

**Univerzita Karlova v Praze**

**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Obor: Biologie



**Jan Pankrác**

Ontogeneze larválních stádií motolic čeledi Fasciolidae v mezihostitelských plžích  
Ontogenesis of trematode larval stages of the family Fasciolidae in the intermediate snail hosts

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Martin Kašný, Ph.D.

Praha, 2011

### *Poděkování*

Rád bych poděkoval zejména svému školiteli Martinu Kašnému za jeho nekonečnou trpělivost a vstřícnost a dále všem, kdo mě při psaní této práce podporovali.

### **Prohlášení:**

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

V Praze, 18.08.2011

Podpis

1. <b>Abstrakt</b> .....	4
2. <b>Úvod</b> .....	5
3. <b>Základní charakteristika vybraných druhů motolic čeledi Fasciolidae</b> .....	6
4. <b>Vyhledání a penetrace miracidia do meziphostitelského plže</b> .....	7
4.1 Základní morfologické struktury miracidia.....	7
4.2 Vyhledávání meziphostitelského plže.....	9
4.3 Přichycení a penetrace miracidia do meziphostitelského plže.....	10
4.3.1 Přichycení miracidia k povrchu meziphostitelského plže.....	11
4.3.2 Penetrace miracidia do meziphostitelského plže.....	11
5. <b>Ontogenetický vývoj v meziphostitelském plži</b> .....	13
5.1 Přeměna miracidia ve sporocystu a její dozrávání v těle meziphostitelského plže.....	13
5.1.1 Tvorba tegumentu.....	14
5.1.2 Redukční procesy spojené se vznikem a vývojem sporocysty.....	15
5.1.3 Morfologická charakteristika zralé sporocysty.....	15
5.1.4 Migrace sporocysty.....	16
5.2 Morfogeneze a charakteristika produkce redií.....	17
5.2.1 Morfologická charakteristika redie.....	18
5.2.2 Morfogeneze redie.....	20
5.2.3 Produkce redií.....	20
5.2.3.1 Produkce mateřských redií.....	21
5.2.3.2 Produkce dceřiných redií.....	22
5.3 Morfogeneze a charakteristika produkce cercárií.....	24
5.3.1 Morfologická charakteristika cercárie.....	25
5.3.2 Morfogeneze cercárie.....	27
5.3.3 Produkce cercárií.....	27
6. <b>Interakce parazit-meziphostitel</b> .....	29
6.1 Imunitní odpověď meziphostitele.....	30
6.2 Histopatologické projevy doprovázející infekci.....	30
6.3 Gigantismus a kastrace u infikovaných plžů.....	32
7. <b>Závěr</b> .....	33
8. <b>Použitá literatura</b> .....	33

## 1. ABSTRAKT

Čeď Fasciolidae je významnou skupinou motolic zahrnující vážné patogeny člověka a hospodářských zvířat. Z hlediska rozmnožování probíhá životní cyklus těchto motolic ve dvou fázích – pohlavní rozmnožování v definitivním hostiteli (velcí suchozemští savci) a nepohlavní rozmnožování v mezihostiteli (vodní plži čeledi Lymnaeidae a Planorbidae). Vývoj v mezihostitelském plži je charakteristický produkcí velkého množství larválních stádií parazita (sporocysta, redie, cercárie), která jsou po opuštění plže a následné transformaci ve vnějším prostředí (metacercárie) infekční pro definitivního hostitele. Infekci mezihostitelského plže motolicemi doprovází řada převážně negativních vlivů (rozsáhlé patologické změny, které mohou vést ke snížení plodnosti). Shrnutí dosavadních informací týkajících se ontogenetického vývoje motolic čeledi Fasciolidae v mezihostiteli odhaluje, že současné znalosti této části životního cyklu jsou často neúplné a nevyváženě rozložené mezi jednotlivé druhy. Na základě shrnutí lze také vyvodit, které poznatky jsou univerzálně platné a které mezidruhově proměnlivé.

**Klíčová slova:** Fasciolidae, mezihostitel, plž, motolice, miracidium, sporocysta, redie, cercárie, *Fascioloides magna*, *Fasciola hepatica*

## ABSTRACT

The family Fasciolidae is an important group of trematodes including serious pathogens of humans and livestock. The life cycle is divided into two phases – sexual reproduction in the definitive host body (large land mammals) and an asexual reproduction in the intermediate host body (aquatic snails of the family Lymnaeidae and Planorbidae). Development within the snail host is characterized by production of large amounts of parasite larvae (sporocyst, rediae, cercariae). Cercariae released from the snail immediately start to transform into metacercariae, the larval stages infectious for definitive host. Snail phase of infection is generally accompanied by number of mostly negative symptoms (massive pathological changes, often followed by reduction of fertility). This summary reveals that current knowledge concerning the ontogenetic development of fasciolids in the intermediate host is incomplete and unequally investigated. According to this summary is also obvious that some of the published findings are universally valid for all members of the family Fasciolidae and other are characteristic only for particular species

**Key words:** Fasciolidae, intermediate host, snail, trematodes, miracidium, sporocyst, rediae, cercariae, *Fascioloides magna*, *Fasciola hepatica*

## 2. ÚVOD

Čeď Fasciolidae zahrnuje devět veterinárně i medicínsky významných druhů dvouhostitelských motolic podtřidy Digenea. Mezi charakteristické znaky zástupců této čeledi patří listovitý tvar těla, značná velikost dospělců (*Fascioloides magna* může dosahovat délky až 10 cm) a tvorba odolných infekčních stádií zvaných metacerkárie.

Jako definitivní hostitelé v životním cyklu těchto motolic figurují velcí býložraví či všežraví savci (například *Ovis aries* - ovce domácí, *Loxodonta africana* - slon africký nebo *Sus scrofa f. domestica* - prase domácí). V místě definitivní lokalizace, kterým je střevo nebo játra definitivního hostitele, probíhá pohlavní rozmnožování motolice a nakladená vajíčka odcházejí společně s trusem do vnějšího prostředí.

Mezihostiteli jsou vodní plži čeledi Lymnaeidae (plovatkovití) a Planorbidae (okružákovití), v nichž je vývoj lokalizován zejména v oblasti hepatopankreatu. Nepohlavní rozmnožování v mezihostitelském měkkýši je nezbytnou součástí životního cyklu všech druhů čeledi Fasciolidae, podobně jako většiny motolic podtřidy Digenea. U motolic čeledi Fasciolidae se jedná o složitý proces probíhající přes stádium sporocysty a redie, v níž postupně dochází k tvorbě velkého množství infekčních stádií – cercárií. Ty se po opuštění plže encystují na pevném podkladu ve formě metacerkárií sloužících k perorální infekci definitivního hostitele. Schopnost parazita produkovat do prostředí velký počet infekčních stádií významně zvyšuje pravděpodobnost nákazy definitivního hostitele a tím i zdárné dokončení celého životního cyklu (Obr. 1).

Tato práce shrnuje současné znalosti ontogenetického vývoje motolic čeledi Fasciolidae právě v mezihostitelských plžích se zaměřením na patogeny medicínsky a veterinárně nejvýznamnější a také nejprozkoumanější – *Fasciola hepatica* (Linné, 1758), *Fasciola gigantica* (Cobbold, 1856), *Fasciolopsis buski* (Lankester, 1857) a *Fascioloides magna* (Bassi, 1875).

Cíle této práce jsou:

- A. Zpracovat dostupnou literaturu a informace týkající se ontogenetického vývoje larválních stádií motolic čeledi Fasciolidae (zejména *F. magna* a dále např. *Fasciola hepatica*, *Fasciola gigantica*, *Fasciolopsis buski*) v mezihostitelských plžích (zejména čeledi Lymnaeidae).**
- B. Na základě dostupné literatury definovat významné faktory interakce parazit-mezihostitel (zejména *F. magna* x *Galba truncatula*).**

### 3. ZÁKLADNÍ CHARAKTERISTIKA VYBRANÝCH DRUHŮ MOTOLIC ČELEDI FASCIOLIDAE

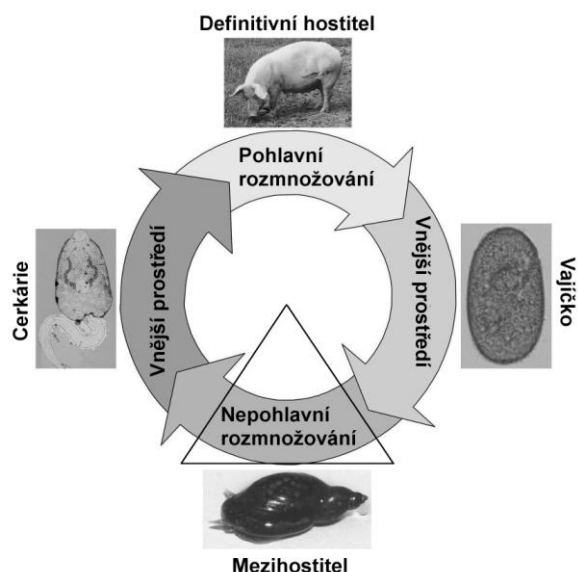
Pouze čtyři z celkového počtu devíti druhů motolic čeledi Fasciolidae – *F. hepatica*, *F. gigantica*, *F. buski* a *F. magna* - jsou z pohledu člověka považovány za opravdu významné. Zvýšený zájem o studium těchto druhů vedl také k bližšímu poznání jejich vývoje v mezihostitelském plži.

Jak už bylo řečeno, motolice *F. hepatica* a *F. gigantica* jsou veterinárně i medicínsky velmi důležité. Dospělci parazitují ve žlučovodech ovcí, skotu (Dixon, 1964, Mungube a kol., 2006) i člověka (Stemmermann, 1953, Acosta-Ferreira a kol., 1979). Přestože člověk nepředstavuje jejich zcela typického definitivního hostitele (zejména u *F. gigantica*), je prevalence lidské fasciolózy v některých oblastech světa vysoká (např. *F. hepatica* v Bolívii) (Parkinson a kol., 2007).

Další velmi významnou motolicí je *F. buski* parazitující ve střevě prasat a lidí. K pravidelným nálezům lidské fasciolopsiózy dochází v některých oblastech Jižní a Jihovýchodní Asie (Kuntz a Lo, 1967, Yu a Mott, 1994); ačkoli může působit velmi závažná onemocnění, je její výzkum v porovnání s motolicemi rodu *Fasciola* značně opomíjen.

Poslední motolicí čeledi Fasciolidae, jejíž vývoj v mezihostitelském plži byl podrobněji studován, je *F. magna*. Jedná se o parazita s lokalizací v parenchymu jater přežvýkavců čeledi Cervidae (jelenovití) (Foreyt a Todd, 1976), který byl v druhé polovině 19. století zavlečen ze Severní Ameriky do Evropy. Dosud není znám žádný případ infekce člověka touto motolicí a její význam je tedy pouze veterinární.

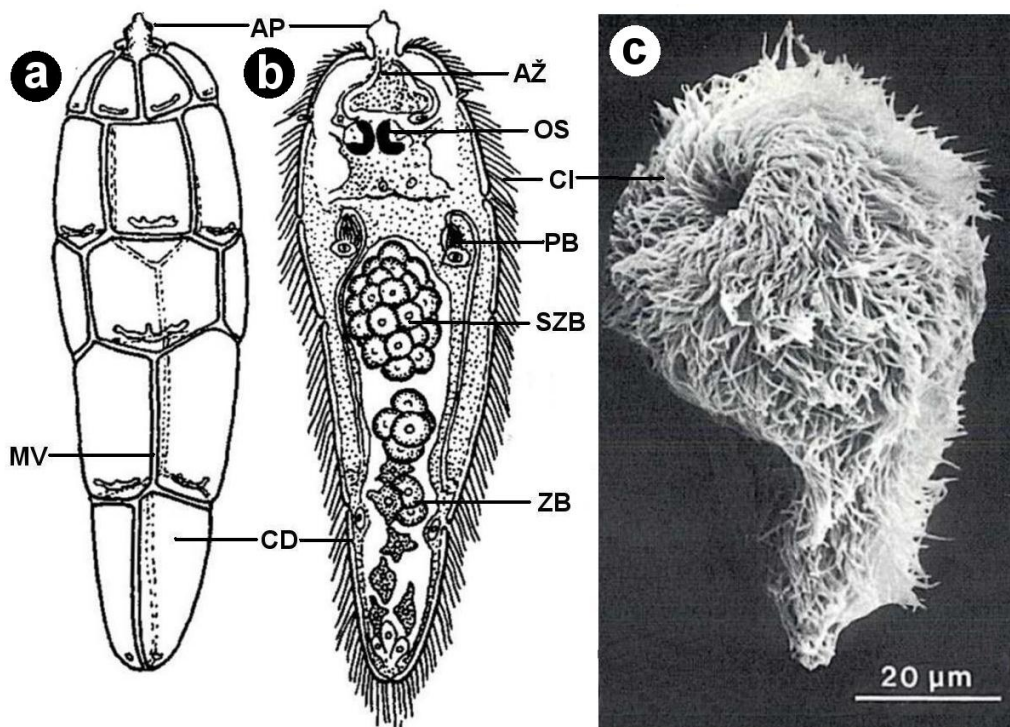
**Obr. 1.** Schéma životního cyklu motolic čeledi Fasciolidae (J. Pankrác).



## 4. VYHLEDÁNÍ A PENETRACE MIRACIDIA DO MEZIHOSTITELSKÉHO PLŽE

Obrvené larvy - miracidia motolic čeledi Fasciolidae (Obr. 2b,c) se po vylíhnutí z vajíčka aktivně pohybují a vyhledávají meziphostitelského plže, do kterého následně pronikají. Miracidia nepřijímají potravu a meziphostitele musí nalézt dříve (řádově v hodinách po vylíhnutí) než dojde ke spotřebování jejich energetických zásob glykogenu (Thomas, 1883, Dinnik a Dinnik, 1956, Wilson, 1969a). Meziphostiteli jsou plži čeledi Lymnaeidae nebo Planorbidae (Tab. 1) (Lotfy a kol., 2008).

**Obr. 2.** Miracidium. **a** – uspořádání ciliárních destiček miracidia motolice *F. gigantica* (cilie nejsou zobrazeny) (Dinnik a Dinnik, 1956, upravil J. Pankrác), **b** – podélný řez miracidiem *F. gigantica* (Dinnik a Dinnik, 1956, upravil J. Pankrác), **c** – miracidium *F. hepatica* (skenovací elektronový mikroskop, SEM) (Køie a kol., 1976, upravil J. Pankrác). **AŽ** – apikální žláza, **CD** – ciliární destička, **CI** – cilie, **MV** – mezibuněčný val, **OS** – oční skvrna, **PB** – plaménková buňka, **SZB** – shluk zárodečných buněk, **ZB** – zárodečná buňka.



### 4.1 Základní morfologické struktury miracidia

Miracidia motolic čeledi Fasciolidae mají vzhled podlouhlých, obrvených larev (Obr. 2b,c). Pokud neuvažujeme jejich velikost pohybující v rozmezí 0,10-0,21 mm (Thomas, 1883, Barlow, 1925, Dinnik a Dinnik, 1956, Campbell, 1961, Dinnik a Dinnik, 1961, Køie a kol., 1976), jsou si navzájem velmi podobná (Swales, 1935). Na povrchu se nacházejí ploché epidermální buňky,

kteře nesou množství cilií (Obr. 2b,c), a proto bývají označovány také jako ciliární destičky. Kmitání cilií zajišťuje miracidium pohyb. U motolic čeledi Fasciolidae obvykle nacházíme 21 ciliárních destiček uspořádaných v 5 příčných řadách podle vzorce 6/6/3/4/2 (Obr. 2a) (Dinnik a Dinnik, 1956, Campbell, 1961, Dinnik a Dinnik, 1961, Wilson, 1969b). Výjimkou je motolice *F. buski*, jejíž 30 ciliárních destiček je uspořádáno v 5 řadách podle vzorce 6/6/6/6/6 (Barlow, 1925).

