

Univerzita Karlova v Praze

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Evoluční a ekologická biologie



Jana Ružarovská

**Hostitelská specificita patogenů perlooček rodu
*Daphnia***

**Host specificity of pathogens of water fleas of the genus
*Daphnia***

Bakalářská práce

Školitel: doc. RNDr. Adam Petrusek Ph.D.

Praha 2011

ABSTRAKT

Perloočky rodu *Daphnia* jsou napadány širokou škálou parazitů s různě širokým hostitelským spektrem. Patří mezi ně především zástupci bakterií, prvoků (skupiny Ichtyosporea), kvasinek, mikrosporidií a oomycet. Specificita těchto parazitů se velmi liší. Najdeme mezi nimi zástupce, napadající pouze jediný druh hostitele, ale i takové, kteří ve svém životním cyklu mají mnoho hostitelských druhů (i různých podkmenů). Systém parazit-hostitel podléhá neustálé koevoluci, kdy parazité vytvářejí na hostitele negativní frekvenčně závislou selekci, která se často projevuje klonální/izolátovou specificitou obou antagonistů, udržováním genetického polymorfismu, sníženou virulencí aj. Zvláštní skupinou jsou potom epibionti, žijící na povrchu nositele. U nich se specializace projevuje preferencí substrátu. Tato práce shrnuje dosavadní znalosti o specificitě vybraných parazitů perlooček rodu *Daphnia* a pozastavuje se i nad jejich životními cykly.

Klíčová slova: hostitelská specificita, specializace, generalista, *Daphnia*, mikrosporidie, vícehostitelský životní cyklus, epibiont.

ABSTRACT

Water fleas of the genus *Daphnia* are infected by a wide range of parasites with different host range. These parasites are mainly representatives of bacteria, protozoa (group Ichtyosporea), yeasts, microsporidia and oomycetes. Host specificity of these parasites is very different. We can find there those, who infect only one host species, but also those, who infect a lot of host species (also hosts of different subphylums). Antagonistic coevolution is the major driving force for evolution of the parasite-host system. Parasites create on their host negative frequency-dependent selection, that cause a lot of phenomenons such as clonal/isolate specificity of both antagonists, maintenance of genetic polymorphism, decreasing virulence etc. A special group of organisms are epibionts, that live on the surface of their holder. Their specialization manifests as preference of a substrate. This thesis summarizes a current knowledge on the host specificity of chosen parasites of the genus *Daphnia* and also includes what is known about their life cycles.

Key words: Host specificity, specialization, generalist, *Daphnia*, microsporidia, complex life cycle, epibiont.

Prohlášení:

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

V Praze 8.8.2011

.....

Jana Ružarovská

OBSAH

1. ÚVOD.....	5
2. PERLOOČKY RODU <i>DAPHNIA</i> JAKO HOSTITELÉ	8
2.1. <i>Daphnia</i>	8
2.2. Projevy a důsledky parazitace na perloočkách rodu <i>Daphnia</i>	9
2.2.1. Způsoby nákazy	9
2.2.2. Orgánová specifita	10
3. SPECIALIZOVANÍ PARAZITÉ	12
3.1. Výhody a nevýhody specializace.....	13
3.2. Klonální specifita	14
3.3. Specializovaní parazité perlooček rodu <i>Daphnia</i>	16
3.3.1. Extrémní specialisté	16
3.3.2. Parazité objevující se v rámci rodu <i>Daphnia</i>	20
4. PARAZITÉ SE ŠIROKÝM HOSTITELSKÝM SPEKTRUM	23
4.1. Omezení hostitelského spektra	23
4.2. Generalisté v rámci celé skupiny perlooček	24
4.3. Parazité napadající rozmanité druhy hostitelů, včetně r. <i>Daphnia</i>	25
5. VÍCEHOSTITELSKÉ CYKLY	28
5.1. Známé příklady vícehostitelských mikrosporidií.....	28
5.2. Vícehostitelské mikrosporidie napadající perloočky rodu <i>Daphnia</i>	29
6. SPECIFICITA EPIBIONTŮ	32
6.1. Specializovaní epibionti	32
6.2. Epibionti napadající mimo jiné i perloočky rodu <i>Daphnia</i>	33
ZÁVĚR.....	35
SEZNAM LITERATURY	37

Na tomto místě bych ráda poděkovala těm, bez kterých by tato práce nevznikla. Především mému školiteli, který mi vždy ochotně poradil a vyšel vstříc. Velké poděkování patří také mému příteli a rodině, kteří mě při mé práci neustále podporovali a bez kterých si své studium nedokážu představit.

1. ÚVOD

Jako parazit je definován organismus, který v některé fázi svého životního cyklu využívá organismy jiné – hostitele – jako zdroj potravy i jako stálé nebo dočasné životní prostředí, a tím jim přímo nebo nepřímo škodí (Flegr 2009). Parazit ani hostitel nejsou touto definicí vymezeni taxonomicky, ale ekologicky, a mohou jimi tedy být jakékoli organismy na Zemi od viru po savce (Lange 2009, Barret et al. 2008). Parazitismus je ve srovnání s predací daleko užší vztah, a proto bývá specializace systému hostitel-parazit vyšší, než tomu bývá u systému kořist-predátor (Flegr 2009).

Jelikož je specifická parazita důsledkem koevoluce s hostitelem, je často dána ekologickými vlastnostmi hostitele, jako jsou areál výskytu či nároky na kvalitu prostředí, nebo jeho evoluční historii, a v případě živočichů pak i vlastnostmi etologickými, jako je sociální chování, či způsob rozmnožování apod. (Woolhouse et al. 2005, Thompson et al. 1994).

Ve své práci se budu zabývat konkrétním hostitelským prostředím, a to perloočkami rodu *Daphnia*. Jedná se o drobné členovce z podkmene korýšů žijící se filtrací fytoplanktonu. Vyskytují se v široké škále prostředí po celém světě. Najdeme je v eutrofních rybnících, horských jezerech, ale i v dočasných stojatých vodách (Benzie 2005). Již od druhé poloviny 17. století je *Daphnia* považována za významnou součást zooplanktonu (Ebert 2005) a v moderní vědě zaujímá důležité místo jako modelový organismus, podobně jako např.: *Drosophila*, *Escherichia coli* či *Arabidopsis thaliana*. Důvodů je hned několik, mezi hlavní bych zařadila asexuální rozmnožování, krátkou generační dobu a v neposlední řadě snadný chov v laboratorních podmínkách (De Bernardi, Peters 1987; Ebert 2005). Perloočky rodu *Daphnia* se rozmnožují dvěma způsoby, a to partenogeneticky (po větší část svého životního cyklu) a sexuálně. Partenogenetickým rozmnožováním v nové generaci vznikají jak samice, tak samci se stejnou genetickou výbavou. Samci se obvykle v populaci objevují pouze při zhoršování podmínek prostředí, jako je zkrácení fotoperiody, snížení množství potravy či snížení teploty. Sexuálním rozmnožováním jsou produkována dormantní stádia, která jsou uložena v chitinózním pouzdře – efipiu, a díky tomu jsou schopna přežít nepříznivá období v sedimentu (Benzie 2005).

Perloočky rodu *Daphnia* jsou hostiteli řady parazitů. Mezi nejstudovanější z nich patří především bakterie, kvasinky, prvoci (zejména ze skupiny Ichthyosporea), mikrosporidie a oomycety. Zatímco bakterie i kvasinky jsou všeobecně známé organismy (byť ne nutně jako paraziti planktonních korýšů), skupiny mikrosporidií, oomycet a skupinu Ichthyosporea představím blíže.

Třída prvoků Ichthyosporea, jinak zvaná plísňovky, je na rozdíl od kvasinek (které se často živí i saprofyticky) výhradně parazitická. Jedná se o drobné, jednobuněčné organismy příbuzné živočichům. Často napadají vodní živočichy (Lohr et al. 2010).

Významnou skupinou parazitů je třída mikrosporidií. Jedná se o vysoce specializované intracelulární jednobuněčné parazity živočichů. Patří mezi ně významní parazité široké škály skupin živočichů, včetně člověka.

Poslední z parazitů, kterým se ve své práci podrobněji věnuji a kteří napadají perloočky rodu *Daphnia*, jsou oomycety. Oomycety, známé také pod českým synonymem řasovky, jsou organismy řadící se mezi houby, které ovšem některými charakteristikami (buněčná stěna tvořená celulózou) připomínají řasy. Patří mezi ně suchozemské i vodní organismy, živící se paraziticky i saprofyticky. Tato třída zahrnuje jak fytoparazity, tak parazity živočichů.

Zvláštní netaxonomickou skupinou vázanou i na hostitele z rodu *Daphnia* jsou potom epibionti. Jedná se o drobné organismy, mezi které patří zástupci široké škály skupin. Pro perloočky rodu *Daphnia* jsou významní především zástupci bakterií, řas, prvoků i vířníků. Mezi nimi najdeme jak úzce specializované druhy, tak i generalisty žijící na povrchu širšího spektra druhů zooplanktonu, ale i na neživém či nepohyblivém substrátu. Nejedná se většinou o parazity v pravém slova smyslu, často totiž svému nositeli nijak neškodí. Žijí přichyceni na jeho povrchu a pouze je-li takto přichycených jedinců velké množství, může to negativně ovlivnit nositele (Threlkeld et al. 1993).

Specializace parazita na určitého hostitele může mít řadu důsledků. Jedním z nich je přizpůsobení virulence a patogenity parazita (Thompson et al. 1994). Zatímco generalistický parazit v případě, že vyhubí některý ze svých hostitelských druhů, má stále možnost najít dalšího hostitele, specialista tuto možnost nemá, a proto je pro něj evolučně výhodnější minimalizovat svůj negativní vliv na hostitele. Taková adaptace pak může eliminovat nevýhody úzkého spektra hostitelských druhů. Specializace se z dlouhodobého hlediska může tedy jevit jako výhodná, ale

krátkodobě jsou na tom často lépe generalisté, především díky širší škále hostitelů, které mohou využívat (Flegr 2009).

Hlavním důvodem vzniku specifity, která může být v některých případech tak úzká, že parazit není schopen dokončit svůj životní cyklus bez určitého hostitelského druhu, je fakt, že evoluce systému parazit-hostitel má podobu koevoluce, nebo také „závodů ve zbrojení“ (Tobler & Schupp 2008). Hostitel vyvíjí více či méně specifické obranné mechanismy, které se parazit snaží překonávat, a jsou-li tyto mechanismy specializované na daný hostitelský druh, může právě tímto způsobem docházet ke zužování specifity daného parazita.

Hostitelská specifita se často popisuje pomocí terminologie založené na příbuznosti hostitelských druhů. Jako oioxenní, nebo také monoxenní se označuje parazit napadající pouze jednoho hostitele. Jako stenoxenní se potom označuje takový druh parazita, který napadá okruh fylogeneticky příbuzných druhů, a napadá-li parazit okruh nepříbuzných druhů, označuje se jako euryxenní (Flegr 2009).

V dalších kapitolách své práce se budu zabývat významnými parazity perlooček rodu *Daphnia*, mezi kterými najdeme všechny typy specializace, tedy od úzce specializovaných parazitů až po ty euryxenní. Dále se také pozastavím nad otázkou výhod a nevýhod specializace, faktory bránícími parazitovi napadat jakýkoli dostupný organismus a vícehostitelskými cykly parazitů hrotnatek.

2. PERLOOČKY RODU *DAPHNIA* JAKO HOSTITELÉ

2.1. *Daphnia*

Perloočky rodu *Daphnia* jsou obvykle 1,1 – 6,0 mm velcí, často průhlední korýši, patřící do třídy lupenonožců (Branchiopoda) (Hudec 2010). Jedná se o sladkovodní filtrátory, nejčastěji se živí fytoplanktonem rozptýleným ve vodním sloupci (některé druhy žijící v mělkých vodách se živí i seškrabováním nárostů na dně nádrží či na nárostech na vegetaci) (Benzie 2005). Sami jsou, jako významní zástupci zooplanktonu, potravou pro některé druhy bezobratlých (např. znakoplavky, larvy koreter a jiné) a pro mnoho druhů ryb (Ebert 2008, Ebert 2005). Globální diverzita rodu je dnes odhadována na více než 200 druhů (Forró et al. 2008). Žijí v různých typech trvalých i dočasných habitatů s různými vlastnostmi (salinita, teplota, trofie, aj.) (Benzie 2005; Ebert 2005).

