloroplastovém a mitochondriálním genomu téměř všech druhů (Freeland 2005). Nejčastěji se délky

⁶ „Short tandem repeats“ – krátká tandemová opakování

mikrosatelitových lokusů pohybují od 5 a do 40 opakování (Selkoe a Toonen 2006). Mikrosatelity mají také velkou výhodu v tom, že mají vysokou mutační rychlost (Avisé 2004). To se ovšem stává i jejich nevýhodou. Pro každý nově studovaný druh bývají designovány nové primery, což je relativně finančně a časově náročné, přestože se tento proces zrychluje a zlevňuje (Selkoe a Toonen 2006).

Tab. 1. Sekvence mikrosatelitů a jejich primerů pro plže druhu Bulinus truncatus. Převzato z Chlyeh et al. 2002

Mikrosatelitový lokus	Sekvence	Primer
Bt1	(CA) ₁₂ (GA) ₄	CGTGGGGACTGTTTACTTTACCCCCCTAAAAGTTT TGGTCTAG
Bt4	(TC) ₃₁	CAATCTTGTATCTATAATCCGCCACTCCAGTAAG AAACAAAC

Technika AFLP (Amplified fragment length polymorphism - polymorfismus délek amplifikovaných fragmentů) vznikla v roce 1995 (Vos 1995). Jejím základem je rozštěpení DNA restričními enzymy. Během štěpení probíhá navázání ligandů, což jsou nasyntetizované krátké fragmenty DNA, které pomocí lepivých konců („sticky ends“) přichytí na rozštěpené fragmenty DNA a zabrání jejímu dalšímu štěpení. Poté se vybrané fragmenty během dvou po sobě následujících PCR (tzv. preselektivní a selektivní amplifikace) amplifikují a zobrazí na elektroforéze v podobě specifických proužků (Meudt a Clarke 2007). Tato metoda se používala převážně ve výzkumu rostlin, hub a bakterií, i když už se začíná používat i ve výzkumu zvířat, včetně sladkovodních plžů (Genner et al. 2007, Miller et al. 2006).

RAPD čili Random amplified polymorphic DNA (náhodně amplifikovaná polymorfní DNA) je technika, kde se používají krátké primery (většinou 10 bp) libovolných sekvencí k amplifikaci náhodných úseků DNA (Avisé 2004). Namnožené úseky DNA se poté zviditelní elektroforézou na gelu, kde vytvoří specifické proužky, které je možno dále analyzovat. Tato technika byla hojně využívána v populační biologii v 90. letech, ovšem dnes se používá daleko méně (Avisé 2004). Hlavním důvodem její nízká reprodukovatelnost, protože

výsledky mohou být ovlivněny i malými změnami v laboratorních podmínkách, např. typem cycleru či koncentrací DNA (Freeland 2005).

Využívání markerů na mitochondriální DNA (dále jen mtDNA) bylo v minulosti velmi rozšířené pro nejrůznější účely, v množství studií se dokonce používaly výhradně tyto markery (Ballard a Whitlock 2004). Mezi často využívané mitochondriální markery patří podjednotka jedna cytochrom - c oxidázy (COI; např. Liu a Hershler 2007), dále možné použít kupříkladu 16S ribosomální RNA (např. Mavárez et al. 2002), podjednotku jedna NADH dehydrogenázy (NDI, Liu a Hershler 2007) apod. Mitochondriální DNA byla značně využívaná kvůli svým unikátním vlastnostem, např. její dědičnost je uniparentální, neprobíhá v ní rekombinace a je selekčně neutrální (Ballard a Whitlock 2004). Jenomže tyto vlastnosti neplatí zcela, což by mohlo vést ke zkresleným výsledkům, a proto by se mělo využívat těchto markerů hlavně v kombinaci s jinými, jadernými markery (více Ballard a Whitlock 2004). Mezi takovéto markery by mohly patřit např. ITS 1 a 2 („internal transcribed spacer 1 a 2“) (např. Zhao et al. 2010), což jsou velmi variabilní nekódující úseky ribosomální DNA.

Tab. 2 Přehled vybraných molekulárních markerů a jejich vlastností používaných v populační genetice (převzato z Freeland 2005 a Avise 2004, upraveno).

Marker	Dědičnost	Informační molekula	Variabilita	Náklady
alozymy	kodominantní	proteiny	střední	nízké
mtDNA	po mateřské linii	DNA	nízká	nízké
RAPD	dominantní	DNA	střední	nízké
mikrosatelity	kodominantní	DNA	vysoká	vysoké
AFLP	dominantní	DNA	vysoká	vysoké