Ciliární destičky jsou připojeny prostřednictvím pevných spojů („tight junctions“) k vrstvě příčně uložených svalových vláken ležících pod nimi. Ke vzájemnému kontaktu ciliárních destiček nedochází, neboť jsou odděleny výběžky cytoplazmy buněk subepidermální vrstvy ležící pod svalovými vrstvami. Tyto výběžky, označované jako mezibuněčné valy (Obr. 2a), jsou připojeny k ciliárním destičkám přes spoje nazývané „septate desmosomes“ (Southgate, 1970b). U miracidia motolice *F. hepatica* se nacházejí na mezibuněčném valu mezi první a druhou řadou ciliárních destiček dvě laterální papily a šest obrvených nervových zakončení. Tyto struktury mají pravděpodobně funkci receptorů (Køie a kol., 1976).

Miracidium motolice *F. magna* je morfologicky velmi podobné miracidium motolice *F. hepatica* (Swales, 1935). Přední část miracidia označovaná jako apikální papila (syn. terebratorium) je v klidovém stavu vchlípena (Obr. 2c). K jejímu vychlípění (Obr. 2a,b) dochází až se zahájením penetrace miracidia do mezihostitelského plže (Coil, 1981). V anteriorní části těla miracidia se nachází apikální žláza (Obr. 2b) a laterálně umístěná párová penetrační žláza (Erhardová-Kotrlá, 1971). Sekreční produkty těchto žláz slouží k degradaci povrchových tkání plže v průběhu penetrace (Coil, 1981). Dalšími strukturami vyplňujícími přední část těla miracidia je oční skvrna (Obr. 2b) a centrální ganglion nepravidelně kulovitého tvaru (Campbell, 1961, Erhardová-Kotrlá, 1971). Laterálně od středu těla leží pár plaménkových buněk (Obr. 2b) - součást protonefridiálního systému miracidia (Swales, 1935). Posteriořní část těla je vyplněna čtyřmi až šesti shluky zárodečných buněk (Obr. 2b) různého tvaru a velikosti, které představují základ pro vznik budoucích mateřských redií (viz níže) (Campbell, 1961, Erhardová-Kotrlá, 1971). V tomto ohledu se miracidium motolice *F. magna* liší od miracidia motolice *F. hepatica*, u kterého byly v posteriořní části těla pozorovány pouze jednotlivé zárodečné buňky (Thomas, 1883).



**Tab. 1.** Vnímavost vybraných zástupců mezihostitelských plžů k nákaze motolicemi čeledi Fasciolidae. **R** – zaznamenána přítomnost volných redií v těle plže, **RC** - zaznamenána přítomnost volných redií a cercárií v těle plže, **FH** – *F. hepatica*, **FG** – *F. gigantica*, **FB** – *F. buski*, **FM** – *F. magna*. Pozn. Druhová jména plžů (synonyma) se záměrně shodují s těmi, které použili autoři výše uvedených prací a mohou být proto zastaralá.

	<b>FH</b>	<b>FG</b>	<b>FB</b>	<b>FM</b>	
<i>Galba truncatula</i> (Müller, 1774)	RC	RC		RC	(Rakotondravao a kol., 1992, Faltýnková a kol., 2006, Caron a kol., 2007)
<i>Pseudosuccinea columella</i> (Say 1817)	RC	RC		R	(Alicata, 1953, Gutiérrez a kol., 2002, Pointier a kol., 2007)
<i>Lymnaea stagnalis</i> (Linnaeus, 1758)	RC			RC	(Kendall, 1949, Griffiths, 1973)
<i>Fossaria cubensis</i> (Pfeiffer, 1839)	RC			R	(Isseroff a Smith, 1978, Faltýnková a kol., 2006)
<i>Omphiscola glabra</i> (Müller, 1774)	RC			RC	(Dreyfuss a kol., 2007)
<i>Lymnaea viridis</i> (Quoy a Gaimard, 1832)	RC				(Lee a kol., 1995)
<i>Lymnaea viatrix</i> (Orbigny, 1835)	RC				(Cucher a kol., 2006)
<i>Radix labiata</i> (Rossmässler, 1835)	RC				(Caron a kol., 2007)
<i>Radix balthica</i> (Linnaeus, 1758)	R				(Caron a kol., 2007)
<i>Lymnaea natalensis</i> (Krauss, 1848)		RC			(Dinnik a Dinnik, 1956, Rao, 1966)
<i>Fossaria ollula</i> (Gould 1859)		RC			(Alicata a Swanson, 1937)
<i>Lymnaea rufescens</i> (Gray, 1820)		RC			(Rao, 1966)
<i>Fossaria parva</i> (Lea, 1841)				RC	(Swales, 1935)
<i>Galba modicella</i> (Say, 1825)				RC	(Griffiths, 1973)
<i>Galba bulimoides techella</i> (Haldeman, 1867)				RC	(Krull, 1933)
<i>Radix peregra</i> (Müller, 1774)				RC	(Faltýnková a kol., 2006)
- // -				R	(Erhardová-Kotrlá, 1971)
<i>Stagnicola palustris</i> (Müller, 1774)				RC	(Griffiths, 1955)
<i>Stagnicola caperata</i> (Say, 1829)				RC	(Griffiths, 1959)
<i>Radix peregra ovata</i> (Draparnaud, 1805)				R	(Erhardová-Kotrlá, 1971)
<i>Stagnicola palustris nuttalliana</i> (Lea, 1841)				RC	(Swales, 1935)
<i>Hippeutis umbilicalis</i> (Benson, 1836)			RC		(Graczyk a kol., 2000)
<i>Segmentina trochoidea</i> (Benson, 1836)			RC		(Graczyk a kol., 2000)
<i>Segmentina hemisphaerula</i> (Benson, 1842)			RC		(Lo, 1967)
<i>Planorbis schmackeri</i> (Clessin, 1886)			RC		(Barlow, 1925)
<i>Segmentina nitidellus</i> (Martens, 1877)			RC		(Barlow, 1925)
<i>Planorbis coenosus</i> (Benson, 1850)			RC		(Nakagawa, 1922)
<i>Segmentina largillierti</i> (Benson, 1842)			RC		(Nakagawa, 1922)

## 4.2 Vyhledávání mezihostitelského plže

U mnoha druhů jednotlivých čeledí motolic bylo pozorováno, že miracidia aktivně vyhledávají mezihostitelské plže na základě chemických signálů, kdy je uplatňován pohyb ve směru vzrůstajícího chemického gradientu – pozitivní chemotaxe (Kalbe a kol., 1996, 1997, Haberl a kol., 2000).

Takové chování bylo pozorováno i u miracidii motolic čeledi Fasciolidae (konkrétně u motolice *F. hepatica*) v podobě reakce na změny chemického gradientu glykoproteinů

(„miracidia-attracting glycoproteins“, zkr. MAGs) uvolňovaných plži do vodního prostředí (Kalbe a kol., 1997, 2000). Bližší chemická analýza MAGs odhalila, že se pravděpodobně jedná o glykoproteiny mucinového typu (silně glykosilované proteiny schopné vytvářet gelové struktury) s přibližnou molekulovou hmotností 1000 kDa (Kalbe a kol., 2000). Struktura uvolňovaných glykokonjugátů je pro jednotlivé druhy plžů specifická (Kalbe a kol., 1997), což pravděpodobně umožňuje miracidii vyhledat specifického meziphostitele (tj. meziphostitele, ve kterém je daný druh motolice schopen dokončit svůj vývoj) a zároveň nereagovat na meziphostitele nespecifického (Kalbe a kol., 1996, 1997, Haberl a kol., 2000). Experimentálně bylo např. prokázáno, že miracidia motolice *F. hepatica* vyhledávají výhradně plže čeledi Lymnaeidae (Nansen a kol., 1976), přičemž uplatňují dva základní vzorce chování. V případě, že miracidium registruje zvyšující se gradient glykokonjugátů, reaguje častějšími změnami pohybu. Pokud se naopak pohybuje ve směru snižujícího se gradientu, otáčí se a vrací se zpět směrem ke zdroji (Kalbe a kol., 1997). K jinému závěru došli autoři při pozorování miracidii motolice *F. magna*. Miracidia tohoto druhu motolice žádné vzorce chování nevykazovala a v přítomnosti specifického meziphostitele se pohybovala nahodile (Campbell a Todd, 1955).

Navzdory výše uvedeným faktům je známo, že miracidia motolice *F. hepatica* v menší míře penetrují i do nespecifických meziphostitelů, což ve smíšených populacích plžů vede ke snížení prevalence nákazy u meziphostitelů specifických (Christensen a kol., 1976, Chipev, 1993). Příkladem je nespecifický meziphostitel motolice *F. hepatica* plž *Radix peregra* (Müller, 1774), do kterého penetrovalo i navzdory přítomnosti specifického meziphostitelského plže *Galba truncatula* (Müller, 1774) asi 20 % miracidii (Christensen a kol., 1976).

### 4.3 Přichycení a penetrace miracidia do meziphostitelského plže

V případě, že se miracidii podaří úspěšně nalézt meziphostitele (specifického i nespecifického) a přichytit se na jeho povrchu, začne do něj bezprostředně aktivně pronikat. U mnoha druhů motolic, včetně čeledi Fasciolidae, se jedná o další zásadní krok ve zdárném pokračování životního cyklu. V případě, že nedojde k úspěšné penetraci, miracidium hyne (Køie a kol., 1976). Společně se zahájením průniku miracidia do povrchových vrstev těla plže dochází i k jeho prvním morfologickým přestavbám vedoucím k postupné přeměně obrveného miracidia v neobrvené vakovité stádium rané sporocysty, která se posléze uvnitř těla plže mění ve zralou sporocystu.

Přestože jsou procesy přichycení, penetrace a transformace popsány v samostatných kapitolách, je nutné poznamenat, že se v mnoha ohledech vzájemně překrývají a není tedy

možné (ani žádoucí) je v textu striktně rozčlenit. Z tohoto důvodu se některé informace v následujících kapitolách prolínají a za účelem zvýšení srozumitelnosti textu částečně opakují.

#### 4.3.1 Přichycení miracidia k povrchu mezihostitelského plže

Před zahájením procesu penetrace je nezbytné, aby se miracidium pevně přichytilo k povrchu plže. Přichycení stimuluje chemické a pravděpodobně i mechanické vnější podněty (Wilson a kol., 1971).

Faktory, které podněcují přichycení miracidia k povrchu plže, byly studovány převážně u motolice *F. hepatica* v *in vitro* podmínkách. K nejstabilnější vazbě miracida na povrch docházelo na mírně zdrsňeném skleněném povrchu za přítomnosti mukusu mezihostitelského plže. K méně stabilnímu přichycení došlo v případě nahrazení mukusu mastnými kyselinami s délkou řetězce 7 či 8 uhlíků (Wilson a kol., 1971).

Samotný princip vazby miracidia k povrchu plže není přesně znám. Někteří autoři zastávají názor, že vazbu zajišťuje vchlípení apikální papily miracidia, plnící funkci přísavného orgánu (Dawes, 1959). Podle jiných autorů může k mechanickému přichycení přispívat také povrch apikální papily, který je tvořen prohlubněmi o velikosti odpovídající mikrovilům na epitelálních buňkách povrchu plže (Wilson, 1969b, Wilson a kol., 1971).

Na příkladu motolice *F. hepatica* byla pozorována také výrazná nestabilita vazby miracidia k povrchu mezihostitele, kdy často k pevnému přichycení vůbec nedošlo a uvolněné miracidium bylo nuceno kontakt s mezihostitelem opakovat (Dawes, 1959).

#### 4.3.2 Penetrace miracidia do mezihostitelského plže

Po úspěšném přichycení miracidia k povrchu těla mezihostitelského plže začíná samotný proces penetrace. Jak již bylo zmíněno, miracidium v jeho průběhu současně podléhá i tělesným přestavbám vedoucím k postupné transformaci až ve stádium sporocysty.

V rámci čeledi Fasciolidae byla penetrace miracidia do mezihostitele nejlépe popsána u motolice *F. hepatica* a jejího specifického mezihostitelského plže *G. truncatula* (Wilson a kol., 1971, Køie a kol., 1976). Získané poznatky byly později rozšířeny autory studujícími penetraci miracidia motolice *F. magna* do plže *Fossaria bulimoides* (Lea, 1841) (Coil, 1977b, 1981). Penetrace miracidia motolice *F. gigantica* do mezihostitelských plžů *Lymnaea rufescens* (Gray, 1820), *Lymnaea natalensis* (Krauss, 1848) a *Lymnaea acuminata* (Lamarck, 1822) se shoduje s popisem penetrace motolice *F. hepatica*, není proto nutné se o ní samostatně zmiňovat (Dawes, 1959, 1960).

Nejčastějším místem penetrace miracidia motolice *F. hepatica* je plášť mezihostitelského plže. Méně často penetruje v oblasti nohy nebo tykadel (Preveraud-Sindou a kol., 1994). Před dokončení průniku do těla mezihostitele miracidium nejdříve penetruje skrz vnější epitel krytý tenkou vrstvou mukusu, následně pak vrstvou lamina basalis, vrstvou pojivové tkáně a vrstvou svalů (Wilson a kol., 1971). Bezprostředně po přichycení je proces penetrace miracidia *F. hepatica* zahájen jeho otáčením okolo své podélné osy, které však nebylo pozorováno vždy. Dále se vysune apikální papila a na jejím anteriorním konci dojde k vchlípení (Wilson a kol., 1971). U motolice *F. magna* bylo po úspěšném přichycení miracidia v souvislosti s vysunutím apikální papily pozorováno i mechanické narušení povrchového epitelu plže (Coil, 1981). Krátce po přichycení (u *F. hepatica* cca po 1 minutě) se vazba mezi miracidium a povrchem ustaluje a tělo miracidia se začne zvolna stahovat a opětovně relaxovat (Wilson a kol., 1971). Podle jiných autorů začíná miracidium motolice *F. hepatica* vykonávat peristaltické pohyby až 5 minut po přichycení k povrchu. Tehdy je již anteriorní část miracidia zanořena a senzoričné struktury, které se nacházejí na mezibuněčném valu mezi první a druhou řadou ciliárních destiček, se dostávají do kontaktu s povrchem plže (Køie a kol., 1976). V následujících 10 až 15 minutách vykonává tělo miracidia mohutné kontrakce. Apikální žláza se vyprázdňuje a miracidium penetruje polovinou těla pod povrch plže. Další 15 minut trvá, než je vstup miracidia dokončen (Køie a kol., 1976). Peristaltické pohyby, zajišťované střídavým stahováním příčných a podélných svalů, pravděpodobně napomáhají sekreci obsahu apikální žlázy a penetračních žláz obsahujících histolytické enzymy schopné degradovat tkáň v místě penetrace (Dawes, 1959, Wilson a kol., 1971). U miracidia motolice *F. magna* byl význam sekretů s histolytickou aktivitou prokázán při narušení kolagení vrstvy ležící pod povrchovým epitelem plže (Coil, 1981).

