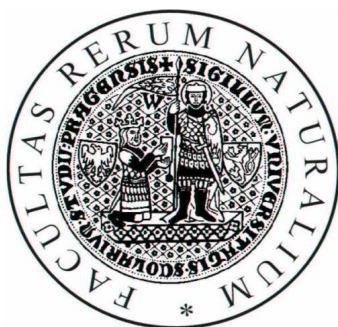


Přírodovědecká fakulta Univerzity Karlovy v Praze

Katedra parazitologie



Orientace motolic ve vnějším prostředí a hostiteli

Bakalářská práce

Lucie Parolová

Školitel: prof. RNDr. Petr Horák, Ph.D.

Praha 2008

Obsah

1. Abstrakt	2
2. Úvod	4
3. Charakteristika motolic	5
3.1 Morfologie.....	5
3.2 Ontogenetický vývoj	6
4. Orientace v prostředí	8
4.1 Miracidia	8
4.1.1 Uvolnění z vajíčka.....	8
4.1.2 Lokalizace habitatu hostitele	9
4.1.3 Náhodné vyhledávání hostitele	10
4.1.4 Orientace směrem k hostiteli.....	10
4.1.5 Kontakt a penetrace do hostitele	11
4.2 Cercárie	12
4.2.1 Uvolnění z mezihostitele.....	12
4.2.2 Lokalizace habitatu hostitele	13
4.2.3 Orientace směrem k hostiteli.....	14
4.2.4 Kontakt a penetrace do hostitele	15
4.2.4.1 Druhy napadající savce	15
4.2.4.2 Druhy napadající ptáky	16
4.2.4.3 Druhy napadající ryby	16
5. Orientace v hostiteli	18
5.1 Orientace v měkkýši.....	18
5.2 Orientace v druhém mezihostiteli	18
5.3 Orientace v definitivním hostiteli.....	21
6. Závěr.....	24
7. Použitá literatura	25

1. Abstrakt

Motolice (Trematoda) jsou skupina parazitických bezobratlých živočichů z kmene Platyhelminthes. Motolice jsou především endoparaziti obratlovců s velmi komplikovanými životními cykly. Všechna stadia motolic disponují širokou škálou sensorických orgánů, které mají funkci chemo-, mechano- a fotoreceptorů. Nicméně o jejich skutečných funkcích můžeme jen spekulovat. Ve vnějším prostředí se larvy motolic orientují pomocí taxie nebo kineze. Vyhledávání hostitele je u miracidí rozděleno do několika fází. V těchto fázích se miracidia nejdříve orientují podle signálů z vnějšího prostředí, a poté podle látek vyloučených mezihostitelem. Dosud bylo popsáno velké množství různých látek atraktivních pro miracidia, které ale byly málo hostitelsky specifické. Miracidia nejspíš reagují na hostitelsky mnohem specifičtější chemické sloučeniny, glykoproteiny. Cerkárie se při vyhledávání hostitele orientují podle signálů z prostředí a z hostitele. Jsou to především turbulence vody, kontakt, zastínění a chemické látky (nejčastěji L-arginin, ceramidy, cholesterol a mastné kyseliny). V hostiteli se larvy *Diplostomum spathaceum*, *Schistosoma mansoni* a *Trichobilharzia ocellata* orientují chemotakticky a reagují především na D-glukózu a L-arginin vázaný v tetrapeptidech. Larvy všech tří druhů vykazují v hostiteli negativní fotoorientaci. Znalost chemoorientace motolic by mohla být přínosná při vyvíjení specifických metod pro přerušení životních cyklů motolic, jako jsou „pasti“ na miracidia a cercárie či blokování nebo saturace jejich chemoreceptorů.

Trematoda is a group of parasitic invertebrates within the phylum Platyhelminthes. Trematodes are mainly endoparasites and they have complex life cycles. All trematode developmental stages display a variety of sensory organs which function as chemo-, mechano- and photoreceptors. However we can only hypothesize the real function of these receptors. In the external environment trematode stages use taxis or kinesis. The miracidial host-finding behaviour consists of several phases. During these phases miracidia first respond to environmental cues and then to host cues. So far, many attractive compounds with low host specificity have been described. However, miracidia most likely respond to host-specific glycoproteins. Cercariae respond to many environmental and host cues during host-finding behaviour, mainly to water turbulence, touch, dark stimuli and chemical cues (of which L-arginine, ceramids, cholesterol and fatty acids were the most common). *Diplostomum spathaceum*, *Schistosoma mansoni* and *Trichobilharzia ocellata* orientate chemotactically within the host and they respond mainly to D-glucose and L-arginine bound in tetrapeptides.

All of these three species show negative photo-orientation when migrating in the host. Knowledge of trematode chemoorientation might be used to develop specific methods for interruption of trematode life cycles, e.g., use of attractive chemicals in miracidial and cercarial traps or application of attractants as blocking/saturating agents binding to trematode chemoreceptors.

Klíčová slova:

Motolice; Orientace; Vyhledávání hostitele; Chování parazitů; Miracidia; Cerkárie

Keywords:

Trematodes; Orientation; Host finding; Parasite behaviour; Miracidia; Cercariae

2. Úvod

Schopnost orientovat se v prostředí a v hostiteli je velmi důležitá pro všechna životní stadia motolic. Bez této schopnosti by motolice nedokázaly vyhledat své hostitele ani nalézt vhodné místo uvnitř jeho těla. Pravděpodobně díky tomu, že orientace hraje v životě motolic tak důležitou roli, vyvinuly se v průběhu evoluce rozmanité strategie, které mají zajistit maximální úspěšnost při jejich přenosu a šíření.

Tato práce si klade za cíl shrnout dosavadní poznatky o tom, jaké stimuly jsou motolicemi registrovány při vyhledávání a penetraci do hostitele a při migraci jeho tělem, a také, jakým způsobem na tyto stimuly motolice reagují.

3. Charakteristika motolic

Motolice (Trematoda) jsou skupina parazitických bezobratlých živočichů z kmene Platyhelminthes, podkmene Neodermata, kam patří spolu s třídami Monogenea a Cestoda. Třída Trematoda se dělí na dvě podtřídy: Aspidogastrea a Digenea. V této práci se budu zabývat především motolicemi z podtřídy Digenea, protože právě tato skupina je z hlediska orientace ve vnějším prostředí a v hostiteli nejvíce prozkoumaná.

3.1 Morfologie

Motolice mají bilaterálně souměrné, většinou dorzoventrálně zploštělé tělo, často oválného tvaru. Velikost dospělých motolic se pohybuje od několika desetin milimetru až do několika centimetrů, některé druhy však mohou mít až několik metrů. Většinou jsou přítomny dvě přísavky, ústní a břišní, někdy ale břišní chybí. U motolic podtřídy Aspidogastrea je místo nich přítomen zvláštní přichycovací orgán na ventrální straně v podobě velkého přichytného disku (řád Aspidogastrida), řady přísavek (řád Stichocotylida) nebo je tvořen příčnými valy (řád Rugogastrida). Další charakteristické znaky motolic jsou: absence tělní dutiny, análního otvoru, dýchacího a oběhového systému, exkreční systém protonefridiálního typu, vnitřní prostor mezi orgány vyplněný parenchymatickými buňkami, častý hermafroditismus a tělo pokryté tegumentem. U neodermat dochází ke vzniku aciliárního povrchového syncytia (neodermis) při přeměně z larvy prvního stadia na další ontogenetické stadium.