4.2.2. Genetická struktura populací sladkovodních plžů

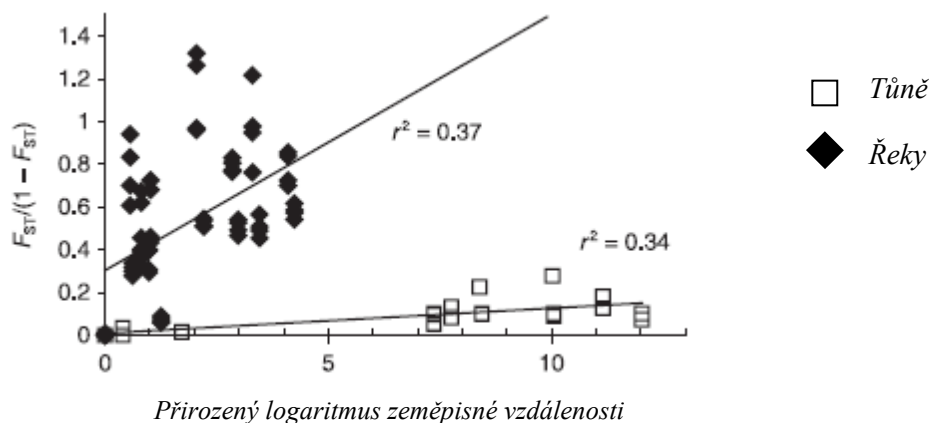
Studií, které by zkoumaly populační genetiku sladkovodních plžů, není příliš mnoho a soustředí se zejména na populační genetiku plžů - mezihostitelů motolic (např. Mavárez et

al. 2002, Zhao et al. 2010, Wilkinson et al. 2007, Hurtrez - Bousses al. 2010). Studie jsou také zaměřeny zejména na plže plicnaté (např. Bousset et al. 2004, Dubois et a. 2008).

Obecně se dá říci, že populace sladkovodních plžů vykazují na větších prostorových škálách izolaci vzdáleností („isolation by distance“), např. Miller et al. (2006), Wilkinson et al. (2007), Mavárez et al. (2002). Izolace vzdáleností (Wright 1943) znamená, že se disperse odehrává přednostně mezi sousedními populacemi. Tedy, čím jsou od sebe populace vzdálenější, tím je mezi nimi menší tok genů. Podobně vykazují izolaci vzdálenosti i jiné skupiny sladkovodních bezobratlých (podrobněji Bohonak a Roderick 2001). Tato izolace je s největší pravděpodobností způsobena tím, že disperse v přírodních populacích zřejmě není tak častá a běžná, jak se dříve usuzovalo (sensu Bohonak a Jenkins 2003).

Naopak populace vykazují často velmi nízkou nebo dokonce vůbec žádnou vnitropopulační diversitu, která často bývá doprovázena nízkým poměrem heterozygotů v populaci (např. Charbonnel et al. 2002, Miller et al. 2006, Hurtrez - Bousses et al. 2010). To vzniká v důsledku samooplození (u hermafroditických plžů) a/nebo časté disperse na kratší vzdálenosti. Tyto vzdálenosti se liší u jednotlivých druhů i populací, zřejmě v závislosti na podmínkách prostředí. Například u australského prameništního druhu *Fonscochlea accepta* může činit zhruba 300 m (Worthington Wilmer et al. 2008) a u točenky *Valvata utahensis* až 3 km (Miller et al. 2006). Zajímavé srovnání poskytují suchozemští měkkýši, protože studie na nich přinášejí obdobné výsledky (např. Giokas a Mylonas 2004). Přesto sladkovodní plži na rozdíl od suchozemských vykazují daleko menší genetikou diferenciaci na malých prostorových škálách, což může být způsobeno tím, že vodní plži mají větší dispersní schopnost a více dispersních mechanismů (Miller et al. 2006).

Genetická struktura populací také závisí na prostředí. Bousset et al. (2004) u levatky *Physa acuta*, zjistili, že populace v řekách byly variabilnější než v tůních. Zdůvodněním by mohlo být, že populace v řekách (tedy stálém prostředí) neprochází tak často fázemi s nízkou populační hustotou jako populace z dočasných vod (tůní). Populace zde takto fluktuují v důsledku střídání záplav a vysychání. Podobné výsledky zjistili i např. Campbell et al. (2010), kdy pozorovali pozitivní korelaci genetické diferenciaci populací a otevřenosti habitatu.



Obr. 8: Graf závislosti genetické diferenciacce populací levatky *Physa acuta* v různých biotopech na jejich zeměpisné vzdálenosti (převzato z Bousset et al. 2004).

Naproti tomu ale Sire et al. (2001) zjistili, že jimi studované populace plže *Biomphalaria glabrata*, a stejně tak i jeho parazita krevničky *Schistosoma mansoni*, jsou výrazně geneticky strukturované. K podobným výsledkům dospěli i Lively a Dybdahl (2000) u druhu *Potamopyrgus antipodarum*. Tento jev vznikl zřejmě v důsledku lokální adaptace v koevoluci hostitele a parazita. Koevoluční hypotéza Červené královny tvrdí, že se parazité adaptují k napadání nejčastějších genotypů hostitele a tím pádem lépe infikují sympatrické populace hostitelů (Lively a Dybdahl 2000).

Demografická studie také pomohla zjistit, že vedle populací stálých, existují i populace dočasné, které slouží k další rekolonizaci. Podobné výsledky zjistili například i Dubois et al. (2008) u levatky *Physa (Aplexa) marmorata* a Hurtrez - Boussets et al. (2010) u plovatky *Galba truncatula*. To tedy znamená, že se alespoň některé populace plžů vyskytují v metapopulacích, což je důležitý poznatek nejen pro další výzkum disperse (Bohonak a Jenkins 2003).