S přichycením a následnou penetrací miracidia začíná i synchronizovaný proces odvrhování ciliárních destiček. Ty se od miracidia odpoutávají po jednotlivých řadách postupně od anterioru k posterioru, tak jak se miracidium zanořuje do těla plže (Wilson a kol., 1971, Køie a kol., 1976). Díky tomu není pod nimi ležící svalová vrstva vystavována vnějšímu prostředí (Southgate, 1970b), které při absenci ciliárních destiček vyvolává cytolýzu povrchových tkání miracidia (Wilson a kol., 1971). Ciliární destičky první řady nabývají po odvržení kulovitého tvaru a nadále rytmicky kmitají svými bičíky. V tomto ohledu se liší od ciliárních destiček ostatních řad, jejichž bičíky se ještě před odvržením ciliární destičky odlamují. V některých případech bylo pozorováno proniknutí miracidia s navázanou ciliární destičkou páté řady. K jejímu odvržení pravděpodobně dochází až v tkáni plže (Køie a kol., 1976). Zajímavý případ penetrace byl sledován v případě miracidia motolice *F. hepatica* a plže *F. bulimoides*, kdy miracidium penetrovalo do plže se všemi navázanými ciliárními destičkami a k jejich

odvrhování ve vnějším prostředí vůbec nedošlo (Coil, 1977a). Podobné variace se vyskytují i při odvrhování ciliárních destiček miracidíí motolice *F. magna*. Během penetrace do plže *F. bulimoides* Coil (1977a) pozoroval nepravidelné odvrhování ciliárních destiček po celý průběh penetrace a následné pronikání miracidia pod povrch plže i s neodvrženými ciliárními destičkami (Coil, 1981). V případě penetrace miracidíí *F. magna* do plže *G. truncatula* byla situace zcela odlišná. Odvrhování ciliárních začalo až v těle plže 20-30 hodin po dokončení penetrace (Erhardová-Kotrlá, 1971).

Názory na délku časového úseku, po který miracidia fasciolidních motolic penetrují do meziphostitelských plžů, se mezi jednotlivými autory značně liší. Zatímco např. Køie (1976) a Dawes (1959) uvádí, že penetrace miracidia *F. hepatica* do plže *G. truncatula* trvá okolo 30 minut, Wilson a kol. (1971) dokumentoval délku penetrace 2,5 hodiny. Stejný čas udává Coil (1977a) pro penetraci miracidia *F. hepatica* do plže *F. bulimoides*. U motolice *F. magna* trvá proces penetrace miracidíí většinou 2 až 4 hodiny (Coil, 1977b).

## **5. ONTOGENETICKÝ VÝVOJ V MEZIHOSTITELSKÉM PLŽI**

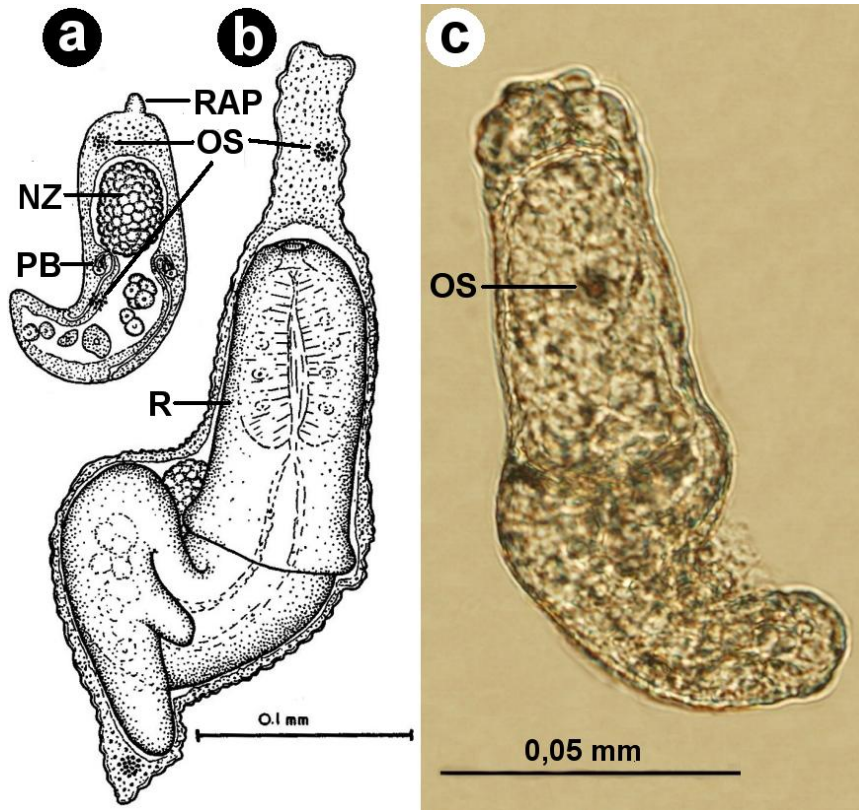
Ontogenetický vývoj motolic čeledi Fasciolidae v meziphostitelském plži probíhá přes tři různá larvální stádia – sporocystu, redii a cercárii. Sporocysty (Obr. 3) a redie (Obr. 4) jsou svým výskytem pevně vázány na meziphostitele, kde se nepohlavně rozmnožují a produkují buď dalších redie, nebo cercárie. Cercárie (Obr. 6) narozdíl od předešlých stádií nejsou schopny nepohlavního rozmnožování, po několika dnech meziphostitele opouští a přeměňují se v odolná nepohyblivá stádia (metacercárie) určená k perorální infekci definitivního hostitele.

### **5.1 Přeměna miracidia ve sporocystu a její dozrávání v těle meziphostitelského plže**

Zatímco miracidium je volně plovoucí larvální stádium, jehož morfologie je podřízena vyhledání meziphostitele a penetraci do něj, následující stádium sporocysty má funkci zcela odlišnou. Její úlohou ve vývojovém cyklu je vytvořit první generaci nepohlavně se množících následujících larválních stádií - redií. Zralá sporocysta má vakovité tělo velikosti 0,3-0,7 mm vyplněné vyvíjejícími se zárodky redií (Obr. 3b) (Thomas, 1883, Swales, 1935, Erhardová-Kotrlá, 1971).



**Obr. 3.** Sporocysta. **a** – raná sporocysta motolice *F. gigantea* (Dinnik a Dinnik, 1956, upravil J. Pankrác), **b** – zralá sporocysta motolice *F. gigantea* (Dinnik a Dinnik, 1956, upravil J. Pankrác), **c** – raná sporocysta motolice *F. magna* (J. Pankrác a M. Košťáková). **NZ** – nediferencovaný zárodek, **OS** – oční skvrna **PB** – plaménková buňka **R** – redie, **RAP** – redukovaná apikální papila.



### 5.1.1 Tvorba tegumentu

Proces transformace miracidia ve sporocystu a její následný vývoj je charakteristický zejména redukcí původních orgánových soustav. Přesto se některé struktury objevují poprvé až u sporocyst. Nejvýznamnější nově utvářenou strukturou je syncytiální povrch nazývaný tegument, nebo také neodermis, který se stal základním znakem charakterizujícím celý taxon Neodermata. Tvorba povrchového syncytia fasciolidních motolic byla podrobně popsána např. u motolice *F. hepatica*.

Jak již bylo zmíněno v předchozí kapitole, přeměna miracidia *F. hepatica* ve stádium sporocysty je děj, který začíná již v okamžiku přichycení miracidia k povrchu mezihostitelského plže. Ciliární destičky v průběhu penetrace ztrácejí kontakt s bazální membránou a jsou odvrhovány (Køie a kol., 1976). Odhalený povrch je postupně převrstvován tegumentem, syncytiem vznikajícím povrchovou expanzí mezibuněčných valů - cytoplazmatických výběžků buněk lokalizovaných pod svalovými vrstvami (Southgate, 1970b, Wilson a kol., 1971) (v literatuře nalezneme tyto buňky pod názvem „vesiculated cells“ nebo „cells of subepidermal

layer“, [Wilson, 1969b](#), [Southgate, 1970b](#)). V průběhu 60 hodin po penetraci miracidia vrstva tegmentu sporocysty zesílí a jeho plocha se zvětší tvorbou členitých záhybů membrány ([Southgate, 1970b](#), [Wilson a kol., 1971](#)). Zároveň dochází k navyšování množství mitochondrií v tegmentu, což je důležitý předpoklad jeho budoucí metabolické funkce ([Southgate, 1970b](#)).

### 5.1.2 Redukční procesy spojené se vznikem a vývojem sporocysty

Jiným aspektem přeměny miracidia ve stádium sporocysty je postupný zánik orgánů, které sloužily miracidium k nalezení mezipřítelstevského plže a proniknutí do jeho těla. Tyto procesy byly podrobněji popsány u motolice *F. magna*, prakticky se však shodují s poznatky získanými také u dalších motolic čeledi Fasciolidae ([Thomas, 1883](#), [Dinnik a Dinnik, 1956](#), [Dinnik a Dinnik, 1961](#), [Wilson a kol., 1971](#)).

V průběhu 8 až 10 hodin po penetraci dochází k zaoblení původně protáhlého tvaru typického pro miracidium (Obr. 3a) ([Erhardová-Kotrlá, 1971](#)). Oční skvrna, původně tvořená dvěma sdruženými pohárkovými útvary, se obvykle rozdělí už během penetrace nebo krátce po jejím dokončení ([Thomas, 1883](#), [Dinnik a Dinnik, 1956](#), [Wilson a kol., 1971](#)). Oba pohárkovité útvary se rozcházejí a později je můžeme nalézt v nejrůznějších částech těla sporocysty (Obr. 3a) ([Thomas, 1883](#), [Swales, 1935](#), [Dinnik a Dinnik, 1956](#), [Dinnik a Dinnik, 1961](#), [Erhardová-Kotrlá, 1971](#)). Výjimečně může oční skvrna zůstat celistvá ([Thomas, 1883](#), [Erhardová-Kotrlá, 1971](#)). V průběhu transformace zaniká také apikální papila ([Erhardová-Kotrlá, 1971](#), [Køie a kol., 1976](#)) a spolu s ní dochází i k postupnému zániku apikální žlázy, laterálně uložených penetračních žláz a cerebrálního ganglia ([Erhardová-Kotrlá, 1971](#)). Plaménkové buňky protonefridiálního systému zůstávají zachovány a u sporocysty je najdeme stejně jako u miracidia v podobě jednoho páru umístěného laterálně od středu těla (Obr. 3a) ([Swales, 1935](#), [Erhardová-Kotrlá, 1971](#)).

Další průběh vývoje sporocysty je charakteristický jejím růstem, migrací z místa penetrace do místa definitivní lokalizace a produkcí mateřských redií. Toto larvální stádium bude popsáno v následující kapitole.

### 5.1.3 Morfologická charakteristika zralé sporocysty

Zralá sporocysta (Obr. 3b) je z hlediska tělesné stavby nejjednodušším larválním stádiem motolic čeledi Fasciolidae. Její vakovité tělo nepravidelného tvaru je zcela vyplněno vyvíjejícími se zárodky a jediné struktury, které zůstávají zachovány nezměněné, jsou plaménkové buňky vylučovací soustavy ([Barlow, 1925](#), [Swales, 1935](#), [Dinnik a Dinnik, 1956](#), [Erhardová-Kotrlá, 1971](#)). U zralé sporocysty motolice *F. gigantica* byly pozorovány tři páry plaménkových buněk, tedy o dva páry více než nacházíme u miracidia ([Dinnik a Dinnik, 1956](#)). V případě motolic *F.*

*buski*, *F. magna* a *F. hepatica* se autoři o zvyšování počtu plaménkových buněk v průběhu zrání sporocysty nezmiňují.

Délka sporocysty motolic čeledi Fasciolidae se krátce po penetraci pohybuje nejčastěji mezi 0,07 a 0,08 mm (Thomas, 1883, Nakagawa, 1922, Swales, 1935, Erhardová-Kotrlá, 1971). V průběhu zrání sporocysta roste a přibližně po dvou týdnech dosahuje své konečné velikosti. Ta se u různých druhů čeledi Fasciolidae různí. Po 14 dnech vývoje v optimálních podmínkách dosahuje sporocysta motolice *F. hepatica* maximální délky 0,5-0,7 mm (Thomas, 1883). Sporocysta motolice *F. magna* dosahuje konečné délky 0,3-0,4 mm 8-15 dní po infekci (Erhardová-Kotrlá, 1971).

Stejně jako miracidium postrádá i sporocysta trávicí soustavu, a proto musí být veškeré živiny potřebné k jejímu růstu a k vývoji zárodků přijímány tělním povrchem. Intenzivní membránový transport sacharidů naznačuje vysoká aktivita některých enzymů, např. alkalická fosfatáza a adenosin trifosfatáza vykazuje v tegumentu sporocysty mnohem vyšší aktivitu, než je tomu u povrchu miracidia (Humiczewska, 1975, 2002).

#### 5.1.4 Migrace sporocysty

Průběh migrace ani mechanismus jakým sporocysta prochází tkání meziphostitele v době, kdy zanikly její penetrační žlázy, není příliš znám. Je však ověřeno, že sporocysty obvykle migrují z místa penetrace miracidia (kterým bývá nejčastěji plášť a noha plže) do oblasti konečné lokalizace (viz dále), kde dávají vznik dalšímu vývojovému stádiu - mateřská redie (redie první generace) (Swales, 1935, Dinnik a Dinnik, 1956, Erhardová-Kotrlá, 1971, Preveraud-Sindou a kol., 1994).

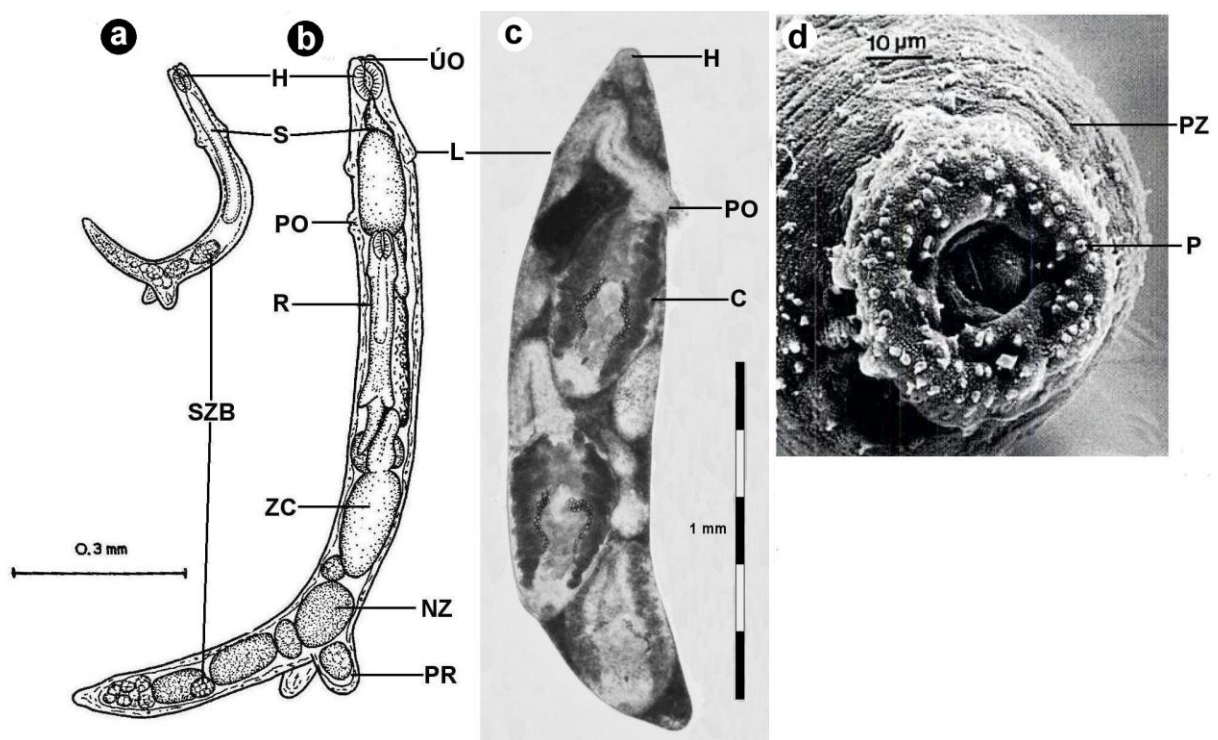
Detailněji byla migrace sporocyst popsána pouze u motolice *F. hepatica*. V případě, že miracidium penetruje v oblasti pláště, migrují vzniklé sporocysty do oblasti obklopující srdce a ledvinu plže. Do stejné oblasti migrují i miracidia, která penetrovala v oblasti nohy či tykadel, nicméně v tomto případě zůstává zhruba polovina sporocyst v okolí místa penetrace, nebo migruje do oblasti pláště. Na základě těchto pozorování je pravděpodobné, že cílem migrace sporocyst *F. hepatica* je oblast v okolí srdce a ledviny plže a nejvhodnějším místem penetrace je plášť (Preveraud-Sindou a kol., 1994). U motolice *F. magna* byla vyvíjející se sporocysta nalezena v okolí nejrůznějších orgánů plže, nikdy však uvnitř hepatopankreatu (Swales, 1935, Erhardová-Kotrlá, 1971).