Nervovou soustavu tvoří párové ganglium v přední části těla, od kterého vybíhají krátké nervové provazce k přednímu konci a delší provazce propojené komisurami ke konci zadnímu. Trávicí soustava je dobře vyvinuta, ale příjem potravy probíhá i tegumentem. Střevo má buď jednu nebo dvě větve, které mohou být slepé nebo se mohou v zadní části těla spojovat. Svalová soustava se skládá ze tří vrstev. Nejbazálnější vrstva je tvořena šikmou svalovinou, nad ní se nachází podélná svalovina a nejbliže povrchu leží svalovina okružní.

Všechna stadia motolic disponují širokou škálou sensorických orgánů, které mají funkci chemo-, mechano- a fotoreceptorů. Receptory jsou nezbytné pro orientaci motolic v prostředí a v těle hostitelů. Tyto sensorické struktury a jejich lokalizace na těle motolic jsou neměnné a jsou užívány jako taxonomické znaky (Richard 1971; Bogéa 2004). Jsou známy různé typy receptorů. Některé mohou být zakončeny jednou nebo několika sensorickými ciliemi, pak se rozlišují podle počtu a délky cilií, podle přítomnosti tegumentárního límečku a jeho výšky a podle přítomnosti bazálních tělísek a ciliárních kořínků (Gustafsson 1988, cit. dle Sukhdeo a

Sukhdeo 2004; Žďárská 1992; Czubaj a Niewiadomska 1996; Halton a kol. 1997; Moravec 2002; Bogéa 2004). Na povrchu těla většiny miracidíí a některých cercárií se také vyskytují komplexní receptory – oční skvrny. I když známe mnoho typů sensorických struktur na těle motolic, o jejich skutečných funkcích můžeme jen spekulovat.

3.2 Ontogenetický vývoj

Motolice jsou endoparaziti (výjimečně ektoparaziti) obratlovců. Pouze někteří zástupci z podtřídy Aspidogastrea mají jako definitivní hostitele měkkýše. Vývojový cyklus je nepřímý a často se v něm vyskytují dva meziphostitelé. Jako první meziphostitel se nejčastěji uplatňuje měkkýš. Motolice parazitují téměř ve všech orgánových soustavách, hlavně v trávicím systému, dále v krevním řečišti, dýchacích cestách, nervové soustavě, urogenitálním traktu, tělních dutinách a v dalších tkáních.

Dospělé motolice produkují vajíčka, která v sobě v okamžiku vyloučení z definitivního hostitele již můžou mít vyvinutou larvu prvního stadia. Následně dochází k infekci prvního meziphostitele – měkkýše.

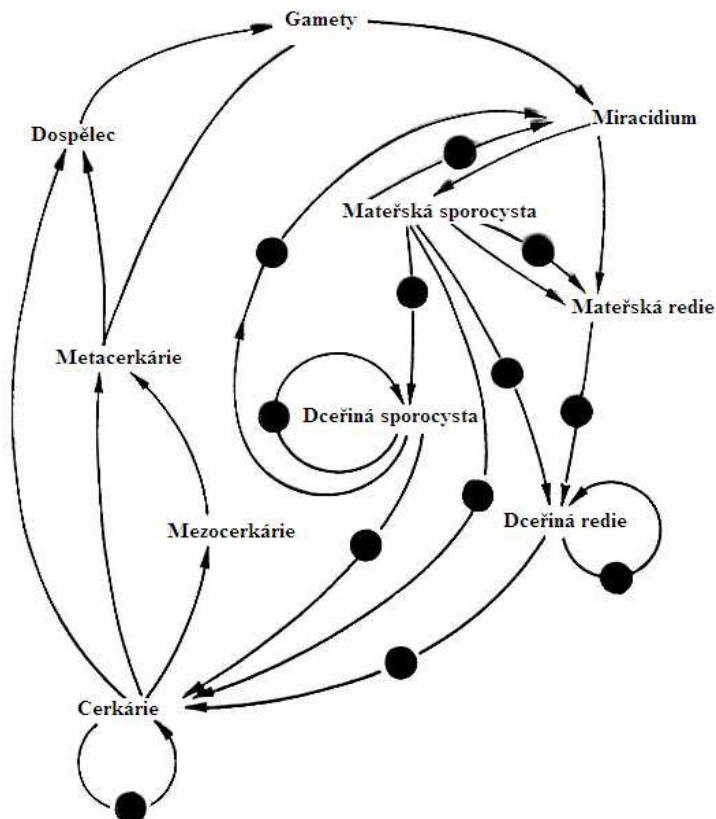
Infekční stadium u podtřídy Aspidogastrea, které se ve vnějším prostředí líhne z vajíčka, se nazývá kotylocidium (první larvální stadium). Někdy dochází k nákaze měkkýše také pozřením embryonovaného vajíčka. Z larvy se vyvíjí dospělec, u některých zástupců ale měkkýš funguje jen jako meziphostitel a k tomu, aby vznikl dospělec, je nutná predace obratlovcem (paryba, kostnatá ryba nebo želva).

U motolic podtřídy Digenea je situace složitější. Infekční stadium je zde miracidium nebo sporocysta uvnitř vajíčka (pak dochází k nákaze prvního meziphostitele pozřením vajíčka), nebo volně plovoucí miracidium, které aktivně vyhledává prvního meziphostitele (nejčastěji měkkýš) a proniká do něj. Uvnitř meziphostitele dochází k přeměně miracidia na mateřskou sporocystu, která produkuje buď dceřiné sporocysty nebo redie. Dceřiné sporocysty a redie produkují další dceřiné sporocysty a dceřiné redie. Po několika generacích dochází k produkci cercárií. Ty opouštějí tělo prvního meziphostitele buď aktivně nebo jsou plžem vyloučeny, například ve slizové kouli (*Dicrocoelium dendriticum*). Další vývoj může probíhat několika způsoby. V nejjednodušším případě dvouhostitelského cyklu zůstávají cercárie uvnitř sporocysty a vyvíjejí se do stádia metacercárie, která je následně spolu s meziphostitelským měkkýšem pozřena definitivním hostitelem (například čeled' Leucochloridiidae). V případě jiného typu dvouhostitelského cyklu cercárie pronikají do vnějšího prostředí, vyhledávají definitivního hostitele a vnikají do něj (například čeled'

Schistosomatidae). V některých případech kolem sebe cercárie ve vnějším prostředí vytvoří pomocí cystogenních žlázek obal, a tím vznikají metacercárie. Cercárie se nejčastěji encystují na vegetaci a jsou spolu s ní pozřeny definitivním hostitelem (například čeleď Fasciolidae). U tříhostitelských druhů motolic pronikají cercárie do druhého meziphostitele (aktivně nebo pozřením) a stadium metacercárie tvoří až zde. Cyklus se uzavírá, když je druhý meziphostitel pozřen definitivním hostitelem (například čeleď Diplostomatidae). Jiné stadium, mezocercárie, se vyskytuje u čtyřhostitelských cyklů mezi stadii cercárie a metacercárie. Vzniká ve druhém meziphostiteli z cercárie, a metacercárie se pak vyvíjí ve třetím meziphostiteli nebo v definitivním hostiteli, kde následně vzniká dospělec (například čeleď Strigeidae).