4.2.3 Fylogeografie sladkovodních plžů

Zajímavé poznatky o dispersi druhů můžeme zjistit z fylogeografických studií, a proto je vhodné je alespoň v krátkosti zmínit. Fylogeografie je obor, který se zabývá principy a procesy ovlivňujícími geografickou distribuci genealogických linií (Avise 2000). Tato distribuce je zapříčiněna hlavně vikariací a dispersí či spíše jejich kombinací. Při vikariaci jsou původně souvislé populace odděleny díky změnám v prostředí, např. vzniku pohoří

(Avice 2000). Při fylogeografických studiích se využívá hlavně markerů na mtDNA (viz kapitola 4.2.1).

V současné době vzrůstá počet fylogeografických studií u sladkovodních plžů (např. Bunje 2005, Benke et al. 2009, Liu et al. 2010). Výsledky fylogeografických studií potvrzují výsledky populačně-genetických studií. Ukazují totiž, že je fylogeografická struktura plžů komplikovanější než se dříve očekávalo (Benke et al. 2009), což naznačuje, že disperse není častá, jak se dříve usuzovalo. Analýzy výsledků také ukazují, že geografickou distribuci linií často ovlivňují hlavně fragmentace a LDD (nař. Bunje 2005, Liu et al. 2010).

5. Závěr

Sladkovodní plži jsou taxonomicky nejednotná skupina měkkýšů, představovaná mnoha nezávislými liniemi (Strong et al. 2008). Jsou to významní obyvatelé kontinentálních vod osidlující téměř všechny sladkovodní habitaty.

U sladkovodních plžů jednoznačně převažuje pasivní disperse nad aktivní. Ani aktivní, kterou představuje hlavně migrace proti proudu, ovšem není zanedbatelná. Hlavními vektory pasivní disperse jsou ptáci, voda a v poslední době též člověk. O jejich šíření však máme stále poměrně málo údajů, často jen tradované a experimentálně nepotvrzené. Je tedy potřeba ještě množství experimentů na různých druzích sladkovodních plžů, které by objasnily, jestli je například možné, aby byl vektorem disperse plžů vítr a jestli je možný interní přenos plžů trávicími trakty savců a ptáků.

Genetické metody pomohly odhalit, že mezi jednotlivými populacemi plžů jsou značné genetické rozdíly. Disperse zřejmě není tak častá a rozšířená, jak se předpokládalo, přestože mají sladkovodní plži značný dispersní potenciál (sensu Bohonak a Jenkins 2003). Dispersi také ovlivňuje řada faktorů, zejména vzdálenost a stabilita habitatu. Proto by bylo vhodné, provést výzkum ještě u dalších druhů a skupin plžů a zaměřit se podrobněji i na faktory, které dispersi mohou ovlivňovat. Tyto poznatky by mohly být důležité pro ochranu sladkovodních plžů a pro výzkum interakcí s jejich parazity - motolicemi.

Tato rešerše by kromě shrnutí poznatků o dispersi sladkovodních plžů měla sloužit také jako podklad k mé diplomové práci. V té se budu zabývat tím, jak disperse ovlivňuje genetickou strukturu populací levotočky bažinné (*Aplexa hypnorum*).

6. Seznam literatury

- Alonso, A. a Castro-Díez, C. P.** (2008): What explains the invading success of the aquatic mud snail *Potamopyrgus antipodarum* (Hydrobiidae, Mollusca)? *Hydrobiologia* 614, 107-116.
- Alyakrinskaya, I. O.** (2004): Resistance to Drying in Aquatic Mollusks. *Biology Bulletin* 31, 299-309.
- Avise, J. C.** (2000): Phylogeography. The history and formation of species. Harvard University Press. Cambridge. 447 s.
- Avise, J. C.** (2004): Molecular Markers, Natural History, and Evolution. *Sinauer, Sunderland*. 684 s.
- Baker, F.** (1934): A conchological Rip Van Winkle. *Nautilus* 48, 5-6.
- Ballard, J. W. O. a Whitlock, M. C.** (2004): The incomplete natural history of mitochondria. *Molecular Ecology* 13, 729-744.
- Baur, B. a Baur A.** (1995): Habitat-Related Dispersal in the Rock-Dwelling Land Snail *Chondrina* klienta. *Ecography* 18, 123-130.
- Beerli, P. a Felsenstein, J.** (1999): Maximum-Likelihood Estimation of Migration Rates and Effective Population Numbers in Two Populations Using a Coalescent Approach. *Genetics* 152, 763-773.
- Begon, M., Townsend a C. R., Harper, J. L.** (2006): Ecology: from individuals to ecosystems. *Blackwell Publishing, Malden*, 752 s.
- Benard, M. F.** Water bug with hitchhiking snail [online], poslední aktualizace 29. ledna 2010, citováno 8. 8. 2010. Dostupné na:
http://www.mister-toad.com/photos/inverts/belostoma_limpet_01.html
- Benke, M, Brändle, M, Albrecht, C., Wilke, T.** (2009): Pleistocene phylogeography and phylogenetic concordance in cold-adapted spring snails (*Bythinella* spp.). *Molecular Ecology* 18, 890-903.
- Beran, L.** (1998): Vodní měkkýši ČR. *ZO ČSOP Vlašim, Vlašim*. 113 s.
- Beran L.** (2006): Unintentional introduction of aquatic molluscs from Poland to Prague (Czech Republic). *Malacologica Bohemoslovaca* 5, 6-9.
- Bilton, D. T., Freeland, J. R. a Okamura, B.** (2001): Dispersal in freshwater invertebrates. *Annual Review of Ecology and Systematics* 32:159-181.
- Binney, A.** (1851): The terrestrial air-breathing mollusks of the United States, and the adjacent territories of North America. Vol. 1. *Little & Brown, Boston*. 366 + XVII s.
- Bohonak, A. J.** (1999): Dispersal, Gene Flow and Population Structure. *The Quarterly Review of Biology* 74, 21-45.
- Bohonak, A. J. a Roderick G. K.** (2001): Dispersal of invertebrates among temporary ponds: are genetic estimates accurate? *Israel Journal Of Zoology* 47, 367-386.
- Bohonak, A. J. a Jenkins, D. G.** (2003): Ecological and evolutionary significance of dispersal by freshwater invertebrates. *Ecology Letters* 6: 783-796.
- Bousset, L, Henry, P.-Y., Sourrouille a P. a Jarne, P.** (2004): Population biology of the invasive freshwater snail *Physa acuta* approached through genetic markers, ecological characterization and demography. *Molecular Ecology* 13, 2023-2036.
- *Bowler, P.** (1991): The rapid spread of the freshwater Hydrobiid snail *Potamopyrgus antipodarum* (Gray) in the Middle Snake River, Southern Idaho. *Proceeding of the Desert Fishes Council* 21, 173-182.
- Brown, D. S.** (1994). Freshwater Snails of Africa and their Medical Importance. *Taylor & Francis Ltd, London*.
- Brown, R. J.** (2007): Freshwater Mollusks Survive Fish Gut Passage. *Arctic* 60, 124-128.
- Brusca, R. C. a Brusca, G. J.** (2003): Invertebrates.— *Sinauer Associates, Sunderland*. 936 + XIX s.
- Bullock, J. M., Kenward, R. E. a Hails, R. S.** (eds.) (2002): Dispersal ecology: the 42nd Symposium of the British Ecological Society. *Blackwell, Malden, Massachusetts*. 1 458 + XVII s.