## 5.2 Morfogeneze a charakteristika produkce redí

Redie jsou larvální stádia motolic vznikající nepohlavní cestou ze zárodečných buněk sporocyst nebo jiných redí. Mezi nejzákladnější morfologické znaky redí motolic čeledi Fasciolidae patří protáhlé tělo, ústní otvor vybavený svalnatým hltanem a krátké vakovité střevo (Obr. 4a,b,c) (Thomas, 1883, Barlow, 1925, Dinnik a Dinnik, 1956, Erhardová-Kotrlá, 1971). Podle původu (ale i morfologie) rozlišujeme redie mateřské, které se vyvíjejí ze zárodečných buněk v zadní části těla sporocysty a redie dceřiné vznikající podobným způsobem v jiných, již vyvinutých redích. Svým výskytem jsou redie podobně jako předchozí stádium sporocysty pevně vázány na mezihostitelského plže.

**Obr. 4.** Redie. **a** – mateřská redie motolice *F. gigantica* brzy po úniku ze sporocysty (Dinnik a Dinnik, 1956, upravil J. Pankrác), **b** – mateřská redie motolice *F. gigantica* s vyvíjejícími se rediemi a cercářiemi (Dinnik a Dinnik, 1956, upravil J. Pankrác), **c** – dceřiná redie motolice *F. magna* s již vyvinutými cercářiemi (J. Pankrác), **d** – detail anteriorního konce těla redie motolice *F. hepatica* (Køie a kol., 1977, upravil J. Pankrác). **C** – cercárie, **H** – hltan, **L** – límec, **NZ** – nediferencovaný zárodek, **P** – papila, **PO** – porodní otvor, **PR** – procruscula, **PZ** – příčné záhyby, **R** – redie, **S** – střevo, **SZB** – shluk zárodečných buněk, **ÚO** – ústní otvor, **ZC** – zárodek cercárie.



### 5.2.1 Morfologická charakteristika redie

Vývojové stádium redie vykazuje u všech popsaných druhů motolic čeledi Fasciolidae shodnou tělesnou stavbu (Thomas, 1883, Nakagawa, 1922, Barlow, 1925, Swales, 1935, Dinnik a Dinnik, 1956, Dinnik a Dinnik, 1961, Erhardová-Kotrlá, 1971). Jediné doposud popsané mezidruhové rozdíly se týkají odlišností v poměru délky některých tělesných struktur k délce těla (viz dále).

Redie motolic čeledi Fasciolidae mají protáhlé, na obou koncích zaoblené tělo. Na předním konci se nachází úzký ústní otvor vedoucí do hltanu vybaveného mohutnou svalovinou (Thomas, 1883, Erhardová-Kotrlá, 1971). Hltan pokračuje krátkým jícnem napojeným na vakovité střevo dlouhé 1/6 až 1/2 těla (Obr. 4a) (Thomas, 1883, Nakagawa, 1922, Swales, 1935, Erhardová-Kotrlá, 1971, Ollerenshaw a Graham, 1986). U mladých redií některých druhů (např. *F. gigantica*) může střevo dosahovat délky až 2/3 těla (Dinnik a Dinnik, 1956).

Jícen plní u motolic čeledi Fasciolidae významnou sekreční funkci (Wilson, 1972). V jeho okolí jsou umístěny jednobuněčné žlázy, které se na apikální straně protahují do podoby úzkých kanálků. Těmito kanálky jsou sekrety žláz transportovány v membránových váčcích do syncytia vystylajícího vnitřní povrch jícnu a později exocytovány do jeho lumen. Funkce žlázových buněk a povaha sekrečních produktů není známá, ale je pravděpodobné, že obsahují hydrolytické enzymy přispívající k natrávení potravy směřující do střeva (Wilson, 1972). Posteriorně od jednobuněčných žláz se nalézá centrum nervové soustavy u redií motolice *F. magna* označované jako nervový prstenec (Wilson, 1972) a u motolice *F. hepatica* jako párové ganglium (Erhardová-Kotrlá, 1971). Zřejmě se však jedná o tutéž strukturu interpretovanou pouze dvěma různými způsoby.

Vylučovací soustavu tvoří dvě skupiny plaménkových buněk po obou stranách těla. U motolice *F. buski* bylo zjištěno na jedné straně celkem pět a na druhé šest plaménkových buněk napojených na pár posteriorně směřujících sběrných kanálků lemujících tělní stěnu redie (Barlow, 1925). Vyústění vylučovací soustavy nebylo pozorováno, ale je možné, že podobně jako u příbuzné čeledi Echinostomatidae každý sběrný kanálek ústí vlastním exkrečním pórem na povrchu těla (Barlow, 1925, Valkounová a kol., 1989).

Prakticky celé tělo redie je vyplněno tělní dutinou obsahující zárodečné buňky, vyvíjející se zárodky nebo u starších redií i diferencované redie či cercárie (Obr. 4b,c). Obě tato larvální stádia po dokončení svého vývoje opouštějí tělo redie porodním otvorem v přední části těla (Barlow, 1925, Dinnik a Dinnik, 1956, Thomas, 1883).

Stavba tělní stěny redií motolic čeledi Fasciolidae se příliš neliší od stavby tělní stěny sporocysty (Southgate, 1969, cit. dle Southgate, 1970a). Vnější vrstva syncytiální povahy

(tegument) je propojena cytoplazmatickými spoji s jádrem a k němu přidruženými organelami ležícími pod vrstvou příčných a podélných svalových vláken (Wilson a kol., 1971). Ultrastruktura povrchu redie byla studována u motolice *F. hepatica*. Celý povrch těla je zvrásněn řadou jemných příčných záhybů opatřených mikrovily (Obr. 4d) (Køie a kol., 1977), které výrazně zvětšují jeho plochu a naznačují význam tělního povrchu v transportu látek (živin a metabolitů) mezi redií a mezihostitelem (Valkounová a kol., 1989), přímý důkaz však doposud chybí. Dalšími strukturami, které byly odhaleny při studiu ultrastruktury povrchu, jsou četné papily pokrývající zejména okolí ústního otvoru (Obr. 4d) (Køie a kol., 1977, Augot a kol., 1998), kde zřejmě plní funkci senzorů podobně jako u čeledi Echinostomatidae (Žďárská a kol., 1988).

Z povrchu těla redie vystupují některé na první pohled viditelné struktury. V oblasti, kde začíná střevo, vytváří tělní stěna záhyb vzhledem připomínající límec (Obr. 4b) (Thomas, 1883, Barlow, 1925, Swales, 1935, Dinnik a Dinnik, 1956). Jeho funkce pravděpodobně spočívá v zakotvení anteriorní části těla redie v tkáni plže, kde jako opora pomáhá jejímu pohybu. (Wright, 1928). Tato hypotéza je podporována přítomností silněji vyvinutého límce u mateřských redií, které vykazují mnohem intenzivnější pohybovou aktivitu než redie dceřiné (Thomas, 1883, Swales, 1935, Erhardová-Kotrlá, 1971). Vzhledem k tomu, že se límec nachází v blízkosti porodního póru, mohla by jeho kontrakce přispívat také k uvolňování larev porodním pórem ven z těla redie (Barlow, 1925). Ve vzdálenosti jedné třetiny těla od posteriorního konce redie vyčnívá z povrchu jeden pár krátkých zaoblených výběžků označovaných jako procruscula (Obr. 4b) (Thomas, 1883, Barlow, 1925, Swales, 1935, Dinnik a Dinnik, 1956, Erhardová-Kotrlá, 1971). V *in vitro* experimentech byla prokázána jejich přichycovací funkce (Dinnik a Dinnik, 1956), zřejmě se tedy podobně jako límec uplatňují při pohybu redie (Thomas, 1883, Wright, 1928).

Mateřské a dceřiné redie mají velmi podobnou stavbu těla, na základě některých morfologických charakteristik je však můžeme od sebe odlišit. Hltan i límec mateřských redií je ve srovnání s dceřinými rediemi v poměru k tělu výrazně vyvinutější (Obr. 4b) (Thomas, 1883, Swales, 1935, Erhardová-Kotrlá, 1971). Mateřské redie jsou také obvykle menší než redie dceřiné, jejich velikost dosahuje u motolice *F. magna* maximálně 0,87 mm, zatímco dceřiné redie jsou dlouhé až 3 mm (Swales, 1935). Podobný rozdíl ve velikosti mateřských a dceřiných redií byl zaznamenán i u motolice *F. buski* (Barlow, 1925). V protikladu s předchozím pozorováním jsou údaje získané u motolice *F. gigantea*, jejíž mateřské redie dosahují 36-40 den po infekci velikosti 2,13-3,4 mm, zatímco dceřiné redie jsou v tuto dobu dlouhé pouze 1,38-1,75 mm (Dinnik a Dinnik, 1956). Podle některých autorů se může konečná velikost mateřských a

dceřiných redií výrazně lišit v závislosti na druhu infikovaného mezihostitele a není tedy příliš vhodným kritériem pro jejich vzájemné odlišení (Erhardová-Kotrlá, 1971).

Srovnání morfologie redií různých druhů motolic čeledi Fasciolidae bylo doposud provedeno pouze u druhů *F. hepatica* a *F. gigantica*, které je možné odlišit na základě rozdílu v poměru délky střeva k délce těla nebo za pomoci detailních morfometrických údajů, jako je například poměr délky těla a šířky límce či poměr délky anteriorní části těla a šířky límce (Ollerenshaw a Graham, 1986, Dar a kol., 2003).

### 5.2.2 Morfogeneze redie

Morfogeneze redií motolic čeledi Fasciolidae je bohužel jedním z nejméně prostudovaných procesů v celém vývoji v mezihostitelském plži. Detailněji byla popsána pouze u motolice *F. hepatica* (Thomas, 1883).

V prvním kroku vývoje této motolice probíhá dělení zárodečných buněk a tvorba moruly, která posléze na jedné straně invaginuje za vzniku gastruly. Povrch zárodku se postupně vyhlazuje a jeho tvar se mění z kulovitého na oválný (Thomas, 1883). Další vývoj byl popsán již i u jiných druhů čeledi Fasciolidae. Prvními tělními strukturami, které u zárodku redie můžeme pozorovat, je sférický hltan a vakovité střevo. Zatímco u motolic *F. gigantica* a *F. magna* dochází nejdříve k utvoření hltanu a až později vzniká střevo (Dinnik a Dinnik, 1956, Erhardová-Kotrlá, 1971, Ogambo-Ongoma a Goodman, 1976), u motolice *F. hepatica* byl popsán vznik hltanu a střeva jako proces probíhající souběžně (Thomas, 1883). Posledními strukturami, které se u zárodku redie vyvíjejí, jsou procruscula a límec (Thomas, 1883, Swales, 1935). Celý průběh vývoje redie trvá jeden až dva týdny v závislosti na druhu motolice (Barlow, 1925, Swales, 1935, Dinnik a Dinnik, 1956, Erhardová-Kotrlá, 1971).

### 5.2.3 Produkce redií

Zárodečné buňky určené k nepohlavnímu rozmnožování jsou u motolic čeledi Fasciolidae předávány ze stádia sporocysty na každé další nepohlavně se rozmnožující stádium – mateřské a dceřiné redie. Díky tomu může v mezihostiteli vzniknout několik generací redií, které postupně zcela vyplní jeho hepatopankreas (Rao, 1966, Hodasi, 1972) nebo v případě motolice *F. buski* okolí obojetné žlázy (Barlow, 1925). Protože se v každé redii (nebo sporocystě) vyvíjí obvykle více než jedna redie následující generace, jejich počet v mezihostiteli exponenciálně vzrůstá. V určitém okamžiku dochází k přepnutí ve vývojovém programu zárodečných buněk (u motolice *F. magna* a *F. gigantica* okolo 30 dnů po infekci, Dinnik a Dinnik, 1956, Erhardová-Kotrlá, 1971), které začnou namísto redií produkovat infekční stádia nazývané cercárie (Dinnik a Dinnik,

1956). Z nákazy vyvolané jediným miracidem tak mohou v mezihostitelském plži nepohlavním množением vzniknout až tisíce cercárií připravených opustit mezihostitele a encystovat se ve vnějším prostředí (Rao, 1966).

#### 5.2.3.1 Produkce mateřských redií

Zárodky, ze kterých se později vyvinou mateřské redie, se u motolic čeledi Fasciolidae nalézají v zadní části těla sporocysty. Jejich počet se u různých druhů motolic liší. Zatímco ve sporocystě motolic *F. magna* a *F. gigantica* se nachází 3-6 zárodků, (Dinnik a Dinnik, 1956, Erhardová-Kotrlá, 1971), u sporocysty motolice *F. buski* jich můžeme nalézt 30-40 (Barlow, 1925).

Pro známé druhy motolic čeledi Fasciolidae obecně platí, že se jeden ze zárodků vyvíjí mnohem rychleji než ostatní (Obr. 3a) (Thomas, 1883, Barlow, 1925, Swales, 1935, Dinnik a Dinnik, 1956, Dinnik a Dinnik, 1961, Erhardová-Kotrlá, 1971). Z něho později vzniká první mateřská redie, která po dosažení určitého stupně vývoje (viz níže) aktivně opouští sporocystu protržením tělní stěny (Thomas, 1883, Barlow, 1925, Swales, 1935, Dinnik a Dinnik, 1956) a následně migruje do oblasti v okolí hepatopankreatu plže (Barlow, 1925, Dinnik a Dinnik, 1956, Erhardová-Kotrlá, 1971). V té době obvykle nejsou u ostatních zárodků pozorovatelné jakékoliv tělní struktury (Thomas, 1883, Swales, 1935, Erhardová-Kotrlá, 1971).

Doba, která uplyne od infekce mezihostitelského plže po uvolnění první mateřské redie z těla sporocysty je u motolic *F. gigantica* a *F. buski* 7-10 dní (Barlow, 1925, Dinnik a Dinnik, 1956). U motolice *F. magna* je situace poněkud složitější. Zatímco Swales (1935) udává, že první mateřská redie uniká ze sporocysty staré 6 dnů, Erhardová-Kotrlá (1971) pozorovala její únik až 8-15 dnů po nákaze.

V době, kdy první mateřská redie motolic *F. gigantica* a *F. magna* opouští tělo sporocysty, má již dobře vyvinutý hltan, střevo, límec i procruscula (Dinnik a Dinnik, 1956, Erhardová-Kotrlá, 1971). Data charakterizující produkci mateřských redií některých zástupců čeledi Fasciolidae jsou shrnuta v Tab. 2.

Osud zárodků, které zůstanou ve sporocystě po úniku první mateřské redie, se u jednotlivých druhů motolic čeledi Fasciolidae liší. U motolice *F. hepatica* bylo popsáno, že se otvor vzniklý proražením první mateřskou redií zacelí a zbylé zárodky pokračují dál ve svém vývoji uvnitř sporocysty (Thomas, 1883). Naproti tomu sporocysta motolice *F. magna* po úniku první mateřské redie pravděpodobně umírá (Erhardová-Kotrlá, 1971) a volné zárodky pak musí dokončit svůj vývoj v tkáni mezihostitele (Swales, 1935). U motolice *F. gigantica* byly zaznamenány oba dva zmíněné případy (Dinnik a Dinnik, 1956).