Cercárie při penetraci do druhého nebo definitivního hostitele odvrhují ocásek a transformují tegument. U některých zástupců motolic mají tato stadia, která se tvoří po penetraci do hostitele a migrují tělem až do doby, kdy se přemění na další stadium, speciální názvy, například schistosomuly u čeledi Schistosomatidae nebo diplostomuly u druhu *Diplostomum spathaceum*. Životní cykly motolic jsou často velmi komplikované a mohou probíhat nejen popsánymi způsoby, ale mohou být i velice modifikované (Obr. 1.)

Obr. 1. Možné životní cykly motolic (upraveno dle Kearns 1998)



4. Orientace v prostředí

Rozeznáváme dva typy orientačního chování, taxi a kinezi. Při taxi se živočichové pohybují přímo ke stimulu (pozitivní taxe), nebo od něj (negativní taxe). Kineze je druh orientace, při které živočichové mění své chování v závislosti na intenzitě stimulu. Například při ortokinezi živočichové se zvyšováním intenzity stimulu snižují rychlost pohybu. Při klinokinezi se při přibližování k atraktantu zvyšuje počet změn směru. Miracidia a cercarie se nejčastěji orientují pomocí klinokineze (Sukhdeo a Sukhdeo 2004).

4.1 Miracidia

Volně žijící stadia mají zásadní roli v životním cyklu motolic. Poté, co se miracidia vylíhnou z vajíčka, musí co nejdříve najít svého meziphostitele, měkkýše, protože ve vnějším prostředí nepřijímají potravu a jejich zásobní látky jsou omezené. Většina druhů motolic se dokáže vyvíjet a nepohlavně množit pouze v několika málo druzích měkkýšů. Proto je pro miracidia velice důležité, aby dokázala najít a rozpoznat vhodného meziphostitele. Mnoho studií dokazuje, že miracidia při vyhledávání preferují svého specifického meziphostitelského měkkýše proti ostatním. Vyhledávání hostitele se skládá z následujících fází:

4.1.1 Uvolnění z vajíčka

Po vyloučení vajíček z definitivního hostitele dochází ve vnějším prostředí k líhnutí miracidí. Někdy se miracidia líhnou už v hostiteli, jako například u druhu *Trichobilharzia regenti*, kde se miracidia líhnou v tkáni nosní dutiny vodních ptáků, odkud se dostávají do vodního prostředí (Horák a kol. 1998). Příprava na nalezení vhodného meziphostitele začíná již ve fázi vylučování vajíček dospělci. Některé druhy vylučují vajíčka ve vhodnou dobu tak, aby byla nejvyšší pravděpodobnost, že se dostanou do vodního prostředí, kde mohou nakazit meziphostitele. Například u druhu *Schistosoma haematobium* je vrchol ve vylučování vajíček kolem poledne, kdy je nejvyšší pravděpodobnost, že bude definitivní hostitel (člověk) ve vodě (Scott a Stimmel 1956, cit dle Doehring a kol. 1983; McMahon 1976). Z vajíček se ve vnějším prostředí líhnou miracidia, nejčastěji v reakci na změnu osmotického tlaku, světlo a změnu teploty (Smyth a Halton 1983; cit dle Sukhdeo a Sukhdeo 2004). Například u vajíček druhu *Schistosoma mansoni* se zdá jako hlavní stimul pro líhnutí změna osmotického tlaku, když se vajíčka dostanou se stolicí definitivního hostitele do vodního prostředí, protože se

miracidia lhlha ve stejném poútu ve tmě i za svétla, pokud se dostala do vody (Kassim a Gilbertson 1976).

4.1.2 Lokalizace habitatu hostitele

V první fázi po vylíhnutí (přibližně 1 až 3 hodiny) plavou miracidia relativně rychle, v dlouhých rovných liniích. V této fázi miracidia většiny druhů nereagují na signály z měkkýše, ale orientují se podle světla a gravitace (Campbell a Todd 1955; Takahashi a kol. 1961, cit. dle Hertel a kol. 2006; Prechel a Nollen 1979; Sukhdeo a Sukhdeo 2004). Jejich reakce závisí na tom, jaký habitat si vybírají jejich mezihostitelští měkkýši. Například miracidia druhů *S. mansoni*, *Echinostoma caproni* a *Echinostoma trivolvis* se orientují geonegativně a fotopozitivně, jako jejich mezihostitelé *Biomphalaria glabrata* (mezihostitel *S. mansoni* a *E. caproni*) a *Helisoma trivolvis* (mezihostitel *E. trivolvis*). Naopak miracidia druhu *Philophthalmus gralli* mají silně geopozitivní orientaci a mezihostitel tohoto druhu, *Tarebria granifer*, žije na dně vodních nádrží. Miracidia druhu *S. haematobium* vykazují fotonegativní orientaci (Shiff 1969, 1974; Upatham 1972a, 1972b; Mason a Fripp 1976; Keshavarz-Valian a Nollen 1980; Behrens a Nollen 1992; Nollen 1994). Miracidia rovněž reagují na změnu teploty okolní vody a magnetické pole Země. Například miracidia druhu *S. haematobium* mění svou negativní fotoorientaci na pozitivní s klesající teplotou, takže v létě infikují svého mezihostitele *Bulinus globosus* především u dna nebo u zastíněné hladiny, zatímco v zimě, když teploty klesnou pod 18-13 stupňů, se vyskytují hlavně u hladiny vodních nádrží (Shiff 1974). Podobně miracidia *Schistosoma japonicum* mění svou pozitivní fotoorientaci na negativní s rostoucí teplotou (Takahashi a kol. 1961, cit. dle Haas 1994). Distribuce měkkýšů ve vodních nádržích se také mění s teplotou vody, a proto tyto změny foto- a geo-orientace mohou vést k paralelnímu výskytu miracidí a měkkýšů (Shiff 1969, 1974). Reakce na magnetické pole byla pozorována u druhu *P. gralli*, jehož miracidia se dokázala orientovat směrem k severu, když byla vystavena magnetickému poli o síle 3×10^{-4} až 2×10^{-2} T (Tesla, jednotka magnetické indukce) (Stabrowski a Nollen 1985). Jak se miracidia dokážou orientovat podle gravitace a magnetického pole není doposud známo. Oční skvrny a fotoreceptory se vyskytují u většiny miracidí, ale není jasné, jaký druh orientace na světlo miracidia používají. Miracidia *S. mansoni* používají orthokinezi, protože mění rychlost pohybu s intenzitou stimulu, o druhu fotoorientace miracidí ostatních druhů motolic není zatím nic známo (Mason a Fripp 1976).