- Bunje, P. M. E.** (2005): Pan-European phylogeography of the aquatic snail *Theodoxus fluviatilis* (Gastropoda: Neritidae). *Molecular Ecology* 14, 4323–4340.
- Cácares, C. E.** (1997): Dormancy in Invertebrates. *Invertebrate Biology* 116, 371-383.
- Campbell, G., Noble, L. R., Rollinson, D., Southgate, V. R., Webster, J. P., a Jones, C. S.** (2010): Low genetic diversity in a snail intermediate host (*Biomphalaria pfeifferi* Krass, 1848) and schistosomiasis transmission in the Senegal River Basin. *Molecular Ecology* 19, 241-256.
- Charalambidou, I. a Santamaría, L.** (2002): Waterbirds as endozoochorous dispersers of aquatic organisms: a review of experimental evidence. *Acta Oecologica* 23, 165-176.
- Charbonnel, N., Razatavonjizay, R., Bremond, P. a Jarne, P.** (2002) Evolutionary aspects of the metapopulation dynamics of *Biomphalaria pfeifferi*, the intermediate host of *Schistosoma mansoni*. *Journal of Evolutionary Biology*, 15, 248-261.
- Chlyeh, G., Henry, P.-Y., Sourrouille, P., Delay, B., Khallaayoune, K. a Jarne P.** (2002): Population genetics and dynamics at short spatial scale in *Bulinus truncatus*, the intermediate host of *Schistosoma haematobium*, in Morocco. *Parasitology* 125, 349-357.
- Clobert, J., Danchin, E., Dhondt, A. A. a Nichols, J. D.** (eds) (2001): Dispersal. *Oxford University Press, New York*. 452 s.
- Covich, A. P.** (2010): Winning the biodiversity arms race among freshwater gastropods: competition and coexistence through shell variability and predator avoidance. *Hydrobiologia* 653, 191-215.
- Čejka, T.** (2008): Mäkkýše na cestách. *Malacological bulletin*, <http://malbull.blogspot.com/2008/07/cardium-attached-at-foot-of-sterna-sp.html> (14.7.2008).
- Darwin, C.** (1859): On the origin of species by means of natural selection. *John Murray, London*. 502 s.
- Dazo, B. C., Hairston, N. G a Dawood, I. K.** (1966): The Ecology of *Bulinus truncatus* and *Biomphalaria alexandrina* and its Implications for the Control of Bilharziasis in the Egypt-49 Project Area. *Bulletin of the World Health Organization* 35, 339-356.
- Debrot, A. O.**(1990): Temporal aspects of population dynamics and dispersal behavior of the West Indian topshell, *Cittarium pica* (L.), at selected sites in the Exuma Cays: Bahamas. *Bulletin of Marine Science*. 47, 431-447.
- Deliagina, T. G., Orlovsky, G. N.** (1990): Control of Locomotion in the Freshwater Snail *Planorbis Corneus* : I. Locomotory Repertoire of the Snail. *Journal of Experimental Biology* 152, 389-404.
- Dillon, R. T., Jr.** (2000): The Ecology of Freshwater Molluscs. *Cambridge University Press, Cambridge*, 509 s.
- Dillon, R. T., Jr., Wehington, A. R.** (2006): The Michigan Physidae revisited: a population genetic survey. *Malacologia*: 48, 133-142.
- Dubois, M.-P., Nicot, A., Jarne, P. a David, P.** (2008): Characterization of 15 polymorphic microsatellite markers in the freshwater snail *Aplexa marmorata* (Mollusca, Gastropoda). *Molecular Ecology Resources* (2008) 8, 1062-1064.
- Edelstam, C. a Palmer, C.** (1950): Homing behaviour in gastropods. *Oikos* 2, 259-270.
- Figuerola, J. a Green, A. J.** (2002a): Dispersal of aquatic organisms by waterbirds: a review of past research and priorities for future studies. *Freshwater Biology* 47, 483-494.
- Figuerola, J. & Green, A. J.** (2002b): How frequent is external transport of seeds and invertebrate eggs by waterbirds? a study in Doñana, SW Spain. *Archiv für Hydrobiologie*, 155, 557-565.
- Foltan, P. a Konvicka, M.** (2008): a new method for marking slugs by ultraviolet-fluorescent dye. *Journal of Molluscan Studies* 74, 293-297.
- Freeland, J. R.** (2005): Molecular Ecology. *John Wiley & Sons, Chichester*. 400 s.
- Genner, M. J., Todd, J.A., Michel, E., Erpenbeck, D., Jimoh, A., Joyce, D.A., Piechocki, A. a Pointier, J.P.** (2007): Amassing diversity in an ancient lake: evolution of a morphologically diverse parthenogenetic gastropod assemblage in Lake Malawi. *Molecular Ecology* 16, 517-530.