Jednotlivé charakteristiky, jako počet vajíček ve snůšce, počet snůšek, doba, za kterou se jednotlivé snůšky uvolňují aj., se obvykle u různých druhů perlooček rodu *Daphnia* liší. Liší se také v závislosti na podmínkách prostředí (teplota, dostupnost potravy, aj.) či velikosti jedince. Konkrétní informace uvedené níže se týkají druhu *D. magna*, často využívaného v experimentálních studiích.

Většina druhů rodu se rozmnožuje pomocí diploidních vajíček produkovaných partenogenetickými samicemi (Obr.1). V laboratorních podmínkách produkuje samice obvykle první snůšku po sedmi až patnácti dnech, průměrná snůška má potom okolo dvaceti vajíček (Ebert 2008). Takto produkovaní jedinci jsou obvykle samice. Po větším či menším počtu partenogenetických cyklů, většinou jako odpověď na změnu podmínek prostředí (fotoperioda, množství dostupné potravy, teplota), se objevují ve snůšce i samci. Tito samci poté oplodní některé samice, které tvoří haploidní vajíčka za pomoci meiózy. Tyto pohlavně rozmnožující se samice se nazývají efipiální (podle efipia, dobře patrné ochranné struktury chránící vyprodukovaná diapauzující embrya). Zpravidla jsou produkována dvě vajíčka uložená v efipiu, které chrání embrya a umožňuje jim přežít v sedimentu nepříznivé podmínky i po několik desetiletí (Benzie 2005; Decaestecker et al. 2007). Vývoj nových jedinců z vajíček vzniklých jak partenogenezí, tak z vajíček vzniklých sexuálním rozmnožováním je přímý, bez metamorfózy. Samice dospívají v pátém instaru. Dospělci poté pokračují v růstu, který je spojen s uvolňováním živých mláďat a následným svlékáním. Samice produkují až dvacet snůšek (Ebert 2008).



Obr. 1: *Daphnia magna* s partenogenetickými vajíčky (převzato z Ebert 2005).

2.2. Projevy a důsledky parazitace na perloočkách rodu *Daphnia*

Parazité působí na hostitele různě. Někdy je nákaza patrná na první pohled, jako například při změně velikosti infikovaného jedince (gigantismus hrotnatek, způsobený parazitickou bakterií *Pasteuria ramosa*), změně zbarvení (růžové až červené zbarvení hrotnatek, způsobené bakterií *Spirobacillus cienkowskii*, bělavé zbarvení způsobené sporami houby *Metschnikowia bicuspidata* a jiné). Změna zbarvení může být pro hostitele velkou nevýhodou, vyskytuje-li se na lokalitě společně s predátory, kteří se při lovu řídí zrakem (typicky ryby). Takové hrotnatky jsou pro ně pak totiž mnohem snáze pozorovatelné (Duffy et al. 2005).

Jindy nejsou důsledky nákazy patrné tak snadno a objevíme je až po delším pozorování, jako je tomu například u snížení reprodukčních schopností (některé druhy mikrosporidií napadající perloočky rodu *Daphnia*), kdy může docházet až ke kastraci hostitele (bakterie parazitující na hrotnatkách). Ovšem v případě bakterie *Pasteuria ramosa* je nákaza patrná na první pohled díky doprovodnému gigantismu. Další takové újmy způsobené hostiteli jsou snížení životaschopnosti nebo ztížení plavání díky většímu ponoru, způsobenému nárůstem epibiontů (Ebert 2005; Ebert 2008).

2.2.1. Způsoby nákazy

Jednotlivé druhy parazitů se šíří v hostitelské populaci různým způsobem. Na mechanismu tohoto šíření závisí velké množství biologických vlastností, jako například virulence, patogenita a mimo jiné také specifická (Flegr 2009).

Pro většinu parazitů, které budu zmiňovat dále, je běžnější horizontální přenos, ať už pomocí infekčních partikulí uvolněných ze živého hostitele (některé druhy mikrosporidií, jako např. *Glugoides intestinalis*, *Ordospora colligata* nebo také

prvok *Caullerya mesnili* ze skupiny Ichthyosporea) nebo pomocí infekčních partikulí uvolněných z mrtvého jedince (jako například u bakteriálních onemocnění perlooček rodu *Daphnia* nebo u infekce způsobené kvasinkou *Metschnikowia bicuspidata*) (Ebert 2008; Ebert 1994). Tyto partikule pozře jedinec s další potravou, protože filtrační aparát perlooček rodu *Daphnia* je tak výkonný, že dokáže zachytit i částičky o velikosti bakterie (Benzie 2005).

U řady druhů parazitů je ale znám jiný způsob přenosu, a to vertikální, tedy z rodičů na potomky. Vztah mezi vertikálně přenosným parazitem a hostitelem často bývá mnohem užší, a může tak docházet k vzájemné koevoluci, která může mít za následek snížení virulence nebo zúžení specifity (Flegr 2009). Tento způsob přenosu je u parazitů hrotnatek znám například u mikrosporidií rodu *Hamiltosporidium* (viz 3.3.1.1.) (Ebert 2008, Roth et al. 2008).

2.2.2. Orgánová specifita

Není výjimkou, že parazit v hostiteli napadá konkrétní skupinu buněk či orgán a vytváří si tím jistou specifitu, která nám může pomoci v identifikaci parazita, nebo alespoň zúžit okruh možných parazitů.

Místem nákazy u hrotnatek často bývá střevo a střevní epitel, který je typický pro některá mikrosporidiální onemocnění (např.: *Glugoides intestinalis*, *Ordospora colligata*), ale i pro prvoka *Caullerya mesnili* (Decaestecker et al. 2003; Wolinska et al. 2007). Dále také tukové buňky hostitele, jako je tomu například u mikrosporidií *Hamiltosporidium magnivora*, *H. tvaerminnensis* a *Larssonia daphniae* (Refardt et al. 2002; Ebert 2005) nebo kokální bakterie způsobující onemocnění známé jako „White Fat Cells Disease“ (Decaestecker et al. 2005). Dalším z těchto míst jsou i oocyty hostitele, kde lze najít oba dva druhy parazitů z rodu *Hamiltosporidium* (při silné nákaze vyplňuje celou tělní dutinu). Pro některé druhy bakterií (*Pasteuria ramosa*, *Spirobacillus cienkowskii*) je charakteristický výskyt v hemolymfě (Ebert 2005). Někteří parazité napadají snůšku hostitele (některé oomycety z čeledi Saprolegniaceae se v tomto prostoru začínají rozvíjet), ale infekce nemusí být trvale lokalizovaná pouze v tomto prostoru. Může se rozšířit i do jiných částí těla (Wolinska et al. 2007). Takoví parazité se v anglických textech také označují jako „brood parasite“ (tj. parazit snůšky).

U perlooček rodu *Daphnia* jsou ovšem známí i parazité napadající epidermis, hypodermis, krunýř nebo vyplňující celou tělní dutinu, jako to svými sporami dělá kvasinka *Metschnikowia bicuspidata* (Ebert 2005).

3. SPECIALIZOVANÍ PARAZITÉ

V této kapitole bych se ráda zabývala specializovanými parazity perlooček rodu *Daphnia*. Takový parazit neustále čelí dvěma tlakům. Prvním je imunitní systém hostitele, který parazit musí obejít. Druhým je snaha eliminovat jiné parazity, se kterými by se musel dělit o stejný zdroj. Oběma těmto tlakům čelí samozřejmě všichni parazité, nejen ti specializovaní. V případě specializovaného parazita bývá ale imunitní systém hostitele často konkrétně zaměřen na projevy tohoto parazita, a to díky již zmíněnému koevolučnímu „závodu ve zbrojení“. Stejně tak v případě konkurence o zdroj je pro specializovaného parazita situace komplikovanější v tom, že nemůže využít jiného hostitele (Tobler & Schupp 2008).

Oba dva tyto tlaky vedou k vytvoření úzkého vztahu mezi hostitelem a parazitem, protože, jak jsem se již zmínila, hnací silou v evoluci tohoto systému je antagonistická koevoluce. Výsledkem je obvykle snížení virulence parazita (Thompson et al. 1994).

Otázka specializace může být ovšem velice ošidná, protože ji do značné míry ovlivňují naše znalosti a pozorování. To, že se nám tedy parazit jeví jako specializovaný na některé z druhů daného rodu a jiné nenapadá, může mít vždy dvě vysvětlení. Jedním je, že parazit opravdu takovým specialistou je a nenapadá žádný jiný hostitelský druh. Druhou možností je, že parazit hostitelský druh napadá, ale my jsme jej zatím nepozorovali. Vysvětlení může být mnoho:

- Parazita zatím nikdo na jiném hostitelském druhu nenašel, protože je na jiných hostitelích vzácnější nebo nejsou tak často studováni.
- Parazit se vyskytuje na jiném hostiteli na jiné lokalitě, která není v centru zájmu výzkumu.
- Parazit napadá úplně jiný, nepříbuzný druh hostitele, který je sice zkoumán, parazit na něm dokonce byl objeven, ale díky nepříbuznosti hostitelů jsou druhy pojmenovány různě, ačkoli se jedná o jeden a ten samý druh parazita (může nastat např. u vícehostitelských cyklů).

Všechny tyto možnosti může ovlivňovat také fakt, že parazit může vypadat ve všech hostitelích totožně, jako je tomu v případě oomycetů, ale jeho podoba se také může v různých hostitelích lišit, jak tomu často bývá u mikrosporidiálních onemocnění. Je poté problematické určit, zda se jedná o toho samého či jiného parazita. Všechny tyto

hypotézy lze testovat laboratorními pokusy a molekulárními metodami. Proto budu ve své práci diskutovat zejména dobře prozkoumané druhy parazitů.

Všeobecně se předpokládá, že trendem ve specificitě parazitů je spíše vývoj směrem ke specializaci (Flegr 2009, Sasal et al. 2004). Důvodem je pravděpodobně fakt, že specializovaní parazité mají výhodu v účinnosti využívání jednoho zdroje – jednoho typu hostitele (Stilmant et al. 2008) a také fakt, že fitness parazita specializovaného na jeden zdroj je obvykle vyšší než součet všech fitness pro jednotlivé zdroje u generalisty (Poulin & Morand 2004).

Obecně ale nemůžeme brát specializaci jako výhodnou stabilní strategii. Takový parazit je totiž neustále vystaven silnému selekčnímu tlaku a riziku extinkce, protože vymře-li jeho hostitelský druh, parazit nemá žádnou alternativu (Poulin & Morand 2004).

Riziko tohoto vymírání je ještě umocněno specifickými podmínkami vodního prostředí, a stojatých vod obzvlášť. Tyto by se totiž daly přirovnat k ostrovům, protože jsou oproti okolnímu prostředí dobře vymezeny a vzájemně izolovány, a proto zde může snáze docházet k lokální extinkci (Lampert & Sommer 2007). Stejně tak jsou vzájemně izolovány i populace obývající tyto habitaty. Roste tím tedy riziko, že parazit, který se vyskytuje v nádrži, kde jeho konkrétní hostitelský druh vymřel, nemá možnost přemístění na jinou lokalitu a není-li schopen využít jiného, dostupného hostitelského druhu, tak na lokalitě také vymře. V případě lokální extinkce můžeme tedy usuzovat, že parazit-generalista má daleko větší šanci přetrvání na lokalitě. Dalším hlediskem je i rozšíření parazita v dané populaci hostitele. Bylo prokázáno, že je-li prevalence parazita v populaci hostitele nižší než 4%, je riziko lokální extinkce parazita daleko vyšší. Důvodem mohou být různé podmínky prostředí, jako např. extrémně tuhá zima (Poulin & Morand 2004). Toto riziko ovšem odpadá, má-li parazit dormantní spory, které jsou schopny přečkat nepříznivé podmínky (např. různé druhy mikrosporidií).