4.1.3 Náhodné vyhledávání hostitele

Některí autoři zařazují mezi fáze lokalizace habitatu hostitele a orientace směrem k hostiteli ještě fázi náhodného vyhledávání (Sukhdeo a Sukhdeo 2004). Přechod mezi touto a předchozí fází totiž není příliš zřetelný. Například u miracidíí *S. mansoni* dochází po 1-3 hodinách ke snížení rychlosti pohybu a zvýšení počtu změn směru, čímž mohou náhodně prohledávat blízké okolí (Mason a Fripp 1976).

4.1.4 Orientace směrem k hostiteli

Orientace v této fázi je řízena signály z mezihostitele, ale není směřována přímo k němu. Je to dáno tím, že díky četným proudům ve vodním prostředí není možné, aby se zde ustanovil gradient chemických látek, které plž uvolňuje. Místo toho jsou chemické signály kolem měkkýše nepravidelně rozloženy. Proto je pro miracidia výhodnější, aby používala typ orientace, který povede k jejich akumulaci kolem mezihostitele. V této fázi tedy motolice používají především chemokinezi. Jediná výjimka jsou miracidia *S. japonicum*, která jsou schopna určit směr koncentračního gradientu atraktantu a používají tedy chemotaxi (Haas a kol. 1991). Miracidia druhů *S. mansoni*, *S. haematobium*, *Trichobilharzia ocellata*, *Fasciola hepatica* a *E. caproni* se stoupající intenzitou stimulů zvyšují počet změn směru při plavání („rate of change of direction – RCD“) a pokud začne intenzita klesat, otočí se zpět („turnback response“), což vede k jejich akumulaci kolem hostitele (Haas a kol. 1995a).

Hledání látek atraktivních pro miracidia provázejí rozporuplné výsledky. Jisté je, že miracidia atrahují chemické látky, které produkuje do okolní vody jejich specifický mezihostitelský plž. Mnoho autorů se pokoušelo charakterizovat chemické složení těchto látek v tkáních a hlenu měkkýše a především ve vodě, která jím byla obývána („snail conditioned water – SCW“).

Dosud bylo popsáno velké množství různých atraktivních chemických látek, které ale byly hostitelsky málo specifické, jako jsou aminokyseliny, peptidy, mastné kyseliny, kyselina N-acetylneuramová, amoniak, glutathion, serotonin, glukóza, chlorid manganatý, chlorovodík, kyselina siřičitá, glykoproteiny, vápenaté a hořečnaté ionty a hlen měkkýše obecně (viz přehledové publikace Sukhdeo a Sukhdeo 2004, Haas 2003). Výsledky si odporovaly pravděpodobně proto, že byly použity nevhodné nebo nesrovnatelné metody. Například miracidia *S. mansoni* odpovídají velmi citlivě na i malé změny v pH, ale pH roztoků testovaných látek často nebylo sledováno. Některí autoři považovali za důkaz atraktivity látky akumulaci miracidíí, přestože toto chování se může vyskytnout také jako

výsledek toxického efektu látky. Další důvod mohl být, že při získávání vody s atraktanty byli plži ponecháni ve vodě dlouhou dobu, takže látky vylučované plžem se v ní vyskytovaly v koncentracích mnohem vyšších, než jaké jsou v přírodním prostředí obvyklé. Proto mohla miracidia reagovat i na složky SCW, které při vyhledávání hostitele nehrají žádnou roli, pokud byly nabízeny v nepřírozně vysokých koncentracích. I rozdíly při získávání vody s atraktanty mohou vést k velmi rozdílným výsledkům, například někteří autoři používali pro přípravu SCW destilovanou vodu (Haas a kol. 1995a, Haas a Haberl 1997).

V poslední době vyšlo najevo, že miracidia druhů *S. mansoni*, *S. haematobium*, *T. ocellata*, *F. hepatica* a *E. caproni* reagují na hostitelsky mnohem specifitější chemické sloučeniny. Jsou to makromolekulární glykokonjugáty („miracidia-atrahující glykoproteiny – MAGs“), které jsou vylučovány měkkýšem. Zdá se, že i miracidia dalších druhů jsou atrahovány stejnými látkami (Haberl a Haas 1992; Haberl a kol. 1995, 2000; Kalbe a kol. 1997, 2000). U druhů *S. mansoni*, *T. ocellata* a *F. hepatica* mají tyto látky podobné chemické složení. Sacharidové řetězce jsou připojeny k proteinu O-glykosidickou vazbou, pravděpodobně mezi threoninem (nebo serinem) a N-acetylgalaktosaminem, a signál sloužící k rozeznání kompatibilního měkkýše je uložen v sacharidové části (Haberl a Haas 1992; Haberl a kol. 1995; Kalbe a kol. 1997, 2000). Tato sacharidová část má velmi komplexní strukturu. Skládá se přinejmenším ze 14 různých monosacharidů, které jsou spojeny různými typy chemických vazeb, ale více o ní není známo (Kalbe a kol. 2000).

Hostitelská specifita motolic dokonce sahá tak daleko, že různé geografické izoláty jednoho druhu jsou atrahovány různými druhy měkkýšů. Například u miracidíí *S. mansoni*, je linie z Egypta atrahována pouze měkkýšem *Biomphalaria alexandrina*, zatímco brazilská linie nerozlišuje mezi *B. alexandrina*, *B. glabrata* a *Lymnaea stagnalis* (Kalbe a kol. 1996).

4.1.5 Kontakt a penetrace do hostitele

Po kontaktu s pevným povrchem vykazují miracidia různé vzorce chování (MacInnis 1965). Mezi nimi „opakované zkoumání“, „přisednutí“ a „penetrace“ jsou typické reakce po kontaktu s kompatibilním měkkýšem. U schistosom jsou tyto reakce vyvolány makromolekulárními glykokonjugáty v měkkýším hlenu, ale doposud není známo, zda jsou tyto sloučeniny identické s těmi, které jsou pro motolice atraktivní ve fázi vyhledávání hostitele (Haas a kol. 1991; Haberl a Haas 1992; Haberl a kol. 1995). U miracidíí *F. hepatica* jsou přisednutí a penetrace navíc stimulovány mastnými kyselinami a interakcí s epidermálními strukturami měkkýše (Wilson a kol. 1971, cit. dle Kalbe a kol. 1997).

Není známo, proč po více než 400 milionech letech koexistence plži stále produkují látky, které umožňují miracidii vyhledat a infikovat je, přestože po infekci dochází velmi často ke kastraci parazitem. Například produkce vajec u druhu *Galba truncatula* ustane již po 21 dnech po infekci miracidii *F. hepatica* (Wilson a Denison 1980). Je ovšem možné, že glykoproteiny atraktivní pro miracidia, které měkkýši produkují, mohou sloužit pro měkkýše jako feromony při vyhledávání jedinců stejného druhu pro spáření. Tyto látky by potom musely být druhově specifické a také je měkkýši nemohou měnit, protože slouží k tak důležitému účelu. Miracidia by je proto mohla jednoduše využívat pro vyhledávání a rozpoznání kompatibilního hostitele.