- Giokas, S. a Mylonas, M.** (2004): Dispersal patterns and population structure of the land snail *Albinaria coerulea* (Pulmonata: Clausiliidae). *Journal of Molluscan Studies* 70, 107-116.
- Gittenberger, E, Groenenberg, D. S. J., Kokshoorn, B. a Preece, R.C.** (2006): Molecular trails from hitch-hiking snails. *Nature* 439, 409.
- Grande, C., Templado, J. a Zardoya, R.** (2008): Evolution of gastropod mitochondrial genome arrangements. *BMC Evolutionary Biology* 61.
- Green, A. J., Figuerola, J. a Sánchez, M. I.** (2002): Implications of waterbird ecology for the dispersal of aquatic organisms. *Acta Oecologica* 23, 177-189.
- Green, A. J. a Figuerola, J.** (2005): Recent advances in the study of longdistance dispersal of aquatic invertebrates via birds. *Diversity and Distributions* 11, 149-156.
- Grimm, B.** (1996): a new method for individually marking slugs (*Arion lusitanicus* (Mabille)) by magnetic transponders. *Journal of Molluscan Studies* 62, 477-482.
- Hanski, I., Alho, J. a Moilanen A.** (2000): Estimating the Parameters of Survival and Migration of Individuals in Metapopulations. *Ecology* 81, 239-251.
- Hedrick, P. W.** (2011): Genetics of populations. *Jones & Bartlett Learning, Sudbury*, 675 s.
- *Henry, P.-Y.** (2002) Dynamique des populations et évolution du système de reproduction. Etude chez le gastéropode *Physa acuta* (Pulmoné). PhD Thesis, Université Montpellier II, France.
- Henry, P.-Y., Pradel, R. a Jarne, P.** (2004): Environment-dependent inbreeding depression in a hermaphroditic freshwater snail. *Journal of Evolutionary Biology* 16, 1211-1222.
- Henry, P.-Y. a Jarne, P.** (2007): Marking hard-shelled gastropods: tag loss, impact on life-history traits, and perspectives in biology. *Invertebrate Biology* 126, 138-153.
- Holsinger, K. E., a Weir, B. S.** (2009). Genetics in geographically structured populations: defining, estimating, and interpreting F_{ST} . *Nature Reviews Genetics* 10, 639-650.
- Hurtrez-Bousses, S., Hurtrez J.-E., Turpin, H., Durand, C., Durand, P., De Meeu T., Meunier C. a Renaud, F.** (2010): Hydrographic network structure and population genetic differentiation in a vector of fasciolosis, *Galba truncatula*. *Infection, Genetics and Evolution* 10, 178-183.
- Huryn, A. D. a Denny, M. W.** (1997): a Biomechanical Hypothesis Explaining Upstream Movements by the Freshwater Snail *Elimia*. *Functional Ecology* 11, 472-483.
- Johnson, M. S. a Black, R.** (1998): Increased genetic divergence and reduced genetic variation in populations of the snail *Bembicium vittatum* in isolated tidal ponds. *Heredity* 80, 163-172.
- Jokinen, E.H.** (1983): The Freshwater Snails of Connecticut. Bulletin 109. *State Geological and Natural History Survey of Connecticut, Hartford*, 83 s.
- Jopp, F.** (2006): Comparative studies on the dispersal of the Great Ramshorn (*Planorbarius corneus* L.): a modelling approach. *Limnologica* 36, 17-25.
- Kew, H.W.** (1893): The Dispersal of Shells: An Inquiry into the Means of Dispersal Possessed by Fresh-Water and Land Mollusca. *Kegan Paul, Trench, Trubner & Co., Ltd., London*, 291 s.
- Kimura, M.** (1953): „Stepping Stone“ model of population. Annual report of the National Institute of Genetics Japan 3, 62-63.
- Kirchner, C., Krätzner, R. a Welter-Schultes, F. W.** (1997): Flying snails-how far can *Truncatellina* (Pulmonata: Vertiginidae) be blown over sea? *Journal of Molluscan Studies* 63, 479-487.
- Lee, S., Bush, J. W. M., Hosoi, A. E. a Lauga E.** (2008): Crawling beneath the free surface: Water snail locomotion. *Physics of Fluids* 20, 082106.
- Liu, H. P. a Hershler, R.** (2007): a test of the vicariance hypothesis of Western North American freshwater molluscan biogeography. *Journal of Biogeography* 34, 534-548.
- Liu, L., Mondal, M. M. H., Idris, M. A., Lokman, H. S., Jayanthe Rajapakse, P. R. V., Satrija, F., Diaz, J. L., Suchart Upatham, E. a Attwood, S. W.** (2010): The phylogeography of *Indoplanorbis exustus* (Gastropoda: Planorbidae) in Asia. *Parasites & Vectors* 3, 57.