Mezi do jisté míry spekulativní práce týkající se nepohlavní fáze životního cyklu *F. gigantica* patří např. výzkum [Ogambo-Ongoma a Goodman \(1976\)](#), kteří se pokusili dokázat přímou přeměnu miracidia v redii a tedy absenci sporocysty ve vývojovém cyklu této motolice. Jedním z jejich nejpádnějších argumentů bylo pozorování přítomnosti oční skvrny v mateřských rediích. Žádný jiný takový případ nebyl u motolice *F. gigantica* ani u jiné motolice čeledi Fasciolidae zaznamenán.

**Tab. 2.** Charakteristika produkce mateřských redií motolic čeledi Fasciolidae v různých mezihostitelích (1-5).

	<i>F. hepatica</i> /1	<i>F. gigantica</i> /2	<i>F. magna</i> /3	<i>F. magna</i> /4	<i>F. buski</i> /5
<b>Délka (mm) první MR* při úniku ze sporocysty</b>	0,26	0,43-0,96	0,21-0,24	0,09-0,15	?
<b>Doba vývoje první MR* (dny)</b>	?	7-8	8-15	6	9-10
<b>Zárodků ve sporocystě</b>	>4	1-6	4-6	?	30-40
<b>Počet vyprodukovaných MR*</b>	≈7	1-6	?	?	?

\* MR - mateřská redie

1. *Galba truncatula* ([Thomas, 1883](#), [Belfaiza a kol., 2004a](#), [2004b](#))
2. *Lymnaea natalensis* ([Dinnik a Dinnik, 1956](#))
3. *Galba truncatula* ([Erhardová-Kotrlá, 1971](#))
4. *Fossaria parva* (Lea, 1841) ([Swales, 1935](#))
5. *Planorbis schmackeri* (Clessin, 1886) ([Barlow, 1925](#))

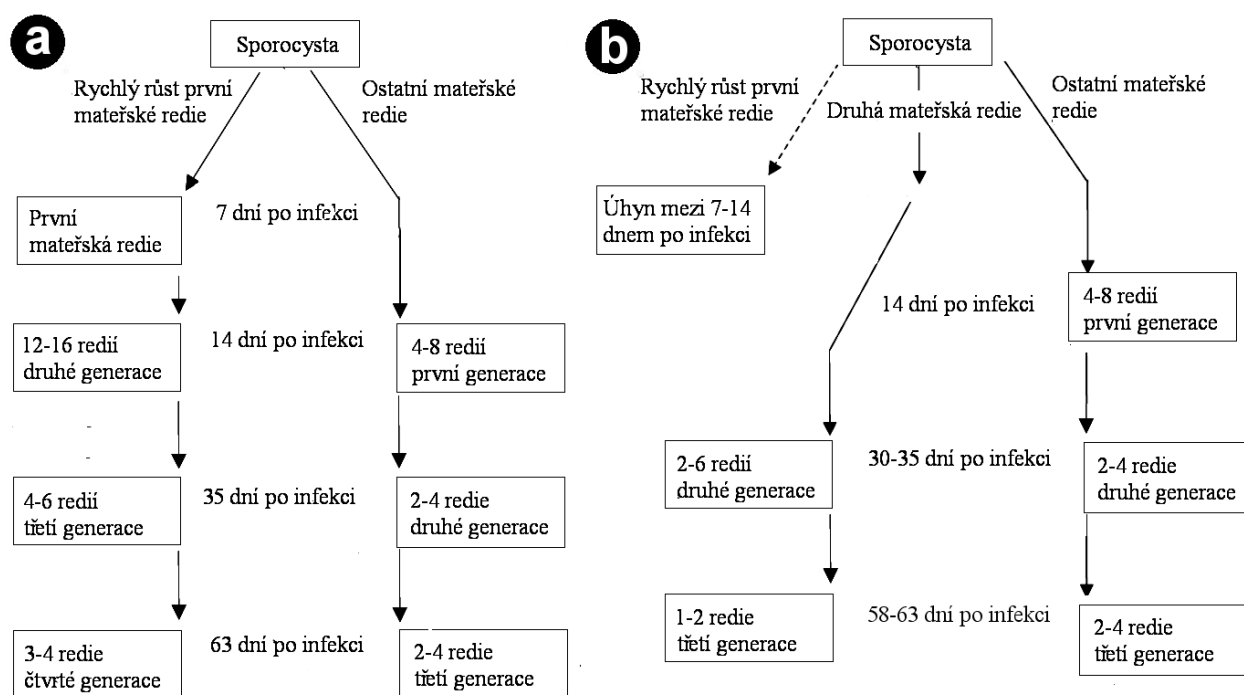
### 5.2.3.2 Produkce dceřiných redií

Jak již bylo zmíněno v úvodu kapitoly 5.2, dceřiné redie se kromě některých rozdílů v morfologii liší od mateřských zejména původem vzniku, na jehož základě je můžeme definovat jako redie, které se vyvinuly v jiných již reprodukčně aktivních mateřských nebo dceřiných rediích.

Reprodukční potenciál je u redií motolic čeledi Fasciolidae mnohem vyšší než u sporocyst, což se odráží zejména ve vyšším počtu zárodků, které se v redii v jednom okamžiku nalézají ([Thomas, 1883](#), [Barlow, 1925](#), [Dinnik a Dinnik, 1956](#)). Příkladem je motolice *F. gigantica*, u které se nachází 8-37 zárodků v jediné mateřské redii nebo motolice *F. buski* se 20-27 zárodky ([Barlow, 1925](#), [Dinnik a Dinnik, 1956](#)). Mateřská redie motolice *F. hepatica* je méně produktivní než u obou předchozích druhů, nejvyšší pozorovaný počet zárodků byl 10 ([Thomas, 1883](#)). Vznik dceřiných redií probíhá u motolic čeledi Fasciolidae kontinuálně; v zadní části těla vznikají dělením zárodečných buněk nové nediferencované zárodky, ve středu těla dochází k jejich vývoji a v přední části jsou již vyvinuté redie připravené opustit tělo porodním otvorem

(Obr. 4b) (Barlow, 1925, Dinnik a Dinnik, 1956). Čerstvě uvolněné dceřiné redie jsou dlouhé 0,3-0,6 mm a svým vzhledem již zcela odpovídají starším rediím (Barlow, 1925, Dinnik a Dinnik, 1956, Erhardová-Kotrlá, 1971). U motolice *F. gigantea* byl odhadnut celkový počet dceřiných redií vyprodukovaných jedinou mateřskou redií na 12-25 (Dinnik a Dinnik, 1956). Dceřiné redie téže motolice však vyprodukují pouhých 3-6 redií následující generace, neboť už 3 dny po zahájení reprodukce přecházejí z produkce redií na produkci cercárií (Dinnik a Dinnik, 1956).

**Obr. 5.** Schéma produkce redií motolice *F. hepatica* v mezihostitelském plži *G. truncatula*. **a** – normální vývoj, **b** – abnormální vývoj (Rondelaud a kol., 2009, upravil J. Pankrác).



Dceřiné redie motolic *F. hepatica*, *F. gigantea* a *F. magna* migrují po svém uvolnění z mateřské redie do hepatopankreatu plže, kde se aktivně živí pojivovou tkání a produkují cercárie nebo další generace redií (Swales, 1935, Dinnik a Dinnik, 1956, Rao, 1966, Hodasi, 1972). Odlišná je definitivní lokalizace dceřiných redií motolice *F. buski*. Zatímco podle některých autorů zůstávají dceřiné redie této motolice volně v tělní dutině plže (Barlow, 1925), jiní autoři zaznamenali jejich migraci do nitra obojetné žlázy, kde se aktivně živili tkání tohoto orgánu (Graczyk a kol., 2000).

Dceřiné redie se vyskytují obvykle v jedné až třech generacích (Thomas, 1883, Barlow, 1925, Dinnik a Dinnik, 1956, Rakotondravao a kol., 1992, Belfaiza a kol., 2004b, 2004c). Přítomnost více generací dceřiných redií byla doposud prokázána u motolice *F. hepatica* (3

generace), *F. gigantica* (3 generace) a *F. buski* (2 generace) (Barlow, 1925, Dinnik a Dinnik, 1956, Belfaiza a kol., 2004b, 2004c). V pracích věnovaných motolici *F. magna* se autoři o možné existenci více generací dceřiných redií nezmiňují (Swales, 1935, Erhardová-Kotrlá, 1971).

Z důvodu existence většího počtu generací a velkého reprodukčního potenciálu redií je velmi obtížné nalézt způsob, jak jejich produkci charakterizovat. Autoři, kteří se o to pokusili, vytvořili model tzv. normálního vývoje (Obr. 5a) motolice *F. hepatica* ve specifickém meziphostiteli *G. truncatula* (Rondelaud a Barthe, 1982a, cit. dle Rondelaud a kol., 2009). Podle tohoto modelu je pro celou produkci nejvýznamnější první mateřská redie, která rychle dokončí svůj vývoj a v třetím týdnu po infekci vyprodukuje 12-16 dceřiných redií. Zbylé mateřské redie a všechny dceřiné redie vyprodukují každá pouze 2-8 redií (Rondelaud a Barthe, 1982a, cit. dle Rondelaud a kol., 2009). Druhá generace dceřiných redií se poprvé objevuje šestý týden a poslední třetí generace dceřiných redií devátý týden po infekci (Belfaiza a kol., 2004b). Konečný počet redií v jednom plži je 28-43 (Rondelaud a Barthe, 1987, cit. dle Rondelaud a kol., 2009). V meziphostiteli *G. truncatula* může v některých případech (1-15%) dojít k tzv. abnormálnímu vývoji (Obr. 5b), kdy první mateřská redie uhynie brzy po opuštění sporocysty a v produkci dceřiných redií ji zastoupí mateřská redie, která opouští sporocystu jako druhá (Augot a kol., 1999).

Zmíněný model se později ukázal jako vhodný i pro charakterizaci produkce redií u motolice *F. gigantica* (Rakotondravao a kol., 1992). Rozdíly v produkci redií u motolic *F. hepatica* a *F. gigantica* se týkají zejména množství redií vyprodukovaných jednotlivými. (Dinnik a Dinnik, 1956, Rakotondravao a kol., 1992, Dar a kol., 2002, Belfaiza a kol., 2004b, 2004c).

### 5.3 Morfogeneze a charakteristika produkce cercárií

Cercárie motolic čeledi Fasciolidae jsou larvální stádia vyvíjející se stejně jako dceřiné redie ze zárodečných buněk v zadní části těla reprodukčně aktivních redií. Jejich tělo se dělí na dvě základní části – vlastní tělo cercárie a ocásek (Obr. 6a,b). Vlastní tělo je oválného tvaru a podobně jako dospělá motolice je vybaveno ústní a břišní přísavkou. Jednoduchý ocásek zprostředkovává svým kmitáním pohyb cercárie.

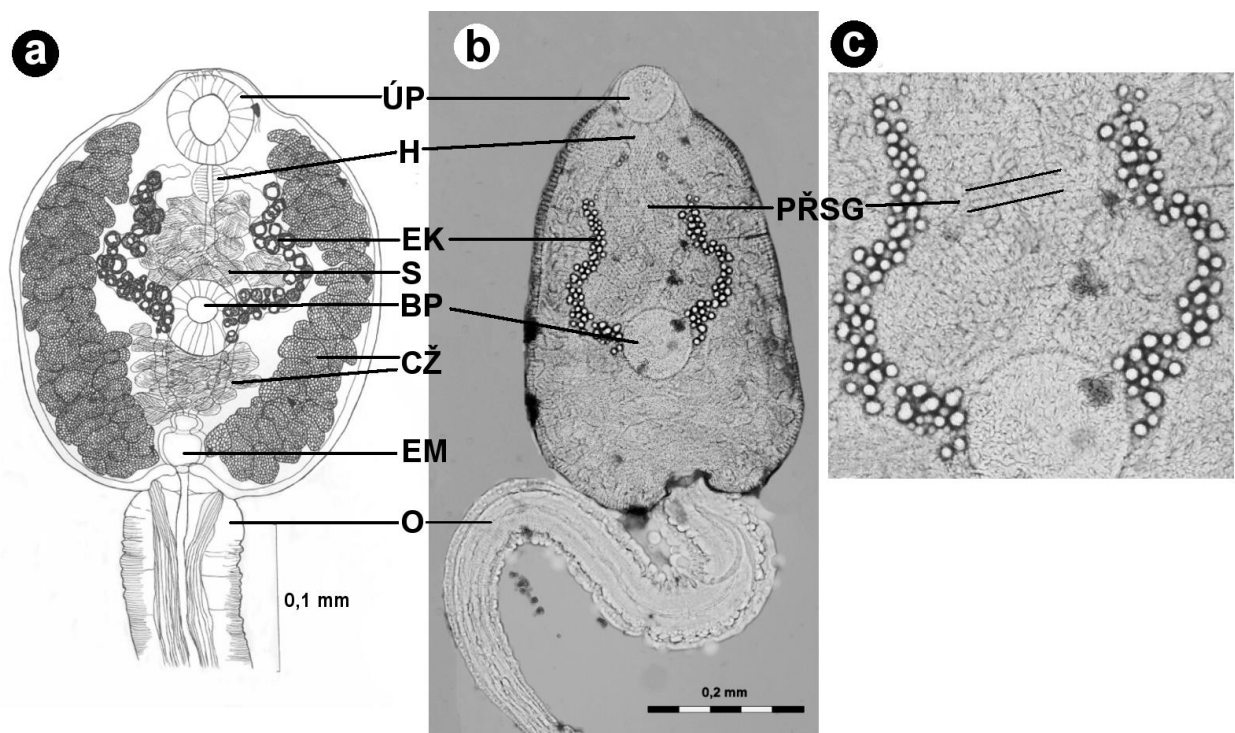
Po dokončení svého vývoje cercárie aktivně unikají z meziphostitele do vnějšího prostředí a encystují se na pevném podkladu za vzniku metacercárie - stádia infekčního pro definitivního hostitele.



### 5.3.1 Morfologická charakteristika cercárie

Základní tělesná stavba cercárie je u všech popsanych druhů čeledi Fasciolidae shodná (Thomas, 1883, Barlow, 1925, Swales, 1935, Kuntz, 1957, Erhardová-Kotrlá, 1971) a proto bude podobně jako u stádia redie popisována pro celou čeleď jednotně.

**Obr. 6.** Cercárie. **a** – cercárie motolice *F. magna* brzy po uvolnění z redie (Faltýnková a kol., 2006, upravil J. Pankrác), **b** – cercárie motolice *F. magna* připravená opustit mezihostitelského plže (J. Pankrác a M. Košťáková), **c** – detail povrchu cercárie motolice *F. magna* (J. Pankrác a M. Košťáková). **BP** – břišní přísavka, **CŽ** – cystogenní žlázy, **EK** – exkreceční kanálek vyplněný reflexními granuly, **EM** – exkreceční měchýř, **H** – hltan, **O** – ocásek, **PŘSG** – příčné řady sekrecečních granul **S** – střevo, **ÚP** – ústní přísavka.