4.2 Cerkárie

Cerkárie motolic napadají široké spektrum hostitelů. Stejně jako miracidia disponují jen omezenými zásobami energie, proto musí v krátké době vyhledat svého dalšího mezihostitele nebo definitivního hostitele a proniknout do něj. Pokud se ovšem ve vnějším prostředí neencystují a nemění v metacerkárie. Pokud je známo, cercárie vykazují mnohem větší diverzitu v látkách a signálech z prostředí, které je atrahují a také ve vzorcích chování, kterými na ně reagují. To by mohlo značit, že tato fáze je v životním cyklu motolic velice důležitá, a proto se v průběhu evoluce vyvinuly strategie, které mají zajistit maximální pravděpodobnost nakažení dalšího hostitele.

4.2.1 Uvolnění z mezihostitele

Uvolnění z mezihostitele vyvolávají různé podněty. Jsou to například mechanické vibrace, změna teploty, světla, vlhkosti a pH (Kuntz 1947; Olivier 1951; Gumble a kol. 1957; Chapman 1974; Wagenbach a Alldredge 1974; Schmidt a Fried 1996; Toledo a kol. 1999). Uvolnění cercárií z mezihostitele probíhá v době, kdy je nejvyšší pravděpodobnost, že se ve vodě setkají se svým dalším hostitelem (Théron 1984; Combes a kol. 1994, cit. dle Haas 1994). Například cercárie *S. mansoni* opouštějí svého prvního mezihostitele kolem poledne, kdy je nejvyšší pravděpodobnost, že se bude ve vodě vyskytovat člověk, jejich definitivní hostitel, nicméně studie na cercáriích *S. mansoni* získaných z Guadeloupe zjistila další vrchol ve vylučování okolo čtvrté hodiny odpoledne u populace izolované ze sylvatických oblastí, kde je definitivním hostitelem krysa (*Rattus rattus*), která začíná být aktivní až za šera (Théron 1984). Podobně vrcholy v uvolňování cercárií z mezihostitele *Bulinus natalensis* u *Schistosoma margrebowiei* hodinu po době úsvitu a hodinu po soumraku korespondují

s dobou, kdy vodní nádrže navštěvují jejich definitivní hostitelé, antilopy a vodušky (Raymond a Probert 1991). Doba uvolňování z mezihostitele je pravděpodobně geneticky zakódovaná, protože když byl jeden plž druhu *B. glabrata* infikován dvěma populacemi *S. mansoni*, z nichž jedna se uvolňovala brzy ráno a druhá pozdě večer, každá populace si zachovala dobu, ve kterou se uvolňovala (Théron a kol. 1977).

4.2.2 Lokalizace habitatu hostitele

Okamžitě po uvolnění vykazují cercárie motolic vzorce chování, které jim mají zajistit únik z blízkosti prvního mezihostitele a vyhledání míst, ve kterých se vyskytuje jejich další hostitel. Cercárie druhů *D. spathaceum* a *S. haematobium* vykazují vysokou aktivitu v plavání, která je dostane daleko od mezihostitelského plže (Haas 1969; Haas a kol. 1994). V této ranné fázi se cercárie většiny druhů motolic, orientují podle světla a gravitace, aby se dostaly do habitatu dalšího hostitele (Haas 1992, 1994; Haas a kol. 1994; Combes a kol. 1994, cit. dle Brachs a Haas 2008; Loy a kol. 2001), a nereagují na signály z dalšího hostitele, stejně jako miracidia (Evans a Gordon 1983, cit. dle. Loy a kol. 2001). Toto je výhodné pro larvy motolic, které napadají jako druhého mezihostitele plže, protože se tak mohou vyhnout reinfekci hostitele, ze kterého se uvolnily. Například cercárie *Pseudoechinoparyphium echinatum* se okamžitě po uvolnění orientují fotopozitivně a geonegativně a cercárie *Echinoparyphium recurvatum* mají dvě hodiny po uvolnění sníženou infektivitu k měkkýši (Haas 1994; Evans a Gordon 1983, cit. dle. Loy a kol. 2001).

Cercárie různých druhů motolic napadající vodní organismy reagují velmi odlišně na světlo a gravitaci podle toho, v jakém prostředí žije jejich další hostitel. Cercárie napadající savce, vodní ptáky, ryby a obojživelníky mají tendenci zdržovat se v horních vrstvách vody, zatímco paraziti larev obojživelníků, plžů a larev chrostíků se orientují směrem ke dnu (Haas 1994). Například cercárie *Cardiocephalus longicollis* se po opuštění prvního mezihostitele orientují fotopozitivně a geonegativně tak, aby se dostaly do středu vodního sloupce, kde se vyskytuje jejich rybí mezihostitel. Naopak cercárie *Lepocreadium pegorchis* jsou silně geopozitivní, proto se zdržují u dna, stejně jako jejich další hostitel, měkkýš (Combes a kol. 1994, cit. dle Sukhdeo a Sukhdeo 2004). Cercárie *Schistosoma spindale*, které napadají skot, se orientují geonegativně (Haas a kol. 1990a) a *Opisthorchis viverrini* napadající ryby je silně fotopozitivní a geonegativní (Haas a kol. 1990b). Při vysoké intenzitě světla se ale u některých druhů fotoorientace mění. Cercárie *S. mansoni* prodlužují fázi, kdy se jen pasivně vznášejí ve vodě (Saladin 1982) a cercárie *Cryptocotyle lingua* se orientují méně

fotopozitivně (Rea a Irwin 1992a). Toto chování je přivede do větší hloubky, což je může ochránit od škodlivých účinků ultrafialového záření, a tím i prodloužit dobu jejich přežívání.

Některé druhy motolic se orientují také podle teploty. Při vysoké teplotě vody se cercárie přesouvají do nižších vrstev vody, což jim může zajistit delší přežití. Toto chování se vyskytuje u cercárií *D. spathaceum* (Haas 1969).

4.2.3 Orientace směrem k hostiteli

V blízkosti dalšího hostitele se cercárie orientují se podle signálů z hostitele. Jsou to chemické látky, turbulence vody, kontakt a zastínění.

Chemoorientace se vyskytuje především u motolic, které mají jako druhé mezihostitele měkkýše. Ti se velmi pomalu pohybují, a proto okolo nich může vzniknout chemický gradient signálních látek. Cercárie *Echinostoma revolutum*, *E. trivolvis* a *P. echinatum* se orientují pomocí chemokineze (se zvyšující se koncentrací stimulu zvyšují počet změn směru pohybu, při klesající koncentraci se otočí zpět) a reagují na gradient aminokyselin, močoviny a amoniaku, cercárie *Hypoderaeum conoideum* se orientují pomocí chemotaxe (jsou schopny určit směr koncentračního gradientu atraktantu) a reagují na peptidy (Haas a kol. 1995b; Körner a Haas 1998a, b; Haberl a kol. 2000). Tyto látky jsou hostitelsky nespecifické, tím se cercárie liší od miracidí. Nedávno byla překvapivě chemokineze objevena i u cercárií *S. mansoni*, přestože vyhledává rychle se pohybujícího hostitele, člověka. Na atraktanty, kterými jsou mastné kyseliny, L-arginin a malé peptidy s terminálně vázaným L-argininem, reagují tím, že rychle přecházejí mezi fázemi plavání vpřed a vzad a také, že zvyšují počet změn směru plavání, což může vést k akumulaci v blízkosti lidské kůže a zvýšení pravděpodobnosti kontaktu s ní (Haeberlein a Haas 2008; Brachs a Haas 2008).