- Lively, C. M. a Dybdahl, M. F.** (2000): Parasite adaptation to locally common host genotypes. *Nature* 405, 679-681.
- Lydeard, Ch., Cowie, R. H., Ponder, W. F., Bogan, A. E., Bouchet, P., Clark, S. A., Cummings, K. S., Frest, T. J., Gargominy, O., Herbert, D. G., Hershler, R., Perez, K. E., Roth, B., Seddon, M., Strong, E. E., a Thompson, F. G.** (2004): The Global Decline of Nonmarine Mollusks. *BioScience* 54, 321-330.
- Malone, C. R.** (1965a): Killdeer (*Charadrius vociferus* Linnaeus) as a Means of Dispersal for Aquatic Gastropods. *Ecology* 46, 551-552.
- Malone, C. R.** (1965b): Dispersal of aquatic gastropods via the intestinal tract of water birds. *Nautilus* 78, 135-139.
- Martin, S. M.** (1999): Freshwater Snails (Mollusca: Gastropoda) of Maine. *Northeastern Naturalist* 6, 39-88.
- *Marsh, P. C.** (1980): An occurrence of high behavioral drift for a stream gastropod. *The American Midland Naturalist* 104, 410-411.
- Mavárez, J., Pointier, J.-P., David, P., Delay, B. a Jarne, P.** (2002): Genetic differentiation, dispersal and mating system in the schistosome-transmitting freshwater snail *Biomphalaria glabrata*. *Heredity* 89, 258-265.
- *McAtee, W.L.** (1914): Birds transporting food supplies. *Auk* 31, 404-405.
- Meudt, H. M., Clarke, A. C.** (2007): Almost forgotten or latest practice? AFLP applications, analyses, and advances. *Trends in Plant Science* 12, 106-117.
- Micheli, F., Peterson, C. H., Mullineaux, L. S., Fisher, C. R., Mills, S. W., Sancho, G., Johnson, G. A. a Lenihan, H. S.** (2002): Predation Structures Communities at Deep-Sea Hydrothermal Vents. *Ecological Monographs* 72, 365-382.
- Miller, M. P., Weigel, D.E. a Mock, K. E.** (2006): Patterns of genetic structure in the endangered aquatic gastropod *Valvata utahensis* (Mollusca: Valvatidae) at small and large spatial scales. *Freshwater Biology* 51, 2362-2375.
- Morgan, J. A. T., Dejong, R. J., Snyder, S. D., Mkoji, G.M. a Loker, E. S.** (2001): *Schistosoma mansoni* and *Biomphalaria*: past history and future trends. *Parasitology* 123, S211-S228.
- Naef-Daenzer, B., Früh, D., Stalder, M., Wetli, P. a Weise, E.** (2005): Miniaturization (0-2g) and evaluation of attachment techniques of telemetry transmitters. *Journal of Experimental Biology* 208, 4063-4068.
- Nathan, R.** (2001): The challenges of studying dispersal. *Trends in Ecology and Evolution* 16, 481-483.
- Nathan, R., Perry, G., Cronin, J. T., Strand, A. E. a Cain, M. L.** (2003): Methods for estimating long-distance dispersal. *Oikos* 103, 261-273.
- Negovetich, N. J. a Esch, G. W.** (2008): Life history cost of trematode infection in *Helisoma anceps* using mark-recapture in Charlie's pond. *The Journal of Parasitology* 94, 314-325.
- Neigel, J. E.** (2002): Is F_{ST} obsolete? *Conservation Genetics* 3, 167-173.
- Ohbayashi-Hodoki, K., Ishihama, F., a Shimada, M.** (2004): Body size-dependent gender role in a simultaneous hermaphrodite freshwater snail, *Physa acuta*. *Behavioral Ecology* 15, 976-981.
- Oregon Sea Grant** (2009): New Zealand Mudsnailed. How to Prevent the Spread of New Zealand Mudsnailed through Field Gear, *Oregon State University*. Dostupné online <<http://seagrant.oregonstate.edu/sgpsubs/onlinepubs/g10001.pdf>>
- Otchoumou, A., Dupont-Nivet, M., Atchibri, L. O. A. a Dosso, H.** (2010): Body proportions and chemical composition of wild and reared edible snails of Ivory Coast. *Italian journal of food science* 22 (1), 105-110.
- Owen, D. F.** (1962): *Helisoma anceps* transported by a giant water bug. *Nautilus* 75, 124-125.
- Pugh, P. J. A. a Scott, B.** (2002): Biodiversity and biogeography of non-marine Mollusca on the islands of the Southern ocean. *Journal of Natural History* 36: 927-952.