3.1. Výhody a nevýhody specializace

Parazit, který je přizpůsoben jednomu hostitelskému druhu, získal mnohé výhody, jako například omezení virulence a vlivu na životaschopnost hostitele. To mu poskytuje delší čas pro vlastní rozmnožování. Dále také fakt, že ovlivněním růstu hostitele může vytvořit vhodnější podmínky pro sebe samého, jako je tomu například

u již zmíněné bakterie *Pasteuria ramosa*. Na druhou stranu je ale také mnohem pravděpodobnější, že bude muset tento specializovaný druh čelit nepřítomnosti svého hostitele na stanovišti (Barret et al. 2002; Fry 1990). A protože se specializace jeví jako nevratná, mohou se pak z vlastností, které ho odlišovaly od jiných, příbuzných parazitických druhů a které mu byly výhodou u daného hostitelského druhu, stát bariéry, které zabrání parazitaci na jiném, byť příbuzném druhu potencionálního hostitele (Barret et al. 2002). Z tohoto pohledu je tedy pro parazita výhodnější být generalistou (Futuyma & Moreno 1988).

Na druhé straně prevalence méně virulentních a více specializovaných druhů je často vyšší, jak dokazují případy některých druhů mikrosporidií, jako např. *Glugoides intestinalis*, *Ordospora colligata* nebo *Larssonia daphniae* (Ebert et al. 2000; Bengtsson & Ebert 1998). To odpovídá předpokladu, že díky delšímu životu hostitele je tento parazit schopen za svůj život nakazit více jedinců (Flegr 2009).

Podobnou výhodou hovořící pro specializaci může být výše zmíněný mírnější vliv na reprodukční schopnosti hostitele. Málo virulentní parazité, kvůli nimž hostitel nehyne ani není zcela kastrován, tímto získávají lepší postavení v případě, že jde zároveň o zcela či alespoň částečně vertikálně přenosný druh parazita. Díky zachování alespoň části snůšky je zaručena 100% prevalence onemocnění u potomků, jak dokazují laboratorní pokusy s *D. magna* a jejím parazitem *Hamiltosporidium magnivora* (Mangin et al. 1995).

3.2. Klonální specifická

Jak jsem se již zmínila v úvodu, existuje geneticky podmíněná variabilita v rezistenci hostitele a infekčnosti parazita. Z toho vyplývá, že některé klony hostitele jsou vnímavější na některé izoláty parazita. Tyto antagonistické interakce mezi hostitelem a parazitem mají potenciál k rychlé koevoluci, založené na frekvenčně závislé selekci. Parazité jsou tímto selektováni, aby překonali rezistenci běžného hostitelského genotypu, a následně hostitel s méně obvyklými geny může získat selekční výhodu, a dojde tak ke změně ve frekvenci genotypů v rámci populace (Duncan & Little 2007).

Je proto patrné, že speciálně ve sladkovodním prostředí, kde jsou jednotlivé vodní plochy izolovány a kontakt populací v nich nebývá tak snadný, jako je tomu v případě populací suchozemských, vzniká silná lokální adaptace. Podobný fenomén

můžeme pozorovat například i u jiného intenzivně studovaného sladkovodního páru hostitel-parazit – plže *Potamopyrgus antipodarum* a motolice rodu *Microphallus*. I tento parazit vykazuje lokální přizpůsobení úspěšnosti infekce (Lively 1989).

Carius et al. (2001) provedli pokus pro systém *Daphnia magna* a *Pasteuria ramosa*. Testovali, zda existuje variabilita v rezistenci hostitele a infekčnosti parazita mezi jednotlivými izoláty bakterie a klony hostitele. Tento systém je obzvláště vhodný, protože při úspěšné infekci se hostitel není schopen dále rozmnožovat a je tím vystaven silnému selekčnímu tlaku. Naopak není-li izolát parazita schopen napadnout hostitele, je situace obdobná, protože spory se uvolňují pouze z těla hostitele.

Pokus signifikantně prokázal genetickou variabilitu ve vnímavosti populací hostitele ke klonům parazita a zároveň rozdíl v infekčnosti izolátů parazita. V pokusu nebyl zaznamenán klon hostitele, který by byl nejodolnější proti všem izolátům parazita. Stejně tak i původní kombinace izolát parazita - klon hostitel (pocházejících ze stejné lokality) byla oproti nově laboratorně vzniklým kombinacím úspěšnější ve schopnosti parazita infikovat hostitele (Carius et al. 2001).

Výsledky této studie mohly být ovšem částečně zkresleny tím, že izolát může obsahovat více různých genotypů parazita. V případě *Pasteuria ramosa* bylo běžně pracováno s izoláty, protože kultivace této bakterie mimo hostitele není možná. Tento problém vyřešili Luijckx a spol., kteří prokázali, že v izolátu může být přítomných více klonů parazita, které se ve své specifitě značně liší. Díky tomu se potom jeví specifita tohoto izolátu nižší. Tento problém dokázali obejít pomocí postupu, kdy infikovali hostitele jednou konkrétní sporou (Luijckx et al. 2011).

Klonální specifita se ovšem týká nejen specializovaných parazitů, ale také druhů považovaných za generalisty. U kvasinky *Metschnikowia bicuspidata* byla při testování náhodných vzorků z nádrže zkoumána genetická struktura populace. Bylo signifikantně prokázáno, že se klonální struktura v populaci, kde se vyskytuje parazit, liší od populací nenapadených, a že existují klony, které jsou zde zastoupeny častěji. Tento výsledek je v souladu s předpokladem, že parazit způsobuje v populaci hostitele negativně frekvenčně závislou selekci. V takovém případě bude nejběžnější genotyp hostitele napadán častěji, a tím bude v populaci znevýhodněn (Yin et al. nepublikováno).

Stejný systém hostitel-parazit studovali i Decaestecker et al. (2007), ale na rozdíl od první studie, která problematiku klonální specificity zkoumala z pohledu prostoru, tato studie je zaměřena na časové hledisko. Jak někteří parazité, tak perloočky rodu *Daphnia* tvoří dormantní stádia schopná přežít v sedimentu i několik desítek let. Autoři nechali vylíhnout hrotnatky druhu *Daphnia magna* z dormantních stádií nalezených v jednotlivých vrstvách sedimentu a vystavovali je kmenům *Pasteuria ramosa*, izolovaných ze stejné starší a mladší vrstvy sedimentu. Parazité prokazatelně nejlépe infikovali perloočky rodu *Daphnia* ze stejné vrstvy sedimentu (Decaestecker et al. 2007). Tato práce, díky použití vzorků sedimentu, elegantně obchází problém většiny koevolučních studií, které jako doklad potřebují mnoho generací.

3.3. Specializovaní parazité perlooček rodu *Daphnia*

V následující podkapitole se budu zabývat parazity, rozčleněnými na základě jejich společných znaků, z pohledu hostitelské specificity. Jak jsem již uvedla výše, nejedná se o kompletní výčet všech parazitů perlooček rodu *Daphnia*, ale spíše o přehled často zkoumaných druhů a jejich společných rysů.

3.3.1. Extrémní specialisté

Mezi extrémně specializované parazity (oioxenní parazity), u kterých je známo, že napadají jen druh *Daphnia magna*, patří např. dva druhy mikrosporidií - *Hamiltosporidium tvaerminnensis* a *Ordospora colligata* (Ebert 2005).

Hamiltosporidium tvaerminnensis, v dřívějších publikacích označované jako *Octosporea bayeri* (Viz 3.3.1.1.), je druh mikrosporidie napadající především vaječné a tukové buňky. Nákaza se projeví bělavým zbarvením (Obr.2), parazit hostiteli způsobuje sníženou životaschopnost, a díky napadení vaječných buněk i sníženou reprodukční schopnost (Bieger et al. 2009). Jedná se o parazita přenosného jak vertikálně, tak horizontálně (v tomto případě se spory uvolňují jen z mrtvého jedince), s rozdílnou intenzitou infekce, závislou právě na typu přenosu. V případě vertikálního přenosu se parazit začne v hostitele šířit dříve, ale růst je pomalejší než v případě horizontálního přenosu, kdy šíření začíná později, ale díky rychlejšímu růstu jsou dříve uvolňovány spory (Roth et al. 2008; Vizoso et al. 2003). Tento druh byl pozorován na ostrovech při pobřeží Finska a Švédska (Haag et al. 2010).

Tato mikrosporidie je typická heterosporií, tedy přítomností různých typů spor ve svém životním cyklu. Obvykle se tyto spory liší nejen tvarem a velikostí, ale také funkcí. Některé typy se vyskytují v hostiteli, jiné volně v prostředí a další například přečkávají nepříznivé období bez hostitele v sedimentu. Heterosporie bývá často diskutována v souvislosti s vícehostitelským cyklem, kdy v jednotlivých hostitelích produkuje parazit různé typy spor. Není ovšem podmínkou, že druh s heterosporií musí mít nutně vícehostitelský životní cyklus. To mimo jiné dokládá i příklad *H. tvaerminnensis*.

U *H. tvaerminnensis* byly pozorovány tři různé typy spor, z nichž první dva jsou hruškovitého tvaru, lišící se od sebe pouze tloušťkou stěny spory, a objevující se na počátku infekce. Třetí druh spor má tvar rozdílný. U prvních dvou typů spor je funkcí různý způsob šíření a funkce třetího typu není známá (Roth et al. 2008; Ebert et al. 2007).

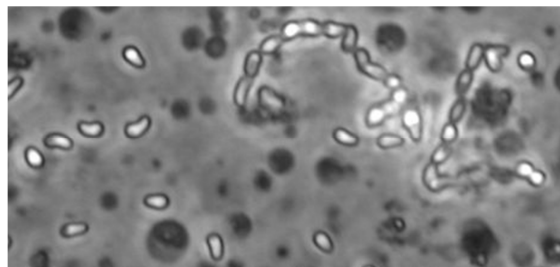


Obr. 2: Zbarvení *Daphnia magna* ve světelném mikroskopu. V dopadajícím světle se spory *Hamiltosporidium tvaerminnensis* jeví bělavé, v procházejícím světle tmavé (převzato z Ebert 2005).

Ordospora colligata je další ze zástupců skupiny mikrosporidií. Jedná se o střevního parazita, napadajícího proximální část střevního epitelu (Decaestecker et al. 2003). Infekce se navenek projevuje mírným snížením reprodukčních schopností hostitele, a protože nedochází k žádným snadno patrným projevům (jako je změna velikosti nebo zbarvení), tak je bez provedení pitvy velmi těžko pozorovatelná (Refardt et al. 2002). Parazit se šíří horizontálně ze živého jedince s jeho výkaly (Ebert et al. 2000; Refardt & Ebert 2007).

Spory jsou rovněž hruškovitého tvaru (Obr.3), o něco větší než u jiného druhu střevního parazita perloočky druhu *Daphnia magna* - *Glugoides intestinalis*, se kterým se může vyskytovat v jednom hostiteli, a to díky různému umístění ve střevě (Decaestecker et al. 2003).

Obr. 3: Hruškovité spory *Ordospora colligata* (převzato z Ebert 2005).



3.3.1.1. Taxonomie rodu *Hamiltosporidium*

Taxonomické zařazení obou dvou zástupců rodu *Hamiltosporidium* (*H. tvaerminensis*, *H. magnivora*) prošlo v nedávné době velkými změnami (Haag et al. 2011). *H. tvaerminensis* bylo v dřívějších pracích vedeno pod názvem *Octosporea bayeri*. Takto byl pojmenován druh mikrosporidie popsáný roku 1936 profesorem O. Jírovcem na Moravě. Identicky s tímto parazitem pozorovaným v Československu byl určen druh mikrosporidie nalezený na hrotnatkách ve skalních jezírcích na ostrovech mezi Finskem a Švédskem, podél pobřeží Baltského moře (Haag et al. 2010; Corradi et al. 2009).