Velikost tělní části cercárie motolic *F. hepatica*, *F. gigantica* a *F. buski* je 0,18-0,30x0,15-0,27 mm, ocásek je dlouhý 0,47-0,60 mm (Thomas, 1883, Barlow, 1925, Kuntz, 1957). Znatelně větší je cercárie motolice *F. magna*, velikost její tělní části je 0,30-0,42x0,18-0,27 mm a ocásku 0,59-1 mm (Swales, 1935, Erhardová-Kotrlá, 1971). Uvedené rozměry platí pouze za předpokladu, že se cercárie nachází v klidové poloze (bylo prokázáno, že např. cercárie motolice *F. buski* může tělní část za určitých okolností protáhnout i na dvojnásobek klidové délky, Barlow, 1925). Pokud odmyslíme ocásek, je tělesná stavba cercárie podobně jako u mnohých jiných motolic obdobou tělesné stavby dospělého. Nejvýraznějšími strukturami v těle cercárie jsou cystogenní žlázy, jejichž produkty se v průběhu encystace podílejí na tvorbě vnějšího a vnitřního obalu vznikající metacercárie (Thomas, 1883). U cercárií, které ještě nejsou

připraveny opustit mezipřístě, jsou dobře pozorovatelné po stranách těla a méně výrazně také před a za acetabulem (Obr. 6a). Po uvolnění z redie jsou cystogenní granula těchto žláz sekretována na vnější povrch cercárie, kde se formují do podoby příčných řad (Obr. 6c) (Swales, 1935).

Na anteriorním konci těla se nachází úzký ústní otvor obklopený mohutnou ústní přísavkou. Za ním následuje méně výrazný sférický hltan, krátký jícnem a střevo, které se přibližně v první třetině těla rozděluje na dvě jednoduché slepé větve pokračující po stranách téměř až k posteriornímu konci těla (Thomas, 1883, Barlow, 1925, Erhardová-Kotrlá, 1971). Za středem tělní části se nalézá břišní přísavka (tzv. acetabulum), která může být větší (*F. magna*), menší (*F. buski*) nebo přibližně stejně velká (*F. hepatica*, *F. gigantea*) jako ústní přísavka. Velikost obou se pohybuje mezi 0,041 a 0,070 mm (Thomas, 1883, Barlow, 1925, Swales, 1935, Kuntz, 1957).

Exkreční soustava je protonefridiálního typu s plaménkovými buňkami umístěnými po stranách v celé délce tělní části (jejich počet nebyl doposud určen). Sběrné kanálky vedou exkrety od plaménkových buněk nejdříve anteriorně k hltanu, kde se stáčí a spirálovitě se vinou až k exkrečnímu měchýři umístěnému na konci těla (Kuntz, 1957). Posteriorně vedoucí část sběrných kanálků je mezi ústní a břišní přísavkou rozšířena a vyplněna velkými reflexními granuly (v případě cercárie motolice *F. buski* je jejich velikost 1-23  $\mu\text{m}$ ) (Thomas, 1883, Barlow, 1925, Kuntz, 1957, Erhardová-Kotrlá, 1971). Zatímco Kuntz (1957) pozoroval u motolice *F. gigantea* krátký kanálek odvádějící exkrety z exkrečního měchýře do dorzálního exkrečního póru, Erhardová-Kotrlá (1971) zaznamenala u motolice *F. magna* vyústění exkrečního měchýře do kanálku procházejícího v celé délce ocásku cercárie.

Pohlavní soustava není u cercárie dosud vytvořena, pigmentované primordiální buňky můžeme nalézt v úzkém pruhu mezi břišní přísavkou a exkrečním měchýřem cercárie a dále pak v oblasti větvení střeva (Kuntz, 1957, Erhardová-Kotrlá, 1971).

K posteriornímu konci tělní části je prostřednictvím mohutných svalů ventrálně připojen ocásek (Barlow, 1925, Swales, 1935). Zatímco povrch ocásku motolic *F. hepatica*, *F. gigantea* a *F. magna* je opatřen velkým počtem na sebe navazujících příčných prstencovitých záhybů (Obr. 6a,b), ocásek motolice *F. buski* je zcela hladký (Thomas, 1883, Barlow, 1925, Swales, 1935, Kuntz, 1957).

### 5.3.2 Morfogeneze cercárie

Morfogeneze cercárií byla posána u motolic *F. gigantea*, *F. hepatica* a *F. magna* (Thomas, 1883, Dinnik a Dinnik, 1956, Kuntz, 1957, Erhardová-Kotrlá, 1971) a podle uvedených se pro tyto druhy zásadně neliší.

Proces postupného vzniku oválného nediferencovaného zárodku dělením zárodečných buněk je u cercárií stejný jako u redií (Thomas, 1883). V první fázi vývoje se ve středu tohoto buněčného shluku vytváří pár plaménkových buněk a některé zárodečné buňky se diferencují na primordia cystogenních žláz (Kuntz, 1957). Později se počet plaménkových buněk zvyšuje, dochází k jejich propojení posteriorně expandujícími exkrecním kanálkem a zakládají se shluky buněk, které dají vznik nejdříve ústní přísavce a později i hltanu a acetabulu (Thomas, 1883, Dinnik a Dinnik, 1956, Kuntz, 1957, Erhardová-Kotrlá, 1971). Ve stejné fázi vývoje vzniká i krátký pahýlovitý základ ocásku, který zůstává beze změny až do okamžiku, kdy je většina ostatních tělních struktur již diferencována (Dinnik a Dinnik, 1956, Kuntz, 1957). Další vývoj je charakteristický splnutím exkrecní kanálků v zadní části těla za vzniku exkrecních měchýře. Směrem od anterioru k posterioru se diferencuje trávicí soustava a vznikají další páry plaménkových buněk. Dotvářející se cystogenní žlázy postupně překrývají všechny laterálně umístěné struktury, které přestávají být viditelné (Thomas, 1883, Kuntz, 1957, Erhardová-Kotrlá, 1971). V poslední fázi vývoje dochází k rychlému růstu ocásku až do konečné velikosti 0,47-1 mm (Thomas, 1883, Barlow, 1925, Swales, 1935, Kuntz, 1957, Erhardová-Kotrlá, 1971).

### 5.3.3 Produkce cercárií

Produkce cercárií je v základních rysech velmi blízká produkci dceřiných redií. Stejně jako dceřiné redie, tak i cercárie se kontinuálně vyvíjejí z oválných zárodků vznikajících ze zárodečných buněk v zadní části těla redií a po dosažení určitého stupně vývoje opouštějí redii porodním otvorem (Barlow, 1925, Dinnik a Dinnik, 1956).

Produkce cercárií byla velmi podrobně popsána u motolice *F. gigantea* a mezihostitelského plže *L. natalensis* (Dinnik a Dinnik, 1956). U mateřských redií tohoto druhu dochází po 10 dnech produkce redií (27-30 dní po infekci) k přepnutí ve vývojovém programu zárodečných buněk a plynulému přechodu k produkci cercárií (Obr. 4b). V průběhu 10-15 dnů (30-45 dnů po infekci) vyprodukuje mateřské redie 15-24 cercárií a využijí všechny zárodečné buňky, které byly určeny k rozmnožování. Po 1-5 dnech jsou připraveny zárodečné buňky nové, ze kterých vzniknou další 0-3 redie a 2-9 cercárie (Dinnik a Dinnik, 1956). Obdobný průběh má nepohlavní rozmnožování i u dceřiných redií (všech generací), období produkce redií je u nich

ale výrazně kratší (asi 3 dny) a celková produkce cercárií nižší (před využitím první sady zárodečných buněk vyprodukují pouhých 6-16 cercárií) (Dinnik a Dinnik, 1956). Cercárie se z mezihostitele začínají uvolňovat 50 dnů po infekci. V prvních 44 dnech jich vyloučí infikovaný plž *L. natalensis* v průměru 37 každý den, což odpovídá celkovému množství 1628 cercárií (Rao, 1966).

Charakteristika produkce cercárií se u motolic *F. hepatica* a *F. gigantica* v zásadě neliší (Thomas, 1883, Augot a Rondelaud, 2001, Belfaiza a kol., 2004b). Protože však motolice *F. hepatica* využívá jako svého nejtypičtějšího mezihostitele poměrně malého plže *G. truncatula* (5-10 mm) schopného v jeden okamžik hostit pouhých 28-43 redií (Rondelaud a Barthe, 1987, cit. dle Rondelaud a kol., 2009), je celková denní produkce cercárií mnohem menší než u motolice *F. gigantica* a jejího typického mezihostitelského plže *L. natalensis*, ve kterém může současně parazitovat až 655 redií (Rao, 1966). Infikovaného jedince *G. truncatula* může tedy denně opustit pouhých 5-20 cercárií (Belfaiza a kol., 2004a).

U motolice *F. magna* nebyl narozdíl od předešlých dvou druhů nikdy pozorován vývoj cercárií v mateřských rediích (Swales, 1935, Erhardová-Kotrlá, 1971, Vignoles a kol., 2006). Poté, co se v dceřiných rediích začnou tvořit cercárie, mateřské redie zcela ukončují produkci larválních stádií (Vignoles a kol., 2006). Jak již bylo zmíněno v kapitole věnované produkci redií, u motolice *F. magna* byla popsána pouze jediná generace dceřiných redií (Swales, 1935, Erhardová-Kotrlá, 1971, Vignoles a kol., 2006). Každá redie této generace vyprodukuje pouhých 1-6 cercárií (Erhardová-Kotrlá, 1971), což by mohlo souviset s větší velikostí cercárií motolice *F. magna* (viz výše) a tedy i většími energetickými náklady na jejich produkci.

Stejně jako u motolice *F. magna* ani u motolice *F. buski* nebyla nikdy pozorována současná přítomnost vyvíjejících se cercárií a redií v jedné redii, která je pro motolice *F. hepatica* a *F. gigantica* v době přechodu k tvorbě cercárií typická (Barlow, 1925, Dinnik a Dinnik, 1956, Erhardová-Kotrlá, 1971). Navíc motolice *F. magna* a *F. buski* vykazují podobnost i ve vývoji cercárií, který probíhá výhradně v dceřiných rediích (Barlow, 1925, Erhardová-Kotrlá, 1971). Na druhou stranu, z hlediska množství cercárií vyprodukovaných jedinou redií je motolice *F. buski* oproti *F. magna* pravděpodobně nejproduktivnější motolicí čeledi Fasciolidae. V jedné dceřiné redii *F. buski* pozoroval Barlow (1925) obvykle 1-22 vyvinutých cercárií, velké množství cercárií v nejrůznějších fázích vývoje a mnoho nediferencovaných zárodků. Specifický mezihostitel *Segmentina hemisphaerula* (Benson, 1842), pouze 4 mm velký plž, vylučoval po infekci motolicí *F. buski* každý den v průměru 28 cercárií (Lo, 1967).

Poté, co se cercárie uvolní porodním otvorem z těla redie, zůstává v plži ještě několik hodin až dnů, než ho definitivně opustí (Barlow, 1925, Swales, 1935). Podle pozorování, které

učinil [Swales \(1935\)](#), využívá cercárie motolice *F. magna* tento čas k uspořádání granulárního obsahu cystogenních žláz do 100-125 příčných řad na povrchu těla (Obr. 6c).

Samotný proces, jak cercárie opouští mezihostitelského plže, byl pozorován *in situ* u motolice *F. buski* (Clessin, 1886) ([Barlow, 1925](#)). Po úniku z redie cercárie migrovala obvykle do lymfatického prostoru nad srdcem a v klidu zde setrvala až do doby, než dostala podnět k opuštění plže. Poté se začala velmi intenzivně pohybovat a plže nakonec opouštěla protržením tělní stěny v oblasti pláště nebo plicní dutiny ([Barlow, 1925](#)). Zcela jiný mechanismus úniku cercárií byl pozorován u motolice *F. hepatica*. Zde byly cercárie, které se doposud pohybovaly volně v mezihostiteli, nejdříve pasivně vyloučeny do prostoru obklopujícího hepatopankreas a poté i ven z těla plže ([Kendall a McCullough, 1951](#), [Erhardová-Kotrlá, 1971](#)). Podnět, jakým jsou cercárie motolic čeledi Fasciolidae stimulovány k opuštění mezihostitele ([Kendall a McCullough, 1951](#), [Erhardová-Kotrlá, 1971](#)), ani mechanismus díky kterému mohou v tak krátkém čase penetrovat tělní stěnu mezihostitele ([Barlow, 1925](#)), není dosud znám.

Po opuštění plže vyhledávají cercárie jakýkoliv pevný podklad v blízkosti hladiny ([Swales, 1935](#)). Pokud se jim ho podaří nalézt, přichytí se, odhazují ocásek a začnou sekretovat produkty cystogenních žláz, které okolo cercárie vytvoří vnitřní a vnější obal, čímž vzniká stádium metacercárie ([Barlow, 1925](#), [Køie a kol., 1977](#)). V této podobě vyčkává motolice na okamžik, kdy bude pozřena definitivním hostitelem, ve kterém dokončí svůj životní cyklus.

## **6. INTERAKCE PARAZIT-MEZIHOSTITEL**

Všechny známé systémy parazit-hostitel zahrnují řadu nejrůznějších a obvykle velmi komplikovaných vzájemných interakcí. Stejně je tomu i v případě parazitace larválních stádií motolic čeledi Fasciolidae v mezihostitelském plži.

Studie týkající se vztahů mezi motolicí a jejím mezihostitelem jsou velmi často zaměřeny na zkoumání imunitní odpovědi hostitele ([Lie a Heyneman, 1976](#), [Rondelaud a kol., 1988](#), [Sullivan a kol., 2004](#)) a patologických změn doprovázejících infekci ([Cheng a Lee, 1971](#), [Moore a Halton, 1973](#), [Humiczewska, 2004](#)) či na sledování odlišností v základních životních projevech infikovaných plžů (např. růst, délka života, plodnost) ([McClelland a Bourns, 1969](#), [Hodasi, 1972](#), [Sandland a Minchella, 2003](#)).



## 6.1 Imunitní odpověď meziphostitele

Interakce mezi imunitním systémem plže a larválními stádii motolic jsou studovány zejména na modelových organizmech - plž *Biomphalaria glabrata* (Say, 1818) a motolice *Schistosoma mansoni* (Sambon, 1907) (Sullivan a kol., 2004). Mnohem menší pozornost je v tomto ohledu věnována motolicím čeledi Fasciolidae a jejich meziphostitelským plžům (Rondelaud a kol., 1988).

Podobně jako u jiných organismů hraje i v imunitním systému plže zásadní roli schopnost rozpoznat cizorodé agens a vyvolat příslušnou imunitní reakci. Pokud je cizorodý objekt natolik velký, že jej není možné fagocytovat (např. sporocysty motolice), reagují buňky imunitního systému plže – améboocyty jeho obklopením (enkapsulace) a následnou degradací (Lie a Heyneman, 1976). Hlavní rozdíl mezi specifickým a nespecifickým meziphostitelem určitého druhu motolice zřejmě spočívá právě v odlišné schopnosti imunitního systému plže rozpoznat přítomnost této motolice a vhodným způsobem na ni zareagovat.

Proces enkapsulace sporocysty motolic čeledi Fasciolidae lymneidním plžem byl detailněji popsán pouze u *F. hepatica* a jejího nespecifického meziphostitelského plže *Stagnicola palustris*. V první fázi enkapsulace migrují vřetenovité améboocyty („host-reaction cells“) k místu lokalizace sporocysty a postupně ji v několika vrstvách zcela obklopí. Po vytvoření 2-3 vrstev těchto buněk, se začne stěna sporocysty rozpadat a zárodečné buňky degenerují. Poté, co je sporocysta zcela degradována, opouštějí améboocyty místo zánětu (McReath a kol., 1982).

Rozpoznání cizorodého agens doprovází zvýšení produkce améboocytů v tzv. améboocyt produkujícím orgánu („amebocyte-producing organ“) (Rondelaud a Barthe, 1982b). U plže *G. truncatula* je tento orgán uložen zadní části ledviny (Ruellan a Rondelaud, 1992). Bylo vypořádováno, že k intenzivní produkci améboocytů dojde u plžů infikovaných motolicí *F. hepatica* pouze v případě, že v době nákazy dosáhli určité limitní velikosti (u *G. truncatula* 1-1,5 mm) (Rondelaud a kol., 1988). Absence patřičné imunitní reakce by tak mohla vysvětlovat rozvinutí infekce i u nespecifických meziphostitelů, kteří jsou infikováni v dostatečně nízkém věku a jsou tedy malých rozměrů (Chroustová, 1979).