- Piechocki, A.** (1979): Mieczaki (Mollusca), Slimaki (Gastropoda).-Fauna Slodkowodna Polski 7. *Panstwowe Wydaw. Naukowe, Warszawa-Poznań*, 187 s.
- Rees, W.J.** (1965): The aerial dispersal of mollusca. *Proc. Malac. Soc. London* 36: 269-282.
- Ribi, G.** (1986): Within-lake dispersal of prosobranch snails, *Viviparus ater* a *Potamopyrgus jenkinsi*. *Oecologia* 69, 60-63.
- *Ribi, G. a Arter, H.** (1986): Ausbreitung der Schneckenart *Potamopyrgus jenkinsi* im Zürichsee von 1980 bis 1984. *Vierteljahrsschrift der Naturforschenden Gesellschaft in Zürich* 131, 52-57.
- Richter, K. O.** (1976): a method for individually marking slugs. *Journal of Molluscan Studies* 42, 146-151.
- Rivera, J. C. R.** (2008): Obstruction of the upstream migration of the invasive snail *Cipangopaludina chinensis* by high water currents. BIOS 35502: Practicum in Field Biology, 13 s. (pracovní text k praktiku).
- Roscoe, E. J. (1955):** Aquatic snails found attached to feathers of White-faced Glossy Ibis. *Wilson Bulletin*, 67, 66.
- Rosenberg, N. A. a Nordborg, M.** (2002): Genealogical trees, coalescent theory, and the analysis of genetic polymorphisms. *Nature Reviews Genetics* 3, 380-390.
- Rosewater, J.** (1970): Another record of insect dispersal of an ancyloid snail. *Nautilus* 83, 144-145.
- Santamaría, L. a Klaassen, M.** (2002): Waterbird-mediated dispersal of aquatic organisms: an introduction. *Acta Oecologica* 23, 115-119.
- Sargent, T.D., Millar, C.D. a Lambert, D.M.** (1998): The "classical" explanation of industrial melanism: assessing the evidence. *Evolutionary Biology* 30, 299-322.
- Schilthuizen, M. a Lombaerts, M** (1994): Population Structure and Levels of Gene Flow in the Mediterranean Land Snail *Albinaria corrugata* (Pulmonata: Clausiliidae). *Evolution* 48, 577-586.
- Schneider, D. W. a Frost, T. M.** (1986): Massive upstream migrations by a tropical freshwater neritid snail. *Hydrobiologia* 137: 153-157.
- Schneider, D. W. a Lyons, J.** (1993): Dynamics of Upstream Migration in Two Species of Tropical Freshwater Snails. *Journal of the North American Benthological Society* 12, 3-16.
- Selkoe, K. A. a Toonen, R. J.** (2006): Microsatellites for ecologists: a practical guide to using and evaluating microsatellite markers. *Ecology Letters* 9, 615-629.
- Severns, P. M.** (2009): a conspicuous, water-resistant ink for marking terrestrial snails *Journal of Molluscan Studies* 75, 93-94.
- Sire, C., Langand, J., Barral, V. a Theron, A.** (2001): Parasite (*Schistosoma mansoni*) and Host (*Biomphalaria glabrata*) Genetic Diversity: Population Structure in a Fragmented Landscape, *Parasitology* 122, 545-554.
- Slatkin, M.** (1985): Rare Alleles as Indicators of Gene Flow. *Evolution* 39, 53-65.
- Städler, T. a Jarne, P.** (1997): Population biology, genetic structure, and mating system parameters in freshwater snails in **Steit, B., Städler, T. a Lively, C. M.** (eds) (1997): Evolutionary ecology of Freshwater Animals. *Birkhäuser Verlag, Basel*. 366 s.
- Stenseth, N. C. a Lidicker Jr., W. Z.** (1992): The study of dipersal: a conceptual guide in **Stenseth, N. Ch. a Lidicker, W. Z.** (eds.) (1992): Animal dispersal: small mammals as a model. *Chapman &Hall, London*. 365 s.
- Strong, E. E., Gargominy, O., Ponder, W. F. a Bouchet, P.** (2008): Global Diversity of Gastropods (Gastropoda; Mollusca) in Freshwater. *Hydrobiologia* 595: 149-166.
- Sturm, C. F., Pearce, T. A. a Valdes, A.** (2006): The Mollusks: a Guide to Their Study, Collection, and Preservation. *American Malacological Society, Pittsburgh*, 445 + XII s.
- Sunnucks P.,** (2000): Efficient genetic markers for population biology. *Trends in Ecology and Evolution* 15, 199-203.