Turbulence vody a kontakt jsou stimuly především pro ty druhy motolic, které napadají jako další mezihostitele ryby. Cercárie po těchto impulzech zahájí dlouhotrvající plavání a u *D. spathaceum* a *O. viverrini* se cercárie snaží přichytit na jakoukoliv pevnou plochu, na kterou narazí (Haas a kol. 1990b; Haas 1992). Naopak cercárie, které napadají savce, na vodní turbulenci neodpovídají buď vůbec, nebo jen velmi málo, což jim může pomoci vyvarovat se energeticky náročných reakcí na časté setkávání s vodními organismy, kteří nejsou jejich hostiteli (Haas 2003). Cercárie *T. ocellata*, které napadají ptáky, reagují na vodní turbulenci tím, že začnou plavat přední částí těla vpřed a přisedají na jakýkoliv povrch, na který narazí (Feiler a Haas 1988a).

Zastínění vyvolává nebo inhibuje plavání u mnoha druhů motolic. Nicméně není dosud jisté, jestli toto chování napomáhá vyhledat hostitele nebo jestli je antipredační. Jednotlivé

druhy se liší v reakci na zastínění, podle toho, kdy na ně působí. Pokud dojde k zastínění, když se cercárie pohybuje, inhibuje plavání u druhů *D. spathaceum*, *O. viverrini* a *S. spindale*. Naopak pokud jsou cercárie zastíněny během doby, kdy se jen pasivně vznášejí ve vodě, u mnoha druhů to plavání vyvolá. Jsou to všechny druhy motolic, které jako dalšího meziphostitele napadají ryby. Mezi druhy napadajícími savce je to pouze *S. haematobium*, u které vyvolává dlouhotrvající plavání směrem vzhůru, které je může přivést do blízkosti definitivního hostitele, člověka (Haas a kol. 1994). Zvláštní případ jsou cercárie druhu *T. ocellata* (napadající ptáky), u kterých zastínění aktivuje plavání v jakékoli fázi. Reakcí je pak dlouhotrvající plavání směrem od místa, kde byl před tím zdroj světla, které je může vést k nohám vodních ptáků, do kterých následně penetrují. Zastínění u tohoto druhu dále vyvolává ochotu přisednout na jakýkoliv povrch a zvýšenou citlivost na tepelné a chemické signály, na které reaguje při přichycení na hostitele (Feiler a Haas 1988a). U druhů *D. spathaceum* a *O. viverrini* při dlouhotrvajícím zastínění plavaly cercárie jen krátkou dobu, dlouhotrvající plavání vyvolalo pouze krátké zastínění. Tyto reakce by mohly být výhodné při vyhledávání dalšího meziphostitele. Pokud ryba kolem jen proplula (krátké zastínění), a je tedy daleko, musí cercárie plavat delší dobu, zatímco pokud je stále v blízkosti (dlouhé zastínění), stačí plavat jen chvíli (Haas 1969; Haas a kol. 1990b).

4.2.4 Kontakt a penetrace do hostitele

Po kontaktu s potenciálním hostitelem cercárie vykazují sérii vzorců chování, které mohou být spontánní nebo mohou být stimulovány signály z hostitele. Jsou to přichycení na hostitele, trvalý kontakt, nalezení vhodných míst pro průnik do hostitele a penetrace do něj. Každá fáze může být vyvolána odlišnými signály. V této fázi se vyskytuje velká diverzita strategií, která se pravděpodobně vyvinula proto, aby se dosáhlo maximálního úspěchu při přenosu (Haas a Haberl 1997). Stimulační látky v této fázi byly analyzovány u druhů napadající savce, ptáky a ryby.

4.2.4.1 Druhy napadající savce

Z této skupiny byly studie prováděny pouze na cercáriích z čeledi Schistosomatidae. Každý druh z této čeledi má specifické strategie v průběhu rozpoznání svého hostitele a penetrace do něj (Tabulka 1). Je to pravděpodobně adaptace na různé ekologické podmínky v prostředí, kde infikují svého hostitele. Například cercárie *S. mansoni* a *Orientobilharzia turkestanica* se v těchto fázích orientují především podle různých chemických látek, které se

vyskytují na kůži hostitele (Haas a kol. 1994; Shakarbaev a kol. 2001). Naopak cercárie *S. japonicum* a *S. spindale* neuvžívají žádné chemické látky jako signály při infekci hostitele, kromě fáze penetrace (Haas a kol. 1987). Je možné, že citlivost ke specifickým chemickým látkám se vyvinula jako adaptace na život v čisté vodě nebo blízko vodní hladiny (*S. mansoni* a *O. turkestanica*), kde registraci těchto látek neruší složky bahna, oproti tomu cercárie *S. japonicum* a *S. spindale* se orientují především podle tepla, což je pravděpodobně adaptace na bahnitě vody, ve kterých žijí (Haas a kol. 1990a, 1994). Pro cercárie schistosomních motolic je charakteristické, že fáze penetrace je stimulována volnými mastnými kyselinami, které jsou přítomny na kůži většiny savců. Nejvíce atraktivní jsou nasycené mastné kyseliny s řetězcem obsahujícím 10-14 atomů uhlíku a nenasycené mastné kyseliny s řetězcem obsahujícím 18 atomů uhlíku a vysoký počet dvojných vazeb (Haas a kol. 1987, 1994). U cercárií *S. japonicum* může být ale penetrace stimulována i pouze vyšší teplotou substrátu oproti okolnímu prostředí, v rozmezí 32-40 °C (Haas a kol. 1987).

4.2.4.2 Druhy napadající ptáky

Signály pro kontakt a invazi do hostitele byly dosud zkoumány pouze u tří druhů motolic napadajících ptáky (Tabulka 1). Každý z těchto druhů alespoň v jedné fázi rozpoznání a penetrace do hostitele odpovídá na ceramidy nebo cholesterol. Tyto látky se vyskytují i na kůži savců, což by vysvětlovalo to, že cercárie těchto druhů pronikají i do nich, v jejich kůži však většinou za krátkou dobu hynou. Ptačí uropygiální žláza ale ceramidy ani cholesterol neprodukuje, takže reakce na tyto látky mohou cercáriím pomoci zabránit penetraci do peří ptáků (Haas 1994).

4.2.4.3 Druhy napadající ryby

Podrobná data jsou dostupná pro tři druhy motolic (Tabulka 1). Je pro ně typická velká diverzita v chemických signálech při rozpoznání hostitele. Cercárie *D. spathaceum* velice rychle přisedají na široké spektrum vodních živočichů v reakci na turbulenci vody a především na oxid uhličitý (Haas 1974a,b; 1975). Hostitelská specifita se projevuje až v dalších fázích rozpoznání hostitele. Penetrace je stimulována hlavně glykoproteiny s vázanou kyselinou sialovou, která je typickou složkou mukusu obratlovců, ale chybí u většiny bezobratlých (Schauer a kol. 1995, cit. dle Haas a kol. 2002b). Další dva druhy dokáží rozpoznat svého specifického hostitele pravděpodobně díky makromolekulárním látkám, na

kteře reagují. Nicméně n ještě jasn, jak a kde jsou v těchto látkách uloeny signály pro rozeznání vhodného hostitele (Haas 1994).