## 6.2 Histopatologické projevy doprovázející infekci

Larvální stadia motolic čeledi Fasciolidae vyvolávají v průběhu vývoje v meziphostitelském plži rozsáhlé histopatologické změny zasahující zejména hepatopankreas (slinivkojaterní žláza) a obojetnou žlázu. Jako modelový organizmus pro výzkum těchto projevů slouží nejčastěji motolice *F. hepatica* a její specifický meziphostitelský plž *G. truncatula*.

Hepatopankreas je velký žlázo­vý orgán produkující enzymy, které plní velmi významnou roli v intracelulárním a extracelulárním trávení plžů (např. lysozymy) (Moore a Halton, 1973). U plže *G. truncatula* je hepatopankreas tvořen sítí slepě zakončených kanálků obklopených pojivovou tkání. Vnitřní epitel kanálků se skládá ze dvou typů cylindrických a jednoho typu pyramidových buněk (Moore a Halton, 1973, Humiczewska, 2004) zprostředkovávajících intracelulární trávení, syntézu a sekreci trávicích enzymů (Moore a Halton, 1973). Třetí týden po infekci, kdy se redie motolice *F. hepatica* poprvé dostávají do hepatopankreatu, se v cylindrických buňkách epitelu kanálků postupně snižuje koncentrace zásobního glykogenu (Moore a Halton, 1973). Pravděpodobně se jedná o důsledek výrazně zvýšené aktivity metabolických enzymů sukcinát dehydrogenázy a laktát dehydrogenázy (Humiczewska, 2004). Ačkoli redie svým pohybem mechanicky poškozují pojivovou tkáň v okolí kanálků, samotné kanálky jsou poškozeny pouze nepřímo, což se projevuje ztenčením jejich stěny a narušením epitelu (Moore a Halton, 1973). V průběhu devátého týdne po infekci původně zvýšená aktivita sukcinát dehydrogenázy a laktát dehydrogenázy intenzivně klesá. Příčinou je zřejmě úbytek mitochondrií a poškození jejich membránové struktury (Humiczewska, 2004).

Dalším orgánem, který bývá výrazně poškozen v průběhu infekce mezihostitelského plže *G. truncatula* motolicí *F. hepatica*, je obojetná žláza (Hodasi, 1972, Wilson a Denison, 1980). Jedná se o reprodukční orgán tvořený sítí kanálků spojujících se do jediného vývodu ústí­cího v anteriorní části uteru. Z germinálního epitelu zde vznikají pohlavní buňky – oocyty a spermie (Łapeta, 2003). Koncem třetího týdne po infekci byla v samčích i samičích pohlavních buňkách sledována rostoucí aktivita sukcinát dehydrogenázy a isocitrát dehydrogenázy naznačující zvýšenou metabolickou aktivitu. Pátý týden po infekci došlo ke fragmentaci germinálního epitelu, poškození oocytů a postupnému poklesu aktivity obou zmíněných enzymů (Łapeta, 2001). Devátý týden po infekci byla obojetná žláza již zcela atrofovaná, poškozené oocyty byly zřejmě absorbovány tkání a jejich produkce ustala (Łapeta, 2003). Obojetná žláza může být kromě výše uvedených nepřímých vlivů motolice poškozena i přímým poží­ráním tkáně rediemi (Wilson a Denison, 1980), včetně vyvíjejících se vajíček (Łapeta, 2003).

Rozmnožování plže významně ovlivňuje i fyziologický stav bílkovinné žlázy, která produkuje látky se strukturní a výživovou funkcí nezbytné pro vývoj zárodků (Łapeta, 2003). Přestože se tato žláza v případě plže *G. truncatula* nedostává do přímého kontaktu s larválními stádii motolice *F. hepatica*, dochází u ní mezi čtvrtým a šestým týdnem po infekci k rozkladu proteosyntetického aparátu (Golgiho aparát a hrubé endoplazmatické retikulum) sekrečních buněk a k postupnému útlumu sekreční funkce (Humiczewska a kol., 1999). Ztráta funkce

obojetné žlázy se časově překrývá se ztrátou plodnosti mezihostitelského plže *G. truncatula* infikovaného motolicí *F. hepatica* (Hodasi, 1972, Wilson a Denison, 1980, Dreyfuss a kol., 1999, Humiczewska a kol., 1999) a je tedy velmi pravděpodobné, že spolu oba jevy souvisí.

### 6.3 Gigantismus a kastrace u infikovaných plžů

Některé druhy motolic pozitivně ovlivňují rychlost růstu a velikost napadených mezihostitelů (McClelland a Bourns, 1969, Hodasi, 1972, Muñoz-Antoli a kol., 2007). Tento jev označujeme jako gigantismus. Po původních experimentech, kdy byl motolicí *F. hepatica* infikován její specifický mezihostitel *G. truncatula*, se zdálo, že pozitivní efekt motolice na konečnou velikost infikovaných mezihostitelů je jasně prokazatelný (Hodasi, 1972, Wilson a Denison, 1980). Pozdější experimenty však ukázaly, že se gigantismus může, ale také nemusí projevit a to v závislosti na druhu mezihostitele a na populaci, ze které daný druh pochází (Gutiérrez a kol., 2000, 2002, Salazar a kol., 2006). Příkladem je mezihostitelský plž *Lymnaea columella* (Say, 1817), který byl podroben dvěma zcela nezávislým experimentům. První experiment provedl Gutiérrez a kol. (2002) na populaci plžů pocházejících z okolí Havany (Kubánská republika) a neprokázal žádný rozdíl v růstu ani výsledné velikosti infikovaných a kontrolních jedinců. V případě druhého experimentu, kdy byli použiti plži z populace pocházející z okolí města Rionegro (Kolumbie), byla výsledná velikost infikovaných jedinců dokonce prokazatelně menší než jedinců neinfikovaných (Salazar a kol., 2006).

Projevy gigantismu byly některými autory dávány do souvislosti se snížením plodnosti infikovaných plžů. Podle této hypotézy investuje plž, který se nerozmnožuje, nadbytek energie do růstu těla (Wilson a Denison, 1980, Gutiérrez a kol., 2000). Vodní plži čeledi Lymnaeidae nebo Planorbidae, figurující jako mezihostitelé motolic čeledi Fasciolidae (Lotfy a kol., 2008), kladou najednou až několik desítek vajíček v ochranném slizovitém obalu. U plže *G. truncatula* infikovaného více než jedním miracidem motolice *F. hepatica* zcela ustává kladení vajíček 2-4 týdny po infekci (Hodasi, 1972, Wilson a Denison, 1980, Dreyfuss a kol., 1999). Je zajímavé, že k výraznému snížení počtu nakladených snůšek došlo i u jedinců, u kterých se infekce nerozvinula (Dreyfuss a kol., 1999). Příčiny neplodnosti je tedy pravděpodobně nutné hledat spíše již v procesu penetrace a u stádia sporocysty. U mezihostitelských plžů *Fossaria cubensis* (Pfeiffer, 1839), *Lymnaea cousini* (Jousseau, 1887) bylo pozorováno jen částečné snížení počtu nakladených snůšek (Gutiérrez a kol., 2000, Salazar a kol., 2006) a u populace plže *L. columella* pocházející z Havany byl počet snůšek nakladených infikovanými plži



dokonce vyšší než u zdravých jedinců (Gutiérrez a kol., 2000). Zdá se tedy, že ani negativní vliv na plodnost není pevně svázán s druhem parazita a závisí spíše na druhu meziphostitele, který byl infikován.

## 7. ZÁVĚR

Tato práce shrnuje současné znalosti ontogenetického vývoje motolic čeledi Fasciolidae v meziphostitelských plžích a poukazuje na některé významné interakce parazit-meziphostitel, které jej provázejí.

Ontogenetickému vývoji v meziphostiteli je v porovnání s jinými oblastmi biologie motolic čeledi Fasciolidae (např. studiem patologických projevů nákazy u definitivních hostitelů) věnována jen malá pozornost. V důsledku toho nebyla bohužel dále rozvíjena ani ověřována převážná část zásadních poznatků získaných autory původních prací, jako např. Thomas, 1883, Barlow, 1925, Dinnik a Dinnik, 1956.

Detailní studium ontogenetického vývoje fasciolidních motolic v meziphostiteli by v budoucnu mohlo kromě ucelení pohledu na životní cyklus významně přispět také k obecnému pochopení vztahu motolice-meziphostitelský plž. Tyto vědomosti by pak měly také posloužit například k odhalení některých aspektů procesu adaptace expandujících druhů fasciolidních motolic (např. *F. magna* v Evropě) na „nové“ druhy meziphostitelů.

Nastíněnou problematiku bych chtěl z výše uvedených důvodů rozpracovat také během magisterského studia na katedře parazitologie, Přírodovědecké fakulty, Univerzity Karlovy, jehož experimentální část bude zaměřena na morfogenezi larválních stádií motolice *F. magna*.

## 8. POUŽITÁ LITERATURA

- Acosta-Ferreira W, Vercelli-Retta J, Falconi LM. 1979. *Fasciola hepatica* human infection. *Virchows Archiv* **383**: 319-327.
- Alicata JE. 1953. The snails, *Pseudosuccinea columella* (Say), new intermediate hosts for the liver fluke *Fasciola gigantica* Cobbold. *Journal of Parasitology* **39**: 673-674.
- Alicata JE a Swanson LE. 1937. *Fasciola gigantica*, a Liver Fluke of Cattle in Hawaii, and the Snail, *Fossaria ollula*, Its Important Intermediate Host. *Journal of Parasitology* **23**: 106-107.
- Augot D, Abrous M, Rondelaud D, Dreyfuss G, Cabaret J. 1999. *Fasciola hepatica*: an unusual development of redial generations in an isolate of *Lymnaea truncatula*. *Journal of Helminthology* **73**: 27-30.
- Augot D a Rondelaud D. 2001. Cercarial productivity of *Fasciola hepatica* in *Lymnaea truncatula* during usual and unusual development of redial generations. *Parasitology Research* **87**: 631-3.

- Augot D, Rondelaud D, Dreyfuss G, Cabaret J, Bayssade-Dufour C, Albaret JL. 1998.** Characterization of *Fasciola hepatica* redial generations by morphometry and chaetotaxy under experimental conditions. *Journal of Helminthology* **72**: 193-8.
- Barlow CH. 1925.** The life cycle of the human intestinal fluke *Fasciolopsis buski* (Lankester). *American Journal of Hygiene*, Monograph Series No. 4: 1-98.
- Belfaiza M, Abrous M, Rondelaud D, Moncef M, Dreyfuss G. 2004a.** The use of tetraphyll as food for snails increases the intensity of cercarial shedding in *Galba truncatula* infected with *Fasciola hepatica*. *Parasitology Research* **94**: 86-90.
- Belfaiza M, Rondelaud D, Moncef M, Dreyfuss G. 2004b.** *Fasciola hepatica*: cercarial productivity of redial generations in long-surviving *Galba truncatula*. *Journal of Helminthology* **78**: 115-20.
- Belfaiza M, Rondelaud D, Moncef M, Dreyfuss G. 2004c.** *Fasciola hepatica*: the effect of food quality on the development of redial generations in *Galba truncatula* infected with allopatric miracidia. *Parasitology Research* **92**: 12-7.
- Campbell WC. 1961.** Notes on the Egg and Miracidium of *Fascioloides magna*, (Trematoda). *Transactions of the American Microscopical Society* **80**: 308-319.
- Campbell WC a Todd AC. 1955.** Behavior of the miracidium of *Fascioloides magna* (Bassi, 1875) Ward, 1917 in the presence of a snail host. *Transactions of the American Microscopical Society* **74**: 342-347.
- Caron Y, Lasri S, Losson B. 2007.** *Fasciola hepatica*: an assessment on the vectorial capacity of *Radix labiata* and *R. balthica* commonly found in Belgium. *Veterinary parasitology* **149**: 95-103.
- Cheng TC a Lee FO. 1971.** Glucose levels in the mollusc *Biomphalaria glabrata* infected with *Schistosoma mansoni*. *Journal of Invertebrate Pathology* **18**: 395-9.
- Chipev NH. 1993.** Decoy effect and host infection by miracidia within snail communities. *Parasitology* **106**: 265-76.
- Christensen NO, Nansen P, Frandsen F. 1976.** Molluscs interfering with the capacity of *Fasciola hepatica* miracidia to infect *Lymnaea truncatula*. *Parasitology* **73**: 161-7.
- Chroustová E. 1979.** Experimental Infection of *Lymnaea palustris* snails with *Fascioloides magna*. *Veterinary Parasitology* **5**: 57-64.
- Coil WH. 1977a.** The penetration of *Fasciola hepatica* miracidia into the snail host *Fossaria bulimoides*. A scanning electron microscope study. *Zeitschrift für Parasitenkunde* **54**: 229-32.
- Coil WH. 1977b.** The penetration of *Fascioloides magna* miracidia into the snail host *Fossaria bulimoides*. A scanning electron microscope study. *Zeitschrift für Parasitenkunde* **52**: 53-9.
- Coil WH. 1981.** Miracidial penetration in *Fascioloides magna* (Trematoda). *Zeitschrift für Parasitenkunde* **65**: 299-307.
- Cucher MA, Carnevale S, Prepelitchi L, Labbé JH, Wisnivesky-Colli C. 2006.** PCR diagnosis of *Fasciola hepatica* in field-collected *Lymnaea columella* and *Lymnaea viatrix* snails. *Veterinary parasitology* **137**: 74-82.
- Dar Y, Vignoles P, Dreyfuss G, Rondelaud D. 2003.** *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica*: comparative morphometric studies on the redial stage of both species. *Parasitology Research* **91**: 369-73.
- Dar Y, Vignoles P, Rondelaud D, Dreyfuss G. 2002.** *Fasciola gigantica*: the growth and larval productivity of redial generations in the snail *Lymnaea truncatula*. *Parasitology Research* **88**: 364-7.
- Dawes B. 1959.** Penetration of the liver-fluke, *Fasciola hepatica* into the snail, *Lymnaea truncatula*. *Nature* **184**: 1334-5.
- Dawes B. 1960.** Penetration of *Fasciola gigantica* Cobbold, 1856 into snail hosts. *Nature* **185**: 51-3.