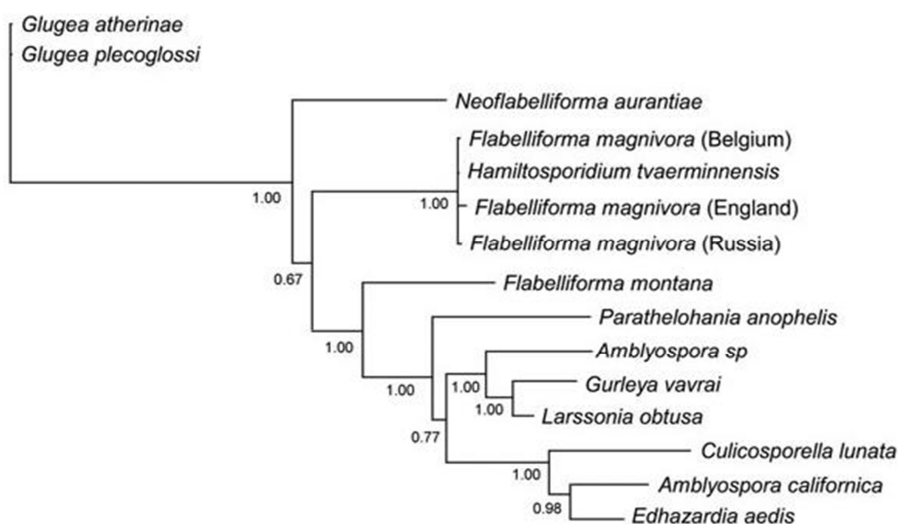
Na rozdíl od druhu objeveného ve Skandinávii neexistuje od českého parazita žádná laboratorní kultura nebo jiný materiál, na základě kterého by se tyto druhy daly odlišit geneticky. Haag et al. (2010) rozhodli o odlišení těchto mikrosporidií podle kreseb a popisu profesora O. Jírovce z roku 1936. Úplné rozřešení otázky identity *O. bayeri* a její příbuznosti čeká na genetické analýzy, které jsou ovšem podmíněny úspěšným odchytem této mikrosporidie na našem území.

K odlišení obou taxonů vedla autory řada morfologických a ekologických znaků. Jedním z nich je fakt, že *Hamiltosporidium tvaerminensis* má hruškovité spory uložené po osmi v křehkém sporoforním měchýřku a tyto nejsou nikdy dvoujaderné. V původním popisu *O. bayeri* jsou zachyceny dva typy spor, a ani jeden typ nebyl hruškovitého tvaru. Podle názvu *Octosporea* by bylo možné usuzovat, že spory byly uloženy v měchýřcích po osmi, ovšem žádné takové sporoforní měchýřky nebyly zakresleny. Jeden typ vyobrazených spor pravděpodobně odpovídá sporům dalšího druhu mikrosporidie – *Glugoides intestinalis* (viz kapitola 3.2.2.). K odlišení druhů *H. tvaerminensis* a *O. bayeri* vedl autory i další fakt. Mikrosporidie *O. muscaedomestica* - další druh rodu *Octosporea* (Flu, 1911), který napadá různé dvoukřídle (bzučivky, masařky a jiné), je dvoujaderný ve všech fázích svého životního cyklu. Jak jsem již zmínila dříve, spory *H. tvaerminensis* dvoujaderné

nikdy nejsou. Také srovnání sekvencí (malé podjednotky rDNA, ITS a 5' konce LSU) u *O. muscaedomesticae*, *H. tvaerminnesis* (v práci Vossbrinck et al. (2010) vedena pod názvem *O. bayeri*) a *H. magnivora* (v dané práci vedena pod názvem *Flabelliforma magnivora*) ukázalo, že zatímco rozdíl v daných sekvencích mezi *H. tvaerminnesis* a *H. magnivora* tvoří jen 1 %, u *H. tvaerminnesis* a *O. muscaedomesticae* je tento rozdíl kolem 30 % a dané dva druhy mikrosporidií si tedy nejsou blízké (Vossbrinck et al. 2010). Tato fakta vedla k závěru, že skandinávský druh mikrosporidie není totožný s českým druhem. To by vysvětlilo i jinak problematickou otázku geografického rozšíření tohoto druhu (mezi Skandinávií a Českou republikou nebyl pozorován), i problém značné rozdílnosti habitatů (malé dočasné skalní tůně v případě Skandinávie a rybník Nesyt, největší na Moravě, jako původní lokalita *O. bayeri*) (Haag et al. 2010).

Nové srovnávací studie prokázaly, že druh objevený ve Skandinávii patří do příbuznosti se zástupci rodu *Flabelliforma*, především do blízkosti druhů *Flabelliforma magnivora* (napadající druhy *Daphnia magna*, *D. pulex* a *D. longispina*) a *F. montana* (parazitující na některých dvoukřídlých; Canning et al. 1991).

Právě díky podobnostem, jako hruškovitý tvar spor a jejich vypuklý povrch, prstovitý způsob dělení a dvouvrstevný tubulární povrch spor, bylo zařazení tohoto druhu přehodnoceno. K přehodnocení názvu druhu *F. magnivora* došlo na základě stejného, přímého, vícevrstevného zakládání stěny ve stádiu sporonta, stejné stavbě exospory i díky dalším podobnostem ve vývoji (Canning et al. 2001, Haag et al. 2010). Data prokázala, že další blízký druh *F. montana* není natolik podobný druhu *Hamiltosporidium tvaerminnesis*, a tudíž je rod *Hamiltosporidium* oddělen na kladogramu zvlášť (Obr.4) (Haag et al. 2010).



Obr. 4: Kladogram nově zařazených mikrosporidií rodu *Hamiltosporidium*, vytvořený na základě SSU rDNA (převzato z Haag et al. 2010).

3.3.2. Parazité objevující se v rámci rodu *Daphnia*

Specializace pouze na jeden druh hostitele je jedním z nejužších možných stavů. V této podkapitole se budu zabývat stenoxenními druhy parazitů, kteří nenapadají pouze jeden druh, ale více zástupců rodu *Daphnia*. Zde bych chtěla jmenovat již zmíněné *Hamiltosporidium magnivora*, *Glugoides intestinalis*, zástupce třídy Ichtyosporea - *Caullerya mesnili* a ze zástupců bakterií parazita známého jako „White Fat Cells Disease“. Tyto zástupce, o nichž bylo publikováno větší množství informací, jsem se rozhodla uvést jako průřez škálou skupin možných parazitů.

Perloočky rodu *Daphnia* slouží jako hostitelé pro celou řadu mikrosporidií. Ve své práci diskutuji pouze některé druhy, charakteristické svým hostitelským spektrem, lokací v hostiteli či životním cyklem.

Hamiltosporidium magnivora je druh mikrosporidie napadající tukové buňky a buňky vaječnicků (Larsson et al. 1998). Onemocnění se projevuje částečným snížením reprodukčních schopností a sníženou životaschopností hostitele (Ebert et al. 2000). Navenek se projevuje změnou zbarvení (Obr.5) (Ebert 2005). Parazit se šíří vertikálně (tento přenos byl pozorován v laboratoři) a pravděpodobně i horizontálně, vzhledem ke schopnosti dlouhodobého přežívání parazita na lokalitě. Tento způsob přenosu ale nebyl v laboratorních podmínkách uskutečněn. Důvodem mohou být zvláštní podmínky prostředí nutné pro tento přenos (teplota, vysušení a jiné) (Mangin et al. 1995).

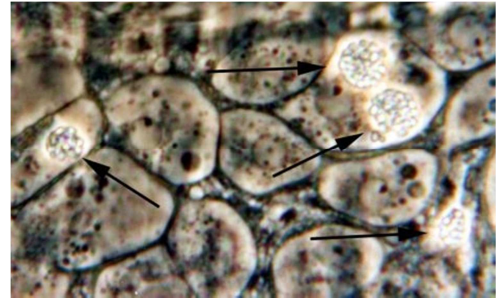


Obr. 5: *Daphnia magna* napadená mikrosporidií *Hamiltosporidium magnivora* (převzato z Ebert 2005).

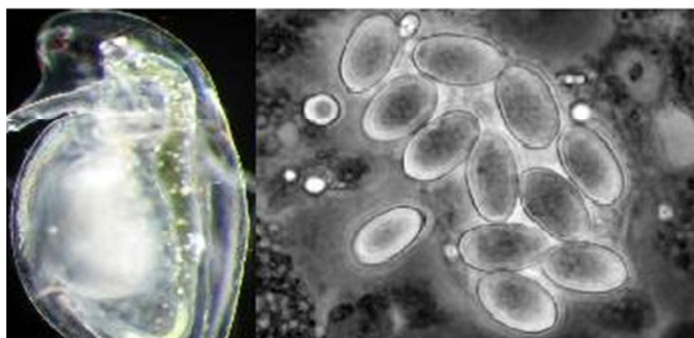
Další druh mikrosporidie, *Glugoides intestinalis*, patří do poměrně široké skupiny střevních parazitů perlooček rodu *Daphnia* (Obr.6). Tento parazit napadá distální část střeva, ale infekce není na hostiteli na první pohled patrná. Na svého hostitele působí mírně – pouze lehkým snížením plodnosti (Refardt et al. 2002).

Jedná se o horizontálně přenosného parazita, jehož spory se uvolňují jak ze živého hostitele s jeho výkaly, tak ze sedimentu, kde jsou tyto spory schopné přečkat nepříznivé období (Ebert et al. 1995). Napadení touto mikrosporidií bylo pozorováno na druhích *Daphnia magna* a *D. pulex* (Ebert 2005).

Obr. 6: Střevní buňky *Daphnia magna* napadené mikrosporidií *Glugoides intestinalis* (převzato z Ebert 2005).



Caullerya mesnili je prvok, jehož zařazení bylo dlouho nejasné. Až v roce 2010 byl na základě molekulárních dat (sekvenace SSU (malá jaderná podjednotka) a ITS oblastí rDNA („internal transcribed spacer“)) zařazen do třídy Ichtyosporea (Lohr et al. 2010). Napadá střevní epitel (Wolinska et al. 2007), ale na rozdíl od předešlého druhu mikrosporidie je vliv tohoto parazita na životaschopnost a reprodukční schopnosti hostitele velmi výrazný (Bittner et al. 2002). Všichni známí hostitelé tohoto parazita patří do komplexu *D. longispina* (*D. galeata*, *D. longispina*, *D. cucullata* a jejich hybridy; nomenklatura dle práce Petrussek et al. 2008) (Lohr et al. 2010). Nákaza probíhá horizontálně sporami (Obr. 7) uvolňovanými ze živého jedince s jeho výkaly (Wolinska et al. 2004).



Obr. 7: *Daphnia galeata* nakažená *Caullerya mesnili* a shluk spor tohoto parazita (převzato z Ebert 2005).

Poslední mnou uvedený parazit v této podkapitole je kokální bakterie, způsobující onemocnění známé pod zkratkou WFCD („White Fat Cell Disease“, onemocnění projevující se zbělením tukových buněk hostitele) (Ebert 2005). Tato bakterie napadá tukové buňky, které se poté jeví pod mikroskopem v odraženém

světle bílé s nepatrným zeleným nádechem (Obr.8). U infikovaného jedince je opět snížena reprodukční schopnost i délka života (Decaestecker et al. 2005). Přenos tohoto velmi virulentního parazita je striktně horizontální, kdy k uvolňování spor dochází až z mrtvého jedince. Onemocnění bylo pozorováno na druzích *Daphnia magna*, *D. pulex* a *D. longispina* (Ebert 2005).

Obr. 8: *Daphnia magna* napadená WFCD pod třemi různými typy osvětlení (zleva: osvětlení pouze shora, zespodu i shora, pouze zdola) (převzato z Ebert 2005).