Tabulka 1: Fáze rozpoznání a invaze do hostitele a stimulační signály z hostitele (upraveno dle Haas 2003)

Druhy motolic	Přichycen	Trval kontakt	Nalezen vhodných míst pro penetraci	Penetrace
Druhy napadající savce				
<i>Schistosoma mansoni</i> ¹	turbulence vody L-arginin teplo	ceramidy teplo	L-arginin teplo	mastné kyseliny
<i>Schistosoma haematobium</i> ²	L-arginin teplo	adn stimuly	L-arginin teplo	mastné kyseliny
<i>Schistosoma spindale</i> ³	teplo	teplo	teplotn gradient	mastné kyseliny
<i>Schistosoma japonicum</i> ⁴	adn stimuly	adn stimuly	teplotn gradient	mastné kyseliny teplo
<i>Orientobilharzia turkestanica</i> ⁵	hydrofiln a lipofilní extrakty kue skotu teplo	hydrofiln a lipofilní extrakty kue skotu	?	mastné kyseliny
Druhy napadající ptáky				
<i>Trichobilharzia ocellata</i> ⁶	zastnn ceramidy cholesterol teplo	ceramidy cholesterol teplo	?	mastné kyseliny
<i>Austroilharzia terrigalensis</i> ⁷	kontakt	?	?	voln steroly
<i>Austroilharzia variglandis</i> ⁸	?	?	?	cholesterol mastné kyseliny triacylglyceroly
Druhy napadající ryby				
<i>Diplostomum spathaceum</i> ⁹	turbulence vody CO ₂ +H ₂ CO ₃	sacharidy	?	glykoproteiny s kyselinou sialovou mastné kyseliny
<i>Acanthostomum brauni</i> ¹⁰	zastnn glykoproteiny s kyselinou sialovou	?	?	kombinace proteinu a mastných kyselin
<i>Opisthorchis viverrini</i> ¹¹	turbulence vody glykosaminoglykany	?	?	proteiny

Reference: ¹Austin a kol. 1972, cit. dle Haas 1992; Shiff a kol. 1972; Haas 1976; Haas a Schmitt 1982a,b; Granzer a Haas 1986; Haas a kol. 1994, 1997, 2002a; 2008; ²Haas a kol. 1994; ³Haas a kol. 1990a; ⁴Haas a kol. 1987; ⁵Shakarbaev a kol. 2001; ⁶Feiler a Haas 1988a,b; Haas a van de Roemer 1998; ⁷Clegg 1969, cit. dle Haas 1992; ⁸Zibulewsky a kol. 1982; ⁹Haas 1974a,b; 1975; Haas a kol. 2002b; ¹⁰Haas a Ostrowski de Nues 1988; Ostrowski de Nues a Haas 1991; ¹¹ Haas a kol. 1990b

5. Orientace v hostiteli

Na rozdíl od mnoha poznatků o orientaci motolic ve vnějším prostředí, migračních cestách uvnitř hostitele a místech definitivní lokalizace, o orientaci v těle je známo jen minimum. Je to díky problematickému sledování chování motolic *in vivo*, protože jakýkoliv zásah do těla hostitele může změnit vnitřní prostředí, a tím i reakce motolic.

Při sledování orientace v hostiteli se zjistilo, že zkoumané druhy motolic reagovaly na odlišné signály z těla hostitele, a pokud reagovaly na stejné látky, lišily se v reakci na různé koncentrace těchto látek. Při navigaci v těle se tedy vyskytuje podobná diverzita strategií, jako při vyhledávání hostitele.

5.1 Orientace v měkkýši

O orientaci v měkkýši není doposud nic známo. Zkoumány byly především migrační cesty, mezidruhovná kompetice a vliv na mezihostitele.

Miracidia nejčastěji penetrují do nohy měkkýše, kde se posléze mění na sporocysty. Jednou z výjimek je druh *S. japonicum*, u kterého více než 57% miracidíí využívá pro průnik do měkkýše přirozené otvory, jako jsou ústní otvor, rektum a žaberní dutina (Xia a Jourdan 1991). Sporocysty buď zůstávají v noze měkkýše, nebo stejně jako redie, které mají na rozdíl od sporocyst vytvořený ústní otvor a střevo, migrují do nutričně bohatších míst, především do gonád a hepatopankreatu. Zdá se, že redie při migraci využívají především vývody a přirozené tělní cesty (Cheng a Cooperman 1964), jako například redie druhu *P. gralli*, které putují do srdce přes krevní systém plže (Alicata 1962).

5.2 Orientace v druhém mezihostiteli

Signály pro orientaci v druhém mezihostiteli, konkrétně v rybě, byly zkoumány na druhu *Diplostomum spathaceum* z čeledi Diplostomatidae. Cercárie tohoto parazita penetrují kůži mezihostitele, mění se na diplostomuly a poté migrují tělem ryby až do hlavy a oční čočky. Zde čekají (jako metacercárie), až rybu uloví vodní pták, který je jejich definitivním hostitelem.

Otázka, zda diplostomuly migrují z kůže do oka přes tkáň nebo krevním řečištěm, není ještě úplně vyřešená, ale zdá se, že hlavní migrační cesta je přes žíly, které mohou larvy občas

opustit a migrovat pojivovou nebo svalovou tkání (Davis 1936; Betterton 1974; White a kol. 1991, cit. dle Haas a kol. 2007).

Přežití diplostomul v prvních chvílích po penetraci do druhého meziphostitele plně závisí na tom, zda najdou cestu do hlubších částí kůže a neperforují pokožku zpět do vnějšího prostředí. Grabe a Haas (2004b) dokázali, že cercárie *D. spathaceum* vykazují negativní fotoorientaci po penetraci do upraveného agaru a transformaci na diplostomuly.

Když bylo cercáriím umožněno penetrovat do ocasní ploutve ryby druhu *Poecilia reticulata* (paví oko), pronikaly do žil v ocase a již po 1200 μm uražené vzdálenosti většina migrovala kraniálním směrem. Poté, co larvy urazily větší vzdálenost, migrovaly kraniálním směrem všechny. Schopnost parazita orientovat se v kraniálním směru byla nezávislá na toku krve, protože diplostomuly takto migrovaly i v žilách, ve kterých byl zablokovaný průtok krve. Tato schopnost byla také nezávislá na živých buňkách, jelikož se vyskytovala, i když byla těla usmrcených ryb ošetřena tekutým dusíkem. Signály pro migraci v kraniálním směru také nepocházely z tělní části ryby, protože se larvy orientovaly směrem k hlavě i v oddělené ocasní ploutvi, v oddělené části ploutve a také, když byly části ploutve připojeny k tělu opačně. Nicméně v ocasní ploutvi dekapitované ryby migrovaly diplostomuly pomaleji a vykazovaly více změn směru migrace, než v rybě, která nebyla dekapitovaná.