- Taylor, D. W.** (2003): Introduction to Physidae (Gastropoda: Hygrophila); biogeography, classification, morphology. *Revista de Biología Tropical* 51 (Suppl. 1): 1-287.
- Terrier, A, Castella, A., Falkner, G. a Killeen, I. J.** (2006): Species account for *Anisus Vorticulus* (Troschel, 1834) (Gastropoda: Planorbidae), a Species Listed In Annexes II And IV Of The Habitats Directive. *Journal Of Conchology* 39, 193-206.
- Tomiyama, K. a Nakane, M.** (1993): Dispersal patterns of the giant african snail, *Achatina fulica* (Ferussac) (Stylommatophora: Achatinidae), equiped with a radio-transmitter. *Journal of Molluscan Studies* 59, 315-322.
- Tovee, M. J.** (1995) Ultra-violet photoreceptors in the animal kingdom: their distribution and function. *Trends In Ecology & Evolution* 10 : 455-460.
- Trakhtenbrot, A., Nathan, R., Perry, G. a Richardson D. M.** (2005): The importance of long-distance dispersal in biodiversity conservation. *Diversity and Distributions* 11, 173-181.
- Vagvolgyi, J.** (1975): Body Size, Aerial Dispersal, and Origin of the Pacific Land Snail Fauna. *Systematic Zoology* 24, 465-488.
- Vanschoenwinkel, B., Gielen, S., Seaman, M. a Brendonck, L.** (2008a): Any way the wind blows- frequent wind dispersal drives species sorting in ephemeral aquatic communities. *Oikos* 117, 125-134.
- Vanschoenwinkel, B., Waterkeyn, A., Vandecaetsbeek, T., Pineau, O., Grillas, P. a Brendonck, L.** (2008b): Dispersal of freshwater invertebrates by large terrestrial mammals: a case study with wild boar (*Sus scrofa*) in Mediterranean wetlands. *Freshwater Biology* 53, 2264-2273.
- Vasconcelos, P., Gaspar, M. B., Pereira, A. M. a Castro, M.** (2006): Growth rate estimation of *Hexaplex (Trunculariopsis) trunculus* (Gastropoda: Muricidae) based on mark/recapture experiments in the Ria Formosa lagoon (Algarve coast, southern Portugal). *Journal of Shellfish Research* 25 (1), 249-256.
- Vos, P., Hogers, R., Bleeker, M., Reijans, M., de Lee, T., Hornes, M., Frijters, A., Pot, J., Peleman, J., Kuiper, M. a Zabeau, M.** (1995): AFLP: a new technique for DNA fingerprinting. *Nucleic Acids Research* 23, 4407-4414.
- Waterkeyn, A., Pineau, O., Grillas, P. a Brendonck, L.** (2010): Invertebrate dispersal by aquatic mammals: a case study with nutria *Myocastor coypus* (Rodentia, Mammalia) in Southern France. *Hydrobiologia*. Publikováno online 27. 7. 2010. DOI 10.1007/s10750-010-0388-3.
- White, G. C. a Burnham, K.P.** (1999): Program MARK: Survival Estimation from Populations of Marked Animals. *Bird study* 46, S120-S139.
- Wichmann, M.C., Alexander, M.J., Soons, M.B., Galsworthy, S., Dunne, L., Gould, R., Fairfax, C., Niggemann, M., Hails, R.S. a Bullock, J.M.** (2009): Human-mediated dispersal of seeds over long distances. *Proceedings of the Royal Society B* 276, 523-532.
- Wilkinson, S., Emery, A. M., Khamis, I. S., Mgeni, A. F., Stothard, J. R. a Rollinson, D.** (2007): Spatial and temporal population genetic survey of *Bulinus globosus* from Zanzibar: an intermediate host of *Schistosoma haematobium*. *Journal of Zoology* 272. 329-339.
- Wilson, N.G., Rouse, G.W. a Giribet, G.** (2010): Novel molecular data quantifies support for a molluscan clade Serialia (Monoplacophora + Polyplacophora). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 54, 187-193.
- * **Wolda, H.** (1963): Natural populations of the polymorphic landsnail *Cepaea nemoralis* (L.). Factors affecting their size and their genetic constitution. *Archives Nerlandaises de Zoologie* 15, 381-471.
- Woodruff, D.S. a Mulvey, M.** (1997): Neotropical schistosomiasis: African affinities of the host snail *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Planorbidae). *Biological Journal of the Linnean Society* 60, 505-516.
- Worthington Wilmer, J., Elkin, C., Wilcox, C., Murray, L., Neijalke, D. a Possingham, H.** (2008): The influence of multiple dispersal mechanisms and landscape structure on population clustering and connectivity in fragmented artesian spring snail populations. *Molecular Ecology* 17, 3733-3751.

- Wright, S.** (1931): Evolution in Mendelian populations. *Genetics* 16: 97-159.
- Wright, S.** (1943): Isolation by distance. *Genetics* 28: 139-156.
- * **Wright, S.** (1951): The genetical structure of populations. *Annals of Eugenics* 15, 323-353.
- Zaranko, D. T., Farara, D. G. a Thompson, F. G.** (1997): Another exotic mollusc in the Laurentian Great Lakes: the New Zealand native *Potamopyrgus antipodarum* (Gray 1843) (Gastropoda, Hydrobiidae). *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54: 809-814.
- Zhao, Q. P., Jiang, M. S., Littlewood D. T. J. a Nie P.** (2010): Distinct Genetic Diversity of *Oncomelania hupensis*, Intermediate Host of *Schistosoma japonicum* in Mainland China as Revealed by ITS Sequences. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 4, e611.
- Zhou, X., Dandan, L. Huiming, Y., Honggen, C., Leping, S., Guojing, Y., Qingbiao, H., Brown, L. a Malone, J.B.** (2002): Use of landsat TM satellite surveillance data to measure the impact of the 1998 flood on snail intermediate host dispersal in the lower Yangtze River Basin. *Acta Tropica* 82, 199-205.

* sekundární citace