4. PARAZITÉ SE ŠIROKÝM HOSTITELSKÝM SPEKTRÉM

Ačkoli se specializace jeví ve velkém množství faktorů jako evolučně velmi výhodná strategie, i generalisté mají jisté výhody. To, která strategie bude v dané situaci výhodnější, závisí na kontextu. Z výhod, které využívají generalisté, je to především možnost více hostitelských druhů, která jim dovoluje vyhnout se náhodným výkyvům v početnosti populace hostitele, a tak mohou udržovat i vyšší úroveň vnitrodruhové genetické variability, než je tomu u specialistů (Barrett et al. 2008).

Fitness je nejen důsledkem schopnosti parazita infikovat hostitelský druh přítomný na lokalitě, ale také je ovlivněna množstvím ostatních druhů majících tu samou vlastnost (Wilson & Yoshimura 1994). Právě otázka kompetice o hostitele jako o zdroj může ukázat ve prospěch generalistů. Ti mohou po obsazení hostitelského druhu specializovaným parazitem přejít na jiný druh, a vyhnout se tak případnému nedostatku jedinců daného hostitelského druhu. Přetrvávání obou dvou typů parazitů na jednom habitatu ovšem není nereálné. Je umožněno schopností generalistů přecházet mezi hostiteli, což redukuje přechodné kolísání v dostupnosti habitatu využívaného specializovaným parazitem (Wilson & Yoshimura 1994).

4.1. Omezení hostitelského spektra

Bylo by lákavé předpokládat, že parazité obývající stojaté sladké vody budou vystaveni limitaci šíření. Ovšem existuje řada způsobů, jak se takový parazit může šířit z jedné nádrže do druhé.

- Ulpěním na jiném živočichovi (vodní ptáci, savci, ryby, hmyz, kteří jsou schopni měnit nádrže).
- Přítoky a odtoky jezer, přelití jedné nádrže do jiné (např. na horách v době tání)
- Činností člověka (např. balastní voda).

Jistě existuje řada parazitických druhů, jejichž velice úzké hostitelské spektrum se dá vysvětlit nemožností kontaktu s jiným potencionálním hostitelem. Tato varianta se dá experimentálně testovat, poskytneme-li parazitovi jiného hostitele, se kterým by se ve svém přirozeném prostředí nesetkal. Existují studie dokazující, že tyto bariéry nejsou pro parazitické druhy nepřekonatelné, jak dokazují příklady mikrosporidií, které jsou schopny napadat nejen druhy perlooček rodu

Daphnia, se kterými se mohou setkat na svém stanovišti, ale i některé druhy z velice vzdálených stanovišť. Bylo prokázáno, že mikrosporidie *Hamiltosporidium tvaerminnensis*, parazitující ve Skandinávii na *D. magna*, je schopna napadat a přežívat i ve druhu *D. dolichocephala* z jižní Afriky (Lange 2009).

Úspěch kolonizace nového hostitelského druhu závisí mimo jiné z velké části na podmínkách prostředí. Jeho výsledek je různý pro parazita specialistu a generalistu. Zatímco specializovaný parazit, který se rychle adaptuje na změny v jeho stávajícím hostiteli, může vytvořit po obsazení nového hostitelského druhu samostatnou linii, generalista pouze udržuje toleranci k široké škále životních podmínek (Poulin & Morand 2004).

4.2. Generalisté v rámci celé skupiny perlooček

Mezi perloočky nepatří jen rod *Daphnia*. Jeho význam a značnou prozkoumanost jsem již popsala v souvislosti s funkcí tohoto rodu jako modelového organismu. V této kapitole budu ale pojednávat o euryxenních parazitech, kteří napadají i další rody perlooček, např. *Bosmina*, *Ceriodaphnia*, *Chydorus*, *Diaphanosoma* a další.

Prvním parazitem patřícím do této skupiny je *Pasteuria ramosa*. Jedná se o Gram-pozitivní bakterii, patřící do čeledi Alicyclobacillaceae (Ebert et al. 1996). U svého hostitele, kterým nejčastěji bývá některý ze zástupců rodu *Daphnia* (*D. magna*, *D. longispina*, *D. pulex*), ale podle některých prací i jiní zástupci skupiny Cladocera (Ebert 2005), se nejčastěji vyskytuje extracelulárně v hemolymfě. Protože je oběhový systém perlooček otevřený, spory poté plní tělní dutinu a díky jejich tmavé barvě se poté i hostitel jeví tmavý a netransparentní (Carrius et al. 2001; Ebert 2005). Změna zbarvení není ale jediný projev infekce patrný pouhým okem. Další je již zmíněný gigantismus hostitele (Obr.9). Parazit, který sterilizuje hostitele, uvolní zdroje (energii), které jsou jinak využity pro rozmnožování, a využije je ve svůj prospěch, a to k růstu hostitele (Ebert et al. 2004).

Hostitel je také touto bakterií sterilizován a i délka jeho života je nepatrně snížena (Ebert 2005). Jedinec se nakazí filtrací spor z vody, kam se uvolňují z mrtvého jedince - přenos je tedy horizontální (Carrius et al. 2001).



Obr. 9: Vlevo zdravá *Daphnia magna* a vpravo *D. magna* napadená *Pasteuria ramosa* (převzato z Ebert 2005).

Dalším parazitem patřícím do skupiny Deltaproteobacteria (Rodrigues & Duffy 2008) je *Spirobacillus cienkowskii*, napadající nejen širokou škálu druhů rodu *Daphnia*, ale i další rody perlooček, jako je *Sida*, *Chydorus*, *Ceriodaphnia* apod. (Ebert 2005). Stejně jako u předchozího druhu bakterie se jedná o infekci hemolymfy, ale tentokrát spory nezpůsobují tmavé, ale růžové až červené zbarvení napadeného jedince (Obr.10). Podobné zbarvení může způsobovat i hemoglobin v hemolymfě některých druhů dafnií, žijících v prostředí s nedostatkem kyslíku, ale zbarvení způsobené infekcí *S. cienkowskii* je matnější a je způsobeno karotenoidy v těle bakterie (Duffy et al. 2005). Mimo změny zbarvení se infekce na jedinci projevuje opět snížením jeho reprodukčních schopností. Parazit se šíří pouze horizontálně, a to ze živého hostitele (Duffy & Hall 2008; Rodrigues et al. 2008).



Obr. 10: *Daphnia magna* vlevo zbarvená karotenoidy z bakterie *Spirobacillus cienkowskii*, vpravo zdravý jedinec (převzato z Ebert 2005).

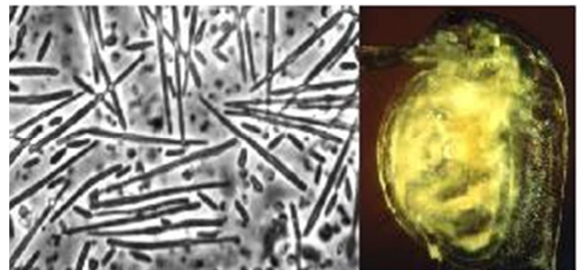
4.3. Parazité napadající rozmanité druhy hostitelů, včetně r. *Daphnia*

Častým příkladem, kdy parazit napadá opravdu rozdílné hostitele, je vícehostitelský cyklus, tomu se ovšem budu věnovat v další kapitole. Zde budu popisovat druhy, jejichž specifická je opravdu nízká a často jejich hostitele spojuje

pouze vodní prostředí. Mezi takovéo patří především dvě skupiny parazitů, a to kvasinky a oomycety.

Metschnikowia bicuspidata je zástupcem kvasinek. Jedná se o endoparazita skupiny koryšů, napadajícího střevo, které poté jehličkovité spory penetrují a unikají do hemolymfy (Obr.11). Hostitel se díky těmto sporám jeví bělavý (Hall et al. 2009). Bělavé zbarvení není ovšem jedinou změnou pro infikovaného jedince. Ten je zcela kastrován a umírá již během dvou až tří týdnů, někdy dokonce dříve (Ebert et al. 2000). Jedná se o vysoce virulentního parazita a jeho spory jsou velmi odolné, přečkají i průchod trávicím traktem ryb (Duffy et al. 2009). Spory se uvolňují z mrtvého hostitele, který je jimi obvykle zcela vyplněn (Ebert et al. 2000).

Obr. 11: Vlevo jehličkovité spory kvasinky *Metschnikowia bicuspidata* a vpravo *Daphnia magna* vyplněná těmito sporami (převzato z Ebert 2005).



Skupina oomycetů napadajících mimo jiné i perloočky rodu *Daphnia* se potýká často s obtížným určováním druhů. Proto zde budu jmenovat hlavně rody, u nichž je prokázáno, že mnou sledovaný rod napadají. Všichni takoví zástupci patří čeledi Saprolegniaceae. Jedná se o rody *Saprolegnia*, *Aphanomyces*, *Pythium* či *Scollolegnia* (Wolinska et al. 2009). Jsou to parazité napadající snůšku, na které jsou poté patrné hnědavé skvrnky, ale mohou prorůstat i do těla hostitele. Ten ztrácí svou průhlednost, a je proto snáze pozorovatelný pro predátory. Stejně jako předchozí parazité snižuje i tento reprodukční schopnosti svého hostitele (Wolinska et al. 2007). Často hostitele zabijí během několika dní, kdy je jeho tělo zcela vyplněno myceliem (Wolinska et al. 2008). Hostitelské spektrum je zde nejširší ze všech zmíněných parazitů. Není výjimkou, že oomycety parazitují na více trofických stupních. Wolinska et al. (2009) pozorovala linii oomyceta z čeledi Saprolegniaceae označeného SAP3, parazitující na rodech *Daphnia*, *Bosmina*, ale i na rybách. Tito parazité se obvykle šíří horizontálně formou pohyblivých zoospor. K šíření často napomáhají ryby, které jsou také napadány (Wolinska et al. 2009).

Czezuga et al. (2002) ve své studii tvrdí, že konkrétně určili některé druhy oomycetů (*Aphanomyces astaci*, *A. acinetophagus*) na základě porovnání různých

preparátů pod mikroskopem. Pravděpodobně se ale jedná o špatné určení, protože jak píše Kozubíková et al. (2008), je nutné v případě rodu *Aphanomyces* sekvenovat DNA patogenů, porovnat ji s jinými, příbuznými druhy a až na základě těchto znalostí jsme schopni odlišit jeden druh od druhého. Morfologické určení sporangií může molekulární výsledky podpořit, ale stavět určení pouze na něm je značně nejisté (Kozubíková 2011).

5. VÍCEHOSTITELSKÉ CYKLY

Někteří parazité potřebují pro svůj kompletní vývoj a rozmnožování více než jen jednoho hostitele. Mezi všeobecně známé parazity využívající tuto strategii patří řada motolic, tasemnic apod. Například motolice jaterní (*Fasciola hepatica*) napadající játra a žlučovody ovcí, které jsou jejím definitivním hostitelem, není schopna dokončit svůj životní cyklus bez mezihostitele - plže z čeledi *Lymnaeidae* (Volf et al. 2007).

Stejně případy parazitů najdeme i u perlooček rodu *Daphnia*. Jedná se o zástupce třídy mikrosporidií. Většina členů této třídy má životní cyklus bez mezihostitele, ale byla pozorována řada sladkovodních druhů, které produkovaly spory, které pak ale nebyly infekční pro původní hostitelský druh. Jsou tedy nejspíše přenášeny na jiný hostitelský druh a parazit tím pak dokončuje svůj životní cyklus. Dosavadní pozorování odhalila, že některé mikrosporidie využívají jako dalšího hostitele různé druhy komárů (Lom & Nilsen 2003). Existuje proto hypotéza, že i u ostatních druhů mikrosporidií s podezřením na vícehostitelský životní cyklus může být dalším hostitelem zástupce hmyzu (Wolinska et al. 2009, Refardt et al. 2008).