- Dinnik JA a Dinnik NN. 1956.** Observations on the succession of redial generations of *Fasciola gigantica* Cobbold in a snail host. *Zeitschrift für Tropenmedizin und Parasitologie* **7**: 397-419.
- Dinnik JA. a Dinnik NN. 1961.** On the morphology and life history of *Fasciola nyanzae* Leiper, 1910 from the hippopotamus. *Journal of Helminthology* **35**: 53-62.
- Dixon KE. 1964.** The relative suitability of sheep and cattle as hosts for the liver fluke, *Fasciola hepatica* L. *Journal of Helminthology* **38**: 203-212.
- Dreyfuss G, Novobilský A, Vignoles P, Bellet V, Koudela B, Rondelaud D. 2007.** Prevalence and intensity of infections in the lymnaeid snail *Omphiscola glabra* experimentally infected with *Fasciola hepatica*, *Fascioloides magna* and *Paramphistomum daubneyi*. *Journal of Helminthology* **81**: 7-12.
- Dreyfuss G, Rondelaud D, Vareille-Morel C. 1999.** Oviposition of *Lymnaea truncatula* infected by *Fasciola hepatica* under experimental conditions. *Parasitology Research* **85**: 589-93.
- Erhardová-Kotrlá B. 1971.** The occurrence of *Fascioloides magna* (Bassi, 1875) in Czechoslovakia. Prague; *Academia*, 155 pp.
- Faltýnková A, Horáčková E, Hirtová L, Novobilský A, Modrý D, Scholz T. 2006.** Is *Radix peregra* a new intermediate host of *Fascioloides magna* (Trematoda) in Europe? Field and experimental evidence. *Acta Parasitologica* **51**: 87-90.
- Foreyt WJ a Todd AC. 1976.** Development of the large American liver fluke, *Fascioloides magna*, in white-tailed deer, cattle, and sheep. *Journal of Parasitology* **62**: 26-32.
- Graczyk TK, Alam K, Gilman RH, Mondal G, Ali S. 2000.** Development of *Fasciolopsis buski* (Trematoda : Fasciolidae) in *Hippeutis umbilicalis* and *Segmentina trochoideus* (Gastropoda : Pulmonata). *Parasitology Research* **86**: 324-6.
- Griffiths HJ. 1955.** *Stagnicola palustris* (Müller), an intermediate host for *Fascioloides magna* (Bassi, 1875), in Minnesota. *Journal of Parasitology* **41**: 115.
- Griffiths HJ. 1959.** *Stagnicola (Hinckleyia) caperata* (Say), a natural intermediate host for *Fascioloides magna* (Bassi, 1875), in Minnesota. *Journal of Parasitology* **45**: 146.
- Griffiths HJ. 1973.** *Galba modicella* and *Lymnaea stagnalis* as experimental intermediate hosts for *Fascioloides magna* in Minnesota. *Journal of Parasitology* **59**: 121.
- Gutiérrez A, Perera G, Yong M, Sánchez J, Lin W. 2000.** Life-history traits of *Fossaria cubensis* (Gastropoda: Lymnaeidae) under experimental exposure to *Fasciola hepatica* (Trematoda: Digenea). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **95**: 747-52.
- Gutiérrez A, Yong M, Perera G, Sánchez J, Théron A. 2002.** *Fasciola hepatica* (Trematoda: Digenea): its effect on the life history traits of *Pseudosuccinea columella* (Gastropoda: Lymnaeidae), an uncommon interaction. *Parasitology Research* **88**: 535-9.
- Haberl B, Körner M, Spengler Y, Hertel J, Kalbe M, Haas W. 2000.** Host-finding in *Echinostoma caproni*: miracidia and cercariae use different signals to identify the same snail species. *Parasitology* **120**: 479-86.
- Hodasi JK. 1972.** The effects of *Fasciola hepatica* on *Lymnaea truncatula*. *Parasitology* **65**: 359-69.
- Humiczewska M. 1975.** Specific and non-specific phosphatases in the miracidium of *Fasciola hepatica* L. *Folia Histochemica et Cytochemica* **13**: 231-6.
- Humiczewska M. 2002.** Some specific and non-specific phosphatases of the sporocyst of *Fasciola hepatica*. II. Enzymes associated with the membrane transport. *Folia Parasitologica* **49**: 221-6.
- Humiczewska M. 2004.** Parasitic effects of rediae and cercariae of *Fasciola hepatica* on the cytochemistry of the digestive gland of *Lymnaea truncatula*. *Zoologica Poloniae* **49**: 53-62.
- Humiczewska M, Łapeta A, Rozen W. 1999.** Parasitic effect of *Fasciola hepatica* larvae on the ultrastructure of albumen gland of *Galba truncatula*. *Zoologica Poloniae* **44**: 5-22.

- Isseroff H a Smith KR. 1978.** Laboratory cultivation of *Fossaria cubensis* (Pheiffer) (Gastropoda: Lymnaeidae) for use as an intermediate host for *Fasciola hepatica*. *Journal of Parasitology* **64**: 1134-1135.
- Kalbe M, Haberl B, Haas W. 1996.** *Schistosoma mansoni* miracidial host-finding: species specificity of an Egyptian strain. *Parasitology Research* **82**: 8-13.
- Kalbe M, Haberl B, Haas W. 1997.** Miracidial host-finding in *Fasciola hepatica* and *Trichobilharzia ocellata* is stimulated by species-specific glycoconjugates released from the host snails. *Parasitology Research* **83**: 806-12.
- Kalbe M, Haberl B, Haas W. 2000.** Snail host finding by *Fasciola hepatica* and *Trichobilharzia ocellata*: compound analysis of "miracidia-attracting glycoproteins". *Experimental Parasitology* **96**: 231-42.
- Kendall SB. 1949.** *Lymnaea stagnalis* as an intermediate host of *Fasciola hepatica*. *Nature* **163**: 880-881.
- Kendall SB a McCullough FS. 1951.** The emergence of the cercariae of *Fasciola hepatica* from the snail *Limnaea truncatula*. *Journal of Helminthology* **25**: 77-92.
- Køie M, Christensen NO, Nansen P. 1976.** Stereoscan studies of eggs, free-swimming and penetrating miracidia and early sporocysts of *Fasciola hepatica*. *Zeitschrift für Parasitenkunde* **51**: 79-90.
- Køie M, Nansen P, Christensen NO. 1977.** Stereoscan studies of rediae, cercariae, cysts, excysted metacercariae and migratory stages of *Fasciola hepatica*. *Zeitschrift für Parasitenkunde* **54**: 289-97.
- Krull WH. 1933.** A new intermediate host for *Fascioloides magna* (Bassi, 1873) Ward, 1917. *Science, New Series*, **78**: 508-509.
- Kuntz RE. 1957.** Development of the cercariae of *Fasciola gigantica* Cobbold 1855, with emphasis on the excretory system. *Transactions of the American Microscopical Society* **76**: 269-74.
- Kuntz RE a Lo CT. 1967.** Preliminary studies on *Fasciolopsis buski* (Lankester, 1857) (giant Asian intestinal fluke) in the United States. *Transactions of the American Microscopical Society* **86**: 163-6.
- Łapeta A. 2001.** Effects of invasion of larval *Fasciola hepatica* on histochemical and cytochemical activity of selected aerobic respiration enzymes in the hermaphroditic gland of *Lymnaea (Galba) truncatula*. *Zoologica Poloniae* **46**: 43-67.
- Łapeta A. 2003.** Effects of larvae of *Fasciola hepatica* on the activity of lactate dehydrogenase in reproductive glands of *Lymnaea (Galba) truncatula*. *Zoologica Poloniae* **48**: 43-69.
- Lee CG, Cho SH, Lee CY. 1995.** Metacercarial production of *Lymnaea viridis* experimentally infected with *Fasciola hepatica*. *Veterinary Parasitology* **58**: 313-8.
- Lie KJ a Heyneman D. 1976.** Studies on resistance in snails. 5. Tissue reactions to *Echinostoma lincolense* in naturally resistant *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Parasitology* **62**: 292-7.
- Lo CT. 1967.** Life history of the snail, *Segmentina hemisphaerula* (Benson), and its experimental infection with *Fasciolopsis buski* (Lankester). *Journal of Parasitology* **53**: 735-8.
- Lotfy WM, Brant SV, DeJong RJ, Le TH, Demiaszkiewicz A, Rajapakse RP, Perera VB, Laursen JR, Loker ES. 2008.** Evolutionary origins, diversification, and biogeography of liver flukes (Digenea, Fasciolidae). *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* **79**: 248-55.
- McClelland G a Bourns TK. 1969.** Effects of *Trichobilharzia ocellata* on growth, reproduction, and survival of *Lymnaea stagnalis*. *Experimental Parasitology* **24**: 137-46.
- McReath AM, Reader TA, Southgate VR. 1982.** The development of the host-response in juvenile *Lymnaea palustris* to invasion by *Fasciola hepatica*. *Zeitschrift für Parasitenkunde* **67**: 175-84.
- Moore MN a Halton DW. 1973.** Histochemical changes in the digestive gland of *Lymnaea truncatula* infected with *Fasciola hepatica*. *Zeitschrift für Parasitenkunde* **43**: 1-16.

- Mungube EO, Bauni SM, Tenhagen BA, Wamae LW, Nginyi JM, Mugambi JM. 2006.** The prevalence and economic significance of *Fasciola gigantica* and *Stilesia hepatica* in slaughtered animals in the semi-arid coastal Kenya. *Tropical Animal Health and Production* **38**: 475-83.
- Muñoz-Antoli C, Marín A, Toledo R, Esteban JG. 2007.** Effect of *Echinostoma friedi* (Trematoda: Echinostomatidae) experimental infection on longevity, growth and fecundity of juvenile *Radix peregra* (Gastropoda: Lymnaeidae) and *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Planorbidae) snails. *Parasitology Research* **101**: 1663-70.
- Nakagawa K. 1922.** The Development of *Fasciolopsis buski* Lankester. *Journal of Parasitology* **8**: 161-166.
- Nansen P, Frandsen F, Christensen NO. 1976.** A study on snail location by *Fasciola hepatica* using radioisotopically labelled miracidia. *Parasitology* **72**: 163-71.
- Ogambo-Ongoma AH a Goodman JD. 1976.** *Fasciola gigantica* Cobbold 1856 in the snail. . *Journal of Parasitology* **62**: 33-38.
- Ollerenshaw CB a Graham EG. 1986.** Differentiation of the rediae of *Fasciola hepatica* and *Fasciola gigantica*. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **80**: 573-4.
- Parkinson M, O'Neill SM, Dalton JP. 2007.** Endemic human fasciolosis in the Bolivian Altiplano. *Epidemiology and Infection* **135**: 669–674.
- Pointier JP, Coustau C, Rondelaud D, Theron A. 2007.** *Pseudosuccinea columella* (Say 1817) (Gastropoda, Lymnaeidae), snail host of *Fasciola hepatica*: first record for France in the wild. *Parasitology Research* **101**: 1389-92.
- Preveraud-Sindou M, Dreyfuss G, Rondelaud D. 1994.** Comparison of the migrations of *Fasciola hepatica* sporocysts in *Lymnaea truncatula* and other related snail families. *Parasitology Research* **80**: 342-5.
- Rakotondraivo, Moukrim A, Hourdin P, Rondelaud D. 1992.** Redial generations of *Fasciola gigantica* in the pulmonate snail *Lymnaea truncatula*. *Journal of Helminthology* **66**: 159-66.
- Rao MP. 1966.** On the comparative susceptibility of *Lymnaea natalensis* (Kraus) and *L. rufescens* (Gray) to infection with *Fasciola gigantica* (West African strain) and the tissue responses in the snails. *Journal of Helminthology* **40**: 131-40.
- Rondelaud D a Barthe D. 1982a.** Les generations rediennes de *Fasciola hepatica* L. chez *Lymnaea truncatula* Miiller. Pluralite des schemas de developpement. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée* **57**: 639-642.\*
- Rondelaud D a Barthe D. 1982b.** Relationship of the amoebocyte-producing organ with the generalized amoebocytic reaction in *Lymnaea truncatula* Müller infected by *Fasciola hepatica* L. *Journal of Parasitology* **68**: 967-9.
- Rondelaud D a Barthe D. 1987.** *Fasciola hepatica* L.: étude de la productivité d'un sporocyste en fonction de la taille de *Lymnaea truncatula*. *Parasitology Research* **74**: 155-160.\*
- Rondelaud D, Belfaiza M, Vignoles P, Moncef M, Dreyfuss G. 2009.** Redial generations of *Fasciola hepatica*: a review. *Journal of Helminthology* **83**: 245-54.
- Rondelaud D, Bouix-Busson D, Barthe D. 1988.** Relationship between shell height and a proliferative response of the amoebocyte-producing organ in two species of *Lymnaea* (Gastropoda: Mollusca) infected by *Fasciola hepatica*. **51**: 294-295.
- Ruellan L a Rondelaud D. 1992.** Lamellar structure of the amoebocyte-producing tissue in *Lymnaea truncatula* infected with *Fasciola hepatica*. *Parasitology Research* **78**: 270-2.
- Salazar L, Estrada VE, Velásquez LE. 2006.** Effect of the exposure to *Fasciola hepatica* (Trematoda: Digenea) on life history traits of *Lymnaea cousini* and *Lymnaea columella* (Gastropoda: Lymnaeidae). *Experimental Parasitology* **114**: 77-83.
- Sandland GJ a Minchella DJ. 2003.** Effects of diet and *Echinostoma revolutum* infection on energy allocation patterns in juvenile *Lymnaea elodes* snails. *Oecologia* **134**: 479-86.
- Southgate VR. 1969.** Studies on biology and host-parasite relationships of some larval Digenea. Ph.D. Thesis University of Cambridge.\*

- Southgate VR. 1970a.** Observations on the effect of the rediae of *Fasciola hepatica* on the lipid composition of the hepatopancreas of *Lymnaea truncatula*. *Parasitology* **61**: 293-9.
- Southgate VR. 1970b.** Observations on the epidermis of the miracidium and on the formation of the tegument of the sporocyst of *Fasciola hepatica*. *Parasitology* **61**: 177-90.
- Stemmermann GN. 1953.** Human infestation with *Fasciola gigantica*. *American Journal of Pathology* **29**: 731-759.
- Sullivan JT, Pikios SS, Alonzo AQ. 2004.** Mitotic responses to extracts of miracidia and cercariae of *Schistosoma mansoni* in the amebocyte-producing organ of the snail intermediate host *Biomphalaria glabrata*. *Journal of Parasitology* **90**: 92-6.
- Swales WE. 1935.** The life cycle of *Fascioloides magna* (Bassi, 1875) the large liver fluke of ruminants, in Canada, with observation on the bionomics of the larval stages and the intermediate hosts, pathology of *Fascioloides magna* and control measures. *Canadian Journal of Research* **12**: 177-215.
- Thomas AP. 1883.** The life history of the liver fluke (*Fasciola hepatica*). *Quarterly Journal of Microscopical Society* **23**: 90-113.
- Valkounová J, Žďárská Z, Našincová V. 1989.** Ultrastructural observations on the redia of *Echinostoma revolutum* (Froelich, 1802). *Folia Parasitologica* **36**: 25-30.
- Vignoles P, Novobilský A, Rondelaud D, Bellet V, Treuil P, Koudela B, Dreyfuss G. 2006.** Cercarial production of *Fascioloides magna* in the snail *Galba truncatula* (Gastropoda: Lymnaeidae). *Parasitology Research* **98**: 462-7.
- Wilson RA. 1969a.** Fine structure and organization of the musculature in the miracidium of *Fasciola hepatica*. *Journal of Parasitology* **55**: 1153-61.
- Wilson RA. 1969b.** Fine structure of the tegument of the miracidium of *Fasciola hepatica* L. *Journal of Parasitology* **55**: 124-33.
- Wilson RA. 1972.** Gland cells in the redia of *Fasciola hepatica*. *Parasitology* **65**: 433-6.
- Wilson RA a Denison J. 1980.** The parasitic castration and gigantism of *Lymnaea truncatula* infected with the larval stages of *Fasciola hepatica*. *Zeitschrift für Parasitenkunde* **61**: 109-19.
- Wilson RA, Pullin R, Denison J. 1971.** An investigation of the mechanism of infection by digenetic trematodes: the penetration of the miracidium of *Fasciola hepatica* into its snail host *Lymnaea truncatula*. *Parasitology* **63**: 491-506.
- Wright WR. 1928.** Note on the locomotion of the redia of *Fasciola hepatica*. *Parasitology* **20**: 113-114.
- Yu SH a Mott KE. 1994.** Epidemiology and morbidity of food-borne intestinal trematode infections. *Tropical Diseases Bulletin* **91**: 125-152.
- Žďárská Z, Našincová V, Valkounová, J. 1988.** Multiciliate sensory endings in the redia of *Echinostoma revolutum* (Trematoda, Echinostomatidae). *Folia Parasitologica* **35**: 17-20.

\*sekundární citace