Další hostitel může parazitovi usnadnit jeho šíření. Parazité ve sladkovodním prostředí jsou vystaveni omezené možnosti šíření, proto je pro ně výhodné mít hostitele, který tento problém nesdílí. Velmi výhodným typem hostitele je hmyz, jehož larvy se vyvíjí ve vodě, kde se mohou parazitem nakazit. Dospělci, kteří umí létat, pak mohou značně rozšířit areál výskytu parazita. Nelze ovšem s jistotou tvrdit, že zapojení hmyzu do životního cyklu je adaptací na disperzi. Lepší šíření může být pouze vedlejším produktem. (Bengtsson & Ebert 1998).

Stejně tak je ale zařazení dalšího hostitele do životního cyklu riskantní, a to především je-li hostitelská specificita parazita vysoká. Takový parazit je pak totiž velmi náchylný k lokální extinkci, a to především když je parazit specializovaný na úzký okruh (jednoho) mezihostitele i definitivního hostitele (Poulin & Morand 2004).

5.1. Známé příklady vícehostitelských mikrosporidií

Rod *Amblyospora* byl až do 90. let považován za horizontálně přenosného parazita komárů rodu *Aedes* a *Culex*, kteří současně byli jeho jedinými hostiteli (Baker et al. 1997). V pozdějších pracích byla prokázána potřeba druhu *Amblyospora*

californica infikovat i zástupce klanonožců (Copepoda) (Becnel 1992). Jak se ukázalo, tento druh nebyl jediný. V roce 1998 byl podobný životní cyklus odhalen i u dalšího druhu *Amblyospora salinaris*.

Životní cyklus těchto mikrosporidií je rozdělen mezi oba dva hostitele. U druhu *Amblyospora californica* je mezihostitelem buchanka *Macrocyclus albidus*. V buchance probíhá velká část životního cyklu a *Amblyospora* ji pak opouští v podobě kopinatých spor, které jsou infekční pro definitivního hostitele – komára *Culex tarsalis*. Definitivního hostitele poté opouští spory, které se podobají sporám rodu *Nosema* a jsou infekční pro další buchanky (Becnel 1992).

Obdobný životní cyklus má i druhý ze jmenovaných parazitů – *Amblyospora salinaris*. Jeho mezihostitelem je také *Macrocyclus albidus*, ale definitivním hostitelem je *Culex salinarius*. Zajímavostí je, že tento parazit úspěšně napadá (na rozdíl od prvního parazita) i larvy *C. tarsalis*, ale nikdy v nich nedokončí svůj vývoj a nerozmnoží se (Becnel & Andreadis 1998).

Dalším prostudovaným rodem mikrosporidií, které mají ve své životním cyklu mezihostitele, je rod *Pleistophora*. Jedná se o rod parazitující na rybách, koryších i savcích (včetně člověka). Ironside et al. (2008) na základě sekvenace a následné srovnávací studii 16S rRNA, 18S rRNA a Rpb1 zjistili, že druh *Pleistophora mulleri*, napadající blešivce *Gammarus duebeni*, a druh *P. typicalis*, napadající ryby, si geneticky odpovídají. Jednalo by se tedy o parazita využívajícího jako hostitele bezobratlé i obratlovce. Bohužel vlastní přenos zatím nebyl pozorován (Ironside et al. 2008).

5.2. Vícehostitelské mikrosporidie napadající perloočky rodu *Daphnia*

U parazitů hrotnatek se zatím nepodařilo prokázat žádného mezihostitele, ale je několik druhů mikrosporidií, kde je silné podezření, že další hostitelé existují. Usuzuje se tak i na základě jejich příbuznosti s výše jmenovaným rodem *Amblyospora*.

Hypotéza o dalším hostiteli (pravděpodobně ze třídy hmyzu) se týká mikrosporidie *Berwaldia schaefernai*. Jedná se o parazita napadající tělní dutinu druhů *Daphnia pulex* a *D. longispina*. Redukuje jejich plodnost a snižuje životaschopnost. Tato mikrosporidie, stejně jako dvě následující (*Larssonina obtusa* a

Gurleya vavrai), má ve svém životním cyklu několik typů spor- je tedy heterosporická (Vávra & Larsson 1994).

Hypotéza vícehostitelského životního cyklu byla podpořena srovnávací studií vnitro- a mezipopulační genetické variability u dvou mikrosporidií, mikrosporidie *B. schaefernai* a prvoka *Callerya mesnili*. U prvoka byl jasně patrný genetický rozdíl mezi jednotlivými populacemi. U *B. schaefernai* se mezi sebou jednotlivé populace prokazatelně nelišily. To by mohlo být důsledkem většího genetického toku u tohoto druhu v závislosti na jiném modelu šíření (s ohledem na mobilitu dalšího, předpokládaného, hmyzího hostitele) (Wolinska et al. 2011).

Další druhy mikrosporidií, *Larssonia obtusa*, *Gurleya daphniae* a *Gurleya vavrai*, jsou si navzájem velmi blízké. V případě *L. obtusa* se jedná o parazita napadajícího tukové buňky, v případě *G. Daphniae* a *G. Vavrai*, u nichž nebyla zatím prokázána genetická odlišnost, je napadena epidermis hostitele. Druhy *L. obtusa* a *G. vavrai* byly pozorovány na *Daphnia pulex* a *D. longispina* (ale pravděpodobně budou napadat i jiné druhy), kdy rapidně snižují jejich životaschopnost a reprodukční schopnosti (Bengtsson & Ebert 1998; Refardt et al. 2002). Druh *G. daphniae* byl pozorován jen na *D. pulex* (Friedrich et al. 1996). V laboratorních podmínkách se zatím nepodařilo přenos simulovat, což může poukazovat na možnou přítomnost dalšího hostitele. Díky rozšíření *L. obtusa* ve velkém množství švédských jezer (zatímco jiní parazité byli vzácní), existuje také předpoklad, že další hostitel je opět ze třídy hmyzu, a tak může díky schopnosti letu zefektivnit přenos (Bengtsson & Ebert 1998).

Binucleata daphniae je posledním ze zástupců, které zde zmíním. Jedná se rovněž o druh mikrosporidie, který obvykle napadá buňky integumentu (obklopující dutinu hemocoelu a oblasti postabdomen) u druhu *Daphnia magna*. Napadený jedinec se jeví matný, neprůhledný. Nakažený hostitel sice nadále normálně roste a svléká se, ale je omezena jeho reprodukční schopnost.

Na rozdíl od blízkých druhů (*Berwaldia*, *Larssonia*, *Gurleya*) nebyla pozorována v případě této mikrosporidie žádná heterosporie. Spory jsou přenášeny horizontálně. Parazit ale mohl být vícehostitelský v minulosti, kdy dalším hostitelem byl nejspíše opět zástupce řádu Diptera. Tomu by nasvědčovala i příbuznost s druhem *Senoma globulifera*, napadajícím druh komára *Anopheles messeae* (Simackova et al. 2005).

Existuje tedy hned několik faktorů podporujících podezření, že výše zmíněné druhy (kromě druhu *B. daphniae*) mikrosporidií mají ve svém životním cyklu dalšího hostitele. Patří mezi ně:

- Heterosporie
- Neschopnost infikovat perloočky rodu *Daphnia* sporami v laboratorních podmínkách
- Příbuznost s rodem *Amblyospora*, u kterého byl prokázán vícehostitelský životní cyklus a je znám další hostitel
- Nízká genetická variabilita parazita

Podpořit tento předpoklad mohou jen další pokusy a testování zmíněných mikrosporidií.

6. SPECIFICITA EPIBIONTŮ

Všechny předchozí případy pojednávají o endoparazitech perlooček rodu *Daphnia*, tedy o parazitech, kteří žijí přímo v orgánech či tkáních hostitelského druhu. U hrotnatek známe ovšem i takové organismy, které žijí na povrchu těla. Mezi tyto patří nejčastěji zástupci řas (zástupci rodů *Synedra*, *Chlorangiella*, aj.), prvoků (*Colacium*, *Vorticella*) a bakterií, kteří kolonizují krunýř hrotnatek. Epibionta se většinou nositel zbaví při svlékání. Způsob jak nalézt podklad se liší napříč škálou skupin, které jsem jmenovala. Bakterie jsou minimálně pohyblivé, a proto nejsou schopny aktivního vyhledání dobře pohyblivého nositele. Naproti tomu prvoci s brvami či bičíkem jsou schopni samostatného pohybu, a tak mohou aktivně vyhledávat vhodný podklad.

Epibionti mohou ovlivnit různé aspekty života nositele, jako například filtraci, dýchání, reprodukci, životaschopnost, a to v souvislosti se stresem, který je spojen s přítomností cizích organismů na jejich povrchu. V laboratorních podmínkách se ovšem podařilo prokázat pouze vliv na reprodukční schopnost perlooček rodu *Daphnia* a ztížení plavání, kdy se díky epibiontovi nositel hůře udržuje ve vodním sloupci (Allen et al. 1993, Threlkeld et al. 1993). Jak jsem se již zmínila v úvodu, nemůžeme všechny epibionty označit za parazity. Často svému nositeli nijak neškodí, někdy dokonce poslouží jako potrava. Například po svléknutí se perloočky mohou živit krásnoočky rodu *Colacium*, které nosí na krunýři, ovšem tento epibiont často reaguje na svlékání nositele odpojením od podkladu (Threlkeld et al. 1993).

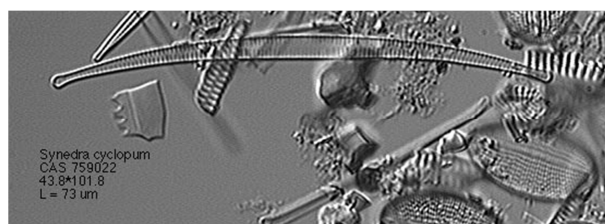
6.1. Specializovaní epibionti

I u epibiontů můžeme najít specialisty. Často se jedná spíše o úroveň preferencí substrátu, ale především u druhů *Colacium calvum* (patřící do třídy Euglenoidea) a *Synedra cyclopum* (patřící do třídy Fragilariophyceae) jsou tyto preference velmi výrazné. Oba druhy při silném pokrytí karapaxu způsobují svému nositeli větší ponor a stěžují mu tím i plavání (Threlkeld et al. 1993). Také rychlost filtrace je vyšší. Vliv na plodnost nebo napadení snůšky nebyl pozorován (Allen et al. 1993). Infekce se obvykle objevuje po roztání sněhu v jarních měsících.

Colacium calvum je ektoparazit napadajícím pouze perloočky rodu *Daphnia*, kde nasedá na postabdomen. Zde se poté živí výkaly nositele (Threlkeld et al. 1993).

Není-li na stanovišti tento hostitelský rod přítomen, parazit se nevyskytuje, stejně tak výskyt během roku kopíruje sezonalitu nositele (Chiavelli et al. 1993).

Otázka specifity rosivky *Synedra cyclopus* (Obr. 12) je obtížnější. Jak je již z názvu patrné, jedná se o epibionta, který se vyskytuje nejen u zástupců perlooček rodu *Daphnia*, ale i u dalších zástupců perlooček a klanonožců. V tomto případě se spíše než o specializaci jedná o silnou preferenci rodu *Daphnia* jako substrátu. U perlooček napadá obvykle oblast krunýře v okolí hlavy, přední břišní lem a druhý pár tykadel. Jeho prevalence pozitivně koreluje s hustotou populace perlooček rodu *Daphnia* (Chiavelli et al. 1993).



Obr. 12: *Synedra cyclopus* (převzato z <http://craticula.ncl.ac.uk>)

6.2. Epibionti napadající mimo jiné i perloočky rodu *Daphnia*

Je velké množství epibiontů z různých skupin, kteří se objevují i u hrotnatek. Jedním z takových rodů je rod *Colacium* (Threlkeld et al. 1993). Jedná se fototrofního bičíkovce, příbuzného krásnoočkám rodu *Euglena*.

Zástupcem tohoto rodu je druh *Colacium vesiculosum*, napadající kromě perlooček i jiné sladkovodní členovce. Od jiných druhů jej odlišuje zvláštní sacharidová stopka (Obr.13), pomocí které se udržuje na vnějším povrchu svého nositele (Willey & Threlkeld 1993). Napadenému jedinci tím výrazně ztěžuje plavání a udržování se ve vodním sloupci. Nositel se ale tohoto bičíkovce při prvním svlékání zbaví (AIDhaheri & Willey 1996).



Obr. 13: *Colacium vesiculosum* s dobře patrnou sacharidovou stopkou (převzato z www.plingfactory.de/Science).

Další zástupce epibiontů hrotnatek patří mezi chlorophyta. *Characium gracilipes* napadá rozmanité druhy korýšů. U perlooček rodu *Daphnia* ji najdeme ve vnitřních záhybech krunýře a při silné infekci i na končetinách hostitele. Obvykle se tento parazit nevyskytuje sám, ale ve společnosti jiného ektoparazita (Willey & Threlkeld 1993).

Poslední z epibiontů, o kterém bych se zde ráda zmínila, je rod *Vorticella*. Jedná se o zástupce nálevníků, napadající velkou škálu korýšů, kteří se ho opět mohou zbavit při následném svlékání (Willey & Willey 1993). *Vorticella* se živí filtrací vody a vychytáváním drobných částecek, k čemuž využívá i filtračních schopností nositele. Živí se totiž rovněž drobnými řasami, ale filtrační aparát tohoto nálevníka je schopen zachytávat drobnější řasy, které naopak filtračním aparátem perlooček rodu *Daphnia* projdou (Kankaala & Eloranta 1987). Obvykle bývá přichycen na pevném substrátu, např. kamenu či kořenech (Threlkeld et al. 1993).

ZÁVĚR

Cílem této práce bylo shrnout dosavadní znalosti o specifitě parazitů perlooček rodu *Daphnia*. Označit některou ze specializačních strategií jako výhodnější nelze. Vždy záleží na dané situaci (podmínkách prostředí, konkurenci, dostupnosti hostitele a jiné). Specializovaní parazité jsou pod neustálým selekčním tlakem, v důsledku kterého se obvykle snižuje jejich virulence a celkový vliv na hostitele. Stejně tak jsou pod neustálým selekčním tlakem i hostitelé, kteří se snaží být rezistentní vůči nejběžnějšímu genotypu parazita.

Parazité perlooček rodu *Daphnia* se dají v závislosti na jejich známé specifitě rozdělit do několika kategorií:

- Parazité napadající pouze jeden druh (*Hamiltosporidium tvaerminnensis*, *Ordospora colligata*).
- Parazité napadající více druhů z rodu *Daphnia* (*Hamiltosporidium magnivora*, *Glugoides intestinalis*, *Caullerya mesnili*, WFCD).
- Parazité napadající i jiné druhy perlooček (*Pasteuria ramosa*, *Spirobacillus cienkowski*).
- Parazité napadající širokou škálu hostitelských druhů (*Metschnikowia bicuspidata*, zástupci čeledi Saprolegniaceae).

Specifita se ovšem nemění jen na úrovni druhů, ale také u jednotlivých klonů hostitele, které se mohou díky vzájemné koevoluci adaptovat na dané lokalitě i v určitém čase. Klonální specifita se týká jak specializovaných parazitů, tak parazitů generalistů.

Životní cyklus parazita může být komplexní a obsahovat i více než jen jednoho hostitele. Známe řadu mikrosporidií rodu *Amblyospora*, které využívají jako hostitele klanonožce, a některé druhy komárů rodů *Aedes* a *Culex*, jejichž larvy se vyvíjí ve vodě. Podobný životní cyklus, s dalším hostitelem ze třídy hmyzu, předpokládáme i u některých druhů mikrosporidií napadajících hrotnatky, ale zatím nebyl prokázán.

Zvláštním typem organismů, které se vyskytují na povrchu těla perlooček rodu *Daphnia*, jsou epibionti. Nejedná se o klasické parazity, ale i tak mohou mít, při velkém pokrytí karapaxu či jiných částí těla, vliv na svého nositele. Stejně jako u endoparazitů mohou být ve výběru svého substrátu specializovaní (*Colacium calvum*, *Synedra cyclopum*).

Většina studií, které jsem za dobu práce na své svém textu přečetla, se zabývala omezeným spektrem hostitelských druhů (především *D. magna*, *D. pulex*, *D. longispina*). Jsou to nejčastěji studované druhy perlooček rodu *Daphnia*, ale jistě to neznámá, že parazité nenapadají i jiné druhy. Proto se dá předpokládat, že specifická některých parazitů, které jsem ve své práci uváděla, může být ve skutečnosti odlišná. Stejně jako existují více či méně zkoumané druhy hostitelů, existují i více či méně zkoumané lokality. Většina mnou citovaných studií se zabývá stanovišti ve střední a západní Evropě. Je tedy možná, že v jiných oblastech se daní parazité vyskytují i na jiných hostitelských druzích. Dalším faktorem ovlivňujícím mé závěry je fakt, že některé druhy byly pozorovány jen zřídka, neexistuje od nich laboratorní kultura, či nebyla provedena genetická analýza a jejich zařazení může být díky tomu nepřesné.

Doufám, že mé terénní výsledky pro diplomovou práci, která se bude konkrétně zabývat výskytem parazitů perlooček rodu na území České republiky, se zaměřením na mikrosporidiální nákazy, pomohou objasnit například zmíněnou otázku vícehostitelských cyklů některých mikrosporidií či otázku výskytu mikrosporidie *Octosporea bayeri*/ *Hamiltosporidium tvaerminnensis* a budou přínosem v tomto oboru.

SEZNAM LITERATURY

- AIDhaheri R.S., Willey R.L. (1996): Colonization and reproduction of the epibiotic flagellate *Colacium vesiculosum* (Euglenophyceae) on *Daphnia pulex*. *Journal of Phycology*, **32**: 770-774.
- Allen Y.C., Destasio B.T., Ramcharan C.W. (1993): Individual and population-level consequences of an algal epibiont on *Daphnia*. *Limnology and Oceanography*, **38**: 592- 601.
- Baker M.D., Vossbrinck C.R., Becnel J.J., Maddox J.J. (1997): Phylogenetic position of *Amblyospora* Hazard & Oldacer (Microsporida: Amblyosporidae) based on small subunit rRNA data and its implication for the evolution of Microsporidia. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, **44**: 220-225.
- Barret L.G., Thrall P.H., Burdon J.J., Linde C.C. (2008): Life history determines genetic structure and evolutionary potential of host-parasite interaction. *Trends in Ecology and Evolution*, **23**: 678-685.
- Barton N.H., Hewitt G.M. (1985): Analysis of hybrid zones. *Annual Review of Ecology and Systematics*, **16**: 113-148.
- Becnel J.J. (1992): Horizontal transmission and subsequent development of *Amblyospora californica* (Microsporidia: Amblyosporidae) in the intermediate and definitive host. *Diseases of Aquatic Organisms*, **13**: 17-28.
- Becnel J.J., Andreadis T.G. (1998): *Amblyospora salinaria* n.sp. (Microsporidia: Amblyosporidae), parasite of *Culex salinarius* (Diptera: Culicidae): Its life cycle stages in an intermediate host. *Journal of Invertebrate Pathology*, **71**: 258- 262.
- Bengtsson J., Ebert D. (1998): Distributions and impacts of microparasites on *Daphnia* in rockpool metapopulation. *Oecologia*, **115**: 213-221.
- Benzie J.A.H. (2005): Cladocera: The genus *Daphnia* (including *Daphniopsis*), Dumont H.J.F. (Ed.): Guides to the identification of the microinvertebrates of the continental waters of the world. *Backhuys publishers*, Leiden.
- Bieger A., Ebert D. (2009): Expression of parasite virulence at different host population densities under natural conditions. *Oecologia*, **160**: 247-255.
- Bittner K., Rothhaupt K.O. (2002): Ecological interactions of the microparasite *Caullerya mesnili* and its host *Daphnia galeata*. *Limnology and Oceanography*, **47**: 300- 305.
- Canning E.U., Curry A., Cheney S.A., Lafranchi-Tristem N.J., Ebert D., Refardt D., Killick-Kendrick R. (2001): *Flabelliforma montana* (Phylum Microsporidia) from *Phlebotomus ariasi* (Diptera, Psychodidae): ultrastructural observations and phylogenetic relationships. *European Journal of Protistology*, **37**: 207-221.
- Canning E.U., Killickkendrick R., Killickkendrick M. (1991): A new microsporidian parasite, *Flabelliforma montana* ng. N-sp, infecting *Phlebotomus ariasi* (Diptera, Psychodidae) in France. *Journal of Invertebrate Pathology*, **57**: 71- 81.
- Carius H.J., Little T.J., Ebert D. (2001): Genetic variation in a host-parasite association: Potential for coevolution and frequency-dependent selection. *Evolution*, **55**: 1136-1145.
- Corradi N., Haag K.L., Pombert J.-F., Ebert D., Keeling P.J. (2009): Draft genome sequence of the *Daphnia* pathogen *Octosporaea bayeri*: insights into the gene content of a large microsporidian genom and a model for host- parasite interactions. *Genome Biology*, **10**: R106.

- Czeczuga B., Kozłowska M., Godlewska A. (2002): Zoosporic aquatic fungi growing on dead specimens of 29 freshwater crustacean species. *Limnologica*, **32**: 180- 193.
- Decaestecker E., Declerck S., De Meester L., Ebert D. (2005): Ecological implications of parasites in natural *Daphnia* populations. *Oecologia*, **144**: 382-390.
- Decaestecker E., Gaba S., Raeymaekers J.A.M., Stocks R., Van Kerckhoven L., Ebert D., De Meester L. (2007): Host- parasite „Red Queen“ dynamics archived in pond sediment. *Nature*, **450**: 870-U16.
- Decaestecker E., Vergote A., Ebert D., De Meester L. (2003): Evidence for strong host clone-parasite species interactions in the *Daphnia* microparasite system. *Evolution*, **57**: 784-792.
- Duffy M.A., Hall S.R. (2008): Selective predation and rapid evolution can jointly dampen effects of virulent parasites on *Daphnia* populations. *American Naturalist*, **171**: 499-510.
- Duffy M.A., Hall S.R., Tessier A.J., Huebner M. (2005): Selective predators and their parasitized prey: Are epidemics in zooplankton under top-down control? *Limnology and Oceanography*, **50**: 412-420.
- Duffy M.A., Spencer R.H., Cáceres C.E., Ives A.R. (2009): Rapid evolution, seasonality, and the termination of parasite epidemics. *Ecology*, **90**: 1441 -1448.
- Duncan A.B., Little T.J. (2007): Parasite-driven genetic change in a natural population of *Daphnia*. *Evolution*, **61**: 796-803.
- Ebert D. (1994): Genetic-differences in the interactions of a microsporidian parasite and four clones of its cyclically parthenogenetic host. *Parasitology*, **118**:11-16.
- Ebert D. (2005): *Ecology, epidemiology and evolution of parasitism in Daphnia*, Bethesda(MD): National Library of Medicine (US). National Center for Biotechnology Information. Dostupné na: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/entrez/query.fcgi?db=Books>.
- Ebert D. (2008): Host-parasite coevolution: Insights from the *Daphnia*-parasite model-system. *Current Opinion in Microbiology*, **11**: 290-301.
- Ebert D. (1995a): The ecological interactions between a microsporidian parasite and its host *Daphnia magna*. *Journal of Animal Ecology*, **64**: 361-369.
- Ebert D. (1995 b): Variation in parasite virulence is not an indicator for the evolution of benevolence. *Conservation Biology*, **9**: 1652- 1653.
- Ebert D., Altermatt F., Lass S. (2007): A short term benefit for outcrossing in a *Daphnia* metapopulation in relation to parasitism. *Journal of the Royal Society Interface*, **4**: 777-785.
- Ebert D., Carius H.J., Little T., Decaestecker E. (2004): The evolution of virulence when parasites cause host castration and gigantism. *American Naturalist*, **164**: S19-S32.
- Ebert D., Lipsitch M., Magnin K.L. (2000): The effect of parasites on host population density and extinction: Experimental epidemiology with *Daphnia* and six microparasites. *American Naturalist*, **156**: 459-477.
- Ebert D., Rainey P., Embley T.M., Scholz D. (1996): Development, life cycle, ultrastructure and phylogenetic position of *Pasteuria ramosa* Metschnikoff 1888: Rediscovery of an obligate endoparasite of *Daphnia magna* Strauss. *Philosophical Transactions of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **351**: 1689-1701.

- Flegr J. (2009): Evoluční biologie (2., opravené a rozšířené vydání). *Academia*, Praha.
- Forró L., Korovchinsky N.M., Kotov A.A., Petrussek A. (2008): Global diversity of cladocerans (Cladocera: Crustacea) in freshwater. *Hydrobiologia*, **595**: 177–184.
- Fry J.D. (1990): Trade-offs in fitness on different hosts – evidence from a selection experiment with a phytophagous mite. *American Naturalist*, **136**: 569-580.
- Futuyma D.J., Moreno G. (1988): *The evolution of ecological specialization. Annual Review of Ecology and Systematics*, **19**: 207-233.
- Haag K.L., Larsson J.I.R., Refardt D., Ebert D. (2011): Cytological and molecular description of *Hamiltosporidium tvaerminnensis* gen. et sp. nov., a microsporidian parasite of *Daphnia magna*, and establishment of *Hamiltosporidium magnivora* comb. nov.. *Parasitology*, **138**: 447-462.
- Hafner M.S., Sudman P.D., Villablanca F.X., Spradling T.A., Demastes J.W., Nadler S.A. (1994): Disparate rates of molecular evolution in cospeciating hosts and parasites. *Science*, **265**: 1087- 1090.
- Hall S.R., Knight C.J., Becker C.R., Duffy M.A., Tessier A.J., Cáceres C.J. (2009): Quality matters: resource quality for hosts and the timing of epidemics. *Ecology Letters*, **12**: 118-128.
- Hudec I. (2010): Fauna Slovenka: Anomopoda, Ctenopoda, Haptopoda, Onychopoda (Crustacea: Branchiopoda). *VEDA*.
- Hurst G.D.D., Purvise E.L., Sloggett J.J., Majerus M.E.N. (1994): The effect of infection with male-killing *Rickettsia* on demography of male *Adalia bipunctata* L. (2-spot ladybird). *Heredity*, **73**: 309-316.
- Chiavelli D.A., Mills E.L., Threlkeld S.T. (1993): Host preference, seasonality, and community interactions of zooplankton ephibionts. *Limnology and Oceanography*, **38**: 574 – 583.
- Ironside J.E. (2007): Multiple losses of sex within a single genus of microsporidia. *BMC Evolutionary Biology*, **7**: 48.
- Ironside J.E., Wilkinson T.J., Rock J. (2008): Distribution and host range of the microsporidian *Pleistophroa mulleri*. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, **55**: 355-362.
- Kankaala P., Eloranta P. (1987): Epizootic ciliates (*Vorticella* sp.) compete for food with their host *Daphnia longispina* in a small polyhumic lake. *Oecologia*, **73**: 203-206.
- Kozubíková E. (2011): Detection, distribution, diversity and phylogeny of the crayfish plague pathogen *Aphanomyces astaci* (Oomycetes). Doktorská práce. *Přírodovědecká fakulta, katedra Ekologie, Karlova univerzita v Praze*.
- Kozubíková E., Petrussek A., Duris Z., Martin M.P., Dieguez- Uribeondo J., Oidtmann B. (2008): The old menace is back: Recent crayfish plague outbreaks in the Czech republic. *Aquaculture*, **274**: 208-217.
- Lajeunesse M.J., Forbes M.R. (2002): Host range and local parasite adaptation. *Proceedings of the Royal Society of London Series B-Biological Sciences*, **269**: 703- 710.
- Lampert W., Sommer U. (2007): Limnoecology. *Oxford University Press*.
- Lange B. (2009): Host range determinants of a microsporidian parasite. Magisterská práce. *Institute of Zoology, University of Basel*.

- Larsson J.I.R., Ebert D., Vávra J. (1997): Ultrastructural study and description on *Ordospora colligata* gen. et sp. nov. (Microspora, Ordosporidae fam. nov.), a new microsporidian parasite of *Daphnia magna* (Crustacea, Cladocera). *European Journal of Protistology*, **33**: 432-443.
- Lively C.M. (1989): Adaptation by a parasitic trematode to local-populations of its snail host. *Evolution*, **43**: 1663-1671.
- Lohr J.N., Laforsch C., Koerner H., Wolinska J. (2010): A *Daphnia* parasite (*Caullerya mesnili*) constitutes a new member of the Ichtyosporea, a group of Protists near the animal-fungi divergence. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, **57**: 328-336.
- Lom J., Nilsen F. (2003): Fish microsporidia: fine structural diversity and phylogeny. *International Journal for Parasitology*, **33**: 107-127.
- Luijckx P., Ben-Amin F., Mounton L., Du Pasquier L., Ebert D. (2011): Cloning of the unculturable parasite *Pasteuria ramosa* and its *Daphnia* host reveals extreme genotype–genotype interactions. *Ecology Letters*, **14**:125-131.
- Mangin K.L., Lipsitch M., Ebert D. (1995): Virulence and transmission modes of two microsporidia in *Daphnia-magna*. *Parasitology*, **111**: 133-142.
- Moore W.S. (1977): Evaluation of narrow hybrid zones in vertebrates. *Quarterly Review of Biology*, **52**: 263-277.
- Petrusek A., Hobaek A., Nilssen J.P., Skage M., Cerny M., Brede N., Schwenk K. (2008): A taxonomic reappraisal of the European *Daphnia longispina* complex (Crustacea, Cladocera, Anomopoda). *Zoologica Scripta*, **37**: 507-519.
- Poulin R., Morand S. (2004): Parasite biodiversity. *Smithsonian Books*.
- Refardt D., Canning E.U., Mathis A., Cheney S.A., Lafranchi-Tristem N.J., Ebert D. (2002): Small subunit ribosomal DNA phylogeny of microsporidia that infect *Daphnia* (Crustacea: Cladocera). *Parasitology*, **124**: 381-389.
- Refardt D., Decaestecker E., Johnson P.T.J., Vávra J. (2008): Morphology, molecular phylogeny, and ecology of *Binucleata daphniae* n. g., n. sp.(Fungi: Microsporidia), a parasite of *Daphnia magna* Straus. 1820 (Crustacea: Branchiopoda). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, **55**: 393-408.
- Refardt D., Ebert D. (2007): Inference of parasite local adaptation using two different fitness components. *Journal of Evolutionary Biology*, **20**: 921-929.
- Rodrigues J.L.M., Duffy M.A., Tessier A.J., Ebert D., Mounton L., Schmidt T.M. (2008): Phylogenetic characterization and prevalence of „*Spirobacillus cienkowski*“, a red-pigmented, spiral-shaped bacterial pathogen of freshwater *Daphnia* species. *Applied and Environmental Microbiology*, **74**: 1575-1582.
- Roth O., Ebert D., Vizoso D.B., Bieger A., Lass S. (2008): Male-biased sex-ratio distortion caused by *Octospora bayeri*, a vertically and horizontally-transmitted parasite of *Daphnia magna*. *International Journal for Parasitology*, **38**: 969-979.
- Sasal P., Desdevises Y., Durieux E., Lenfant P., Romans P. (2004): Parasites in marine protected areas: success and specificity of monogeneans. *Journal of Fish Biology*, **64**: 370-379.

- Simakova A.V., Pankova T.F., Tokarev Y.S., Issi I.V. (2005): *Senoma* gen. n., a new genus of microsporidia, with the type species *Senoma globulifera* comb. n. (syn. *Issia globulifera* Issi et Pankova 1983), from the malaria mosquito *Anopheles messeae* Fall.. *Protistology*, **4**: 135-144.
- Smitka C.M., Kane J., Prescott J.J., Barmun D.A. (1984): Isolation and characterization of Pityrosporium species isolated from dog ears. *Canadian Veterinary Journal*, **25**: 110-111.
- Stilmant D., Van Bellinghen C., Hance T., Boivin G. (2008): Host specialization in habitat specialists and generalists. *Oecologia*, **156**: 905-912.
- Thompson S.N., Kavaliers M. (1994): Physiological bases for parasite-induced alterations of host behavior. *Parasitology*, **109**: S119-S138.
- Threlkeld S.T., Chiavelli D.A., Willey R.L. (1993): The organization of zooplankton epibiont communities. *Trends in Ecology & Evolution*, **8**: 317- 321.
- Timms R., Read A.F. (1999): What make specialist special? *Trends in Ecology & Evolution*, **14**: 333-334.
- Tobler M., Schupp I.(2008): Expanding the horizon: the Red Queen and potential alternatives. *Canadian Journal of Zoology*, **86**: 765-773.
- Vávra J., Larsson J.I.R. (1994): *Berwaldia schaefernai* (Jirovec, 1937) comb-n, (Protozoa, Microsporidia), fine-structure, life-cycle, and relationship to *Berwaldia singularis* Larsson, 1981. *European Journal of Protistology*, **30**: 45- 54.
- Vizoso D.B., Ebert D. (2004): Within-host dynamics of a microsporidium with horizontal and vertical transmission: *Octosporea bayeri* and *Daphnia magna*. *Parasitology*, **128**: 31-38.
- Volf P., Horák P. (2007): Paraziti a jejich biologie. *Triton*, Praha.
- Vossbrinck C.R., Baker M.D., Andreadis T.G. (2010): Phylogenetic position of *Octosporea muscaedomesticae* (Microsporidia) and its relationship to *Octosporea bayeri* based on small subunit rDNA analysis. *Journal of Invertebrate Pathology*, **105**: 366- 370.
- Willey R.L., Threlkeld S.T. (1993): Organization of crustacean epizoan communities in a chain of sub-alpine ponds. *Limnology and Oceanography*, **38**: 623- 627.
- Willey R.L. , Willey R.B. (1993): Planktivore effects on zooplankton epibiont communities – epibiont pigmentation effects. *Limnology and Oceanography*, **38**: 1818- 1822.
- Wilson D.S., Yoshimura J. (1994): On the coexistence of specialists and generalists. *American Naturalist*, **144**: 692-707.
- Wolinska J., Giessler S., Koerner H. (2009): Molecular identification and hidden diversity of novel *Daphnia* parasites from European lakes. *Applied and Environmental Microbiology*, **75**: 7051–7059.
- Wolinska J., Keller B., Bittner K., Lass S., Spaak P. (2004): Do parasites lower *Daphnia* hybrid fitness? *Limnology and Oceanography*, **49**: 1401-1407.
- Wolinska J., Keller B., Manca M., Spaak P. (2007): Parasite survey of a *Daphnia* hybrid complex: Host specificity and environment determine infection. *Journal of Animal Ecology*, **76**: 191-200.
- Wolinska J., King K.C., Vigneux F., Lively M.C. (2008): Virulence, cultivating conditions, and phylogenetic analyses of oomycete parasites in *Daphnia*. *Parasitology*, **135**:1667-1678.

- Wolinska J., Spaak P., Koerner H., Petrusek A., Seda J., Giessler S. (2011): Transmission mode affects the population genetic structure of *Daphnia* parasites. *Journal of Evolutionary Biology*, **24**: 265-273.
- Woolhouse M.E.J., Hayden D.T., Antia R. (2005): Emerging pathogens: The epidemiology and evolution of species jumps. *Trends in Ecology & Evolution*, **20**: 238- 244.
- Yin M., Petrusek A., Seda J., Wolinska J. (nepublikováno): Two virulent parasites infect some *Daphnia* genotypes more than others – evidence from a fine-scale field study of two reservoirs inhabited by the *D. longispina* hybrid complex. V recenzním řízení v *International Journal of Parasitology*.