Po penetraci do ploutve živé nebo dekapitované ryby ji opustilo jen minimum diplostomul a většina z těchto migrovala před tím v kaudálním směru. Naproti tomu u ryb ošetřených tekutým dusíkem (buňky již nebyly živé) opustila ploutev většina larev. Signály, které vedou diplostomuly směrem do hlubších vrstev kůže se tedy vyskytovaly, i když jen velice málo, i v neživé tkáni (Haas a kol. 2007).

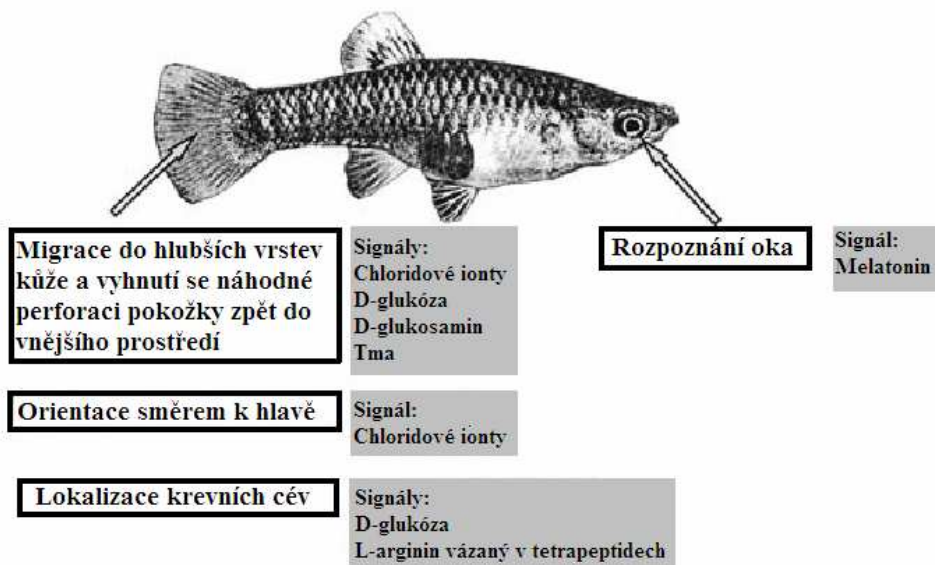
Při výzkumu chemoatrakce v takzvaných W-komůrkách se zjistilo, že pro diplostomuly *D. spathaceum* jsou atraktivní neidentifikované nízkomolekulární frakce rybího séra, D-glukóza (nejvíce v koncentraci 1, 10 a 1000 μM), D-manóza, D-maltotrióza a chloridové ionty. D-glukosamin měl na larvy repelentní účinky. Aminokyseliny nebyly pro diplostomuly atraktivní, nicméně L-arginin vázaný v tetrapeptidech, především pokud byl na terminální pozici, byl atraktivní už od koncentrace menší než 1 μM . Melatonin byl vysoce atraktivní, ale pouze v úzkém rozmezí koncentrací mezi 0,4 a 4,3 μM (Haas a kol. 2007).

Koncentrace melatoninu je v retině vyšší než v okolních tkáních, může to tedy být dobrý navigační prvek pro migraci do oka. Retinu ale larvy opouštějí a migrují dále do oční čočky. Stimulantem v této fázi migrace by mohlo být světlo. Nebylo ale prokázáno, že by v přítomnosti melatoninu (v koncentracích 1 a 100 ng/ml) došlo u larev *D. spathaceum* k přeměně negativní fotoorientace na pozitivní (Haas a kol. 2007).

Zjištěné odpovědi na signály z rybího mezihostitele mohou mít funkci ve čtyřech behaviorálních fázích během migrace v těle (Obr. 2):

- 1) migrace do hlubších vrstev kůže a vyhnutí se náhodné perforaci pokožky zpět do vnějšího prostředí – předpokládanými signály jsou chloridové ionty, D-glukóza, D-glukosamin a tma
- 2) orientace směrem k hlavě ryby – předpokládaným signálem jsou chloridové ionty
- 3) lokalizace krevních cév – předpokládanými signály jsou D-glukóza a L-arginin vázaný v tetrapeptidech
- 4) rozpoznání oka – předpokládaným signálem je melatonin

Obr. 2: Model některých fází chování při migraci *D. spathaceum* rybím mezihostitelem a předpokládané signály užívané pro navigaci (upraveno dle Haas a kol. 2007)



O gradientu chloridových iontů a glukózy v těle ryb není nic známo, může však vzniknout díky přítoku vody do okrajových částí kůže. D-glukosamin má odpuzující účinek jen na larvy *D. spathaceum*. Při testech s druhy *S. mansoni* a *T. ocellata* na larvy odpuzující účinek neměl (Grabe a Haas 2004a). D-glukosamin je jedna z hlavních sloučenin extracelulární matrix a je tedy možné, že negativní chemotaxe vyvolaná jeho přítomností umožňuje diplostomulám vyhnout se migraci chrupavkami a bazálními laminami epitelů. Larvy *D. spathaceum* reagují kromě D-glukózy i na jiné sacharidy, D-manózu a D-maltotriózu, ale nereagují na L-arginin. V tom se liší od schistosomul *S. mansoni* a *T.*

ocellata. D-glukóza je pro larvy *D. spathaceum* atraktivní v koncentracích, které jsou podobné koncentraci v krevní plasmě ryb, může to tedy být dobrý navigační prvek, který pomáhá larvám lokalizovat po penetraci do hostitele krevní cesty. Koncentrace melatoninu, na který diplostomuly reagovaly, odpovídá koncentraci melatoninu v oku ryby, která je vyšší než v plasmě, a může tedy diplostomuly navigovat do oka.

5.3 Orientace v definitivním hostiteli

Orientace v definitivním hostiteli byla zkoumána především na cercáriích motolic z čeledi Schistosomatidae. Poté, co cercárie schistosomních motolic penetrují stratum corneum definitivního hostitele, migrují nejdříve v epidermis paralelně s povrchem, následně penetrují stratum basale a vyhledají krevní cesty a vstoupí do nich (Wilson 1987, cit. dle Grabe a Haas 2004a). Nedospělé stadium uvnitř hostitele se u těchto motolic nazývá schistosomula.

V první fázi po penetraci je pro schistosomuly životně důležité, aby nedošlo ke zpětné penetraci do vnějšího prostředí, tedy aby našly směr do hlubších vrstev epidermis. V této fázi se orientují mimo jiné podle světla, stejně jako diplostomuly *D. spathaceum* ve druhém mezihostiteli. Toto chování bylo prokázáno u druhů *S. mansoni* (napadající člověka) a *T. ocellata* (napadající ptáky). Cercárie všech tří druhů se po penetraci do agaru a transformaci ve schistosomuly orientují směrem od světla, zatímco volně plovoucí cercárie vykazovaly pozitivní fotoorientaci (Grabe a Haas 2004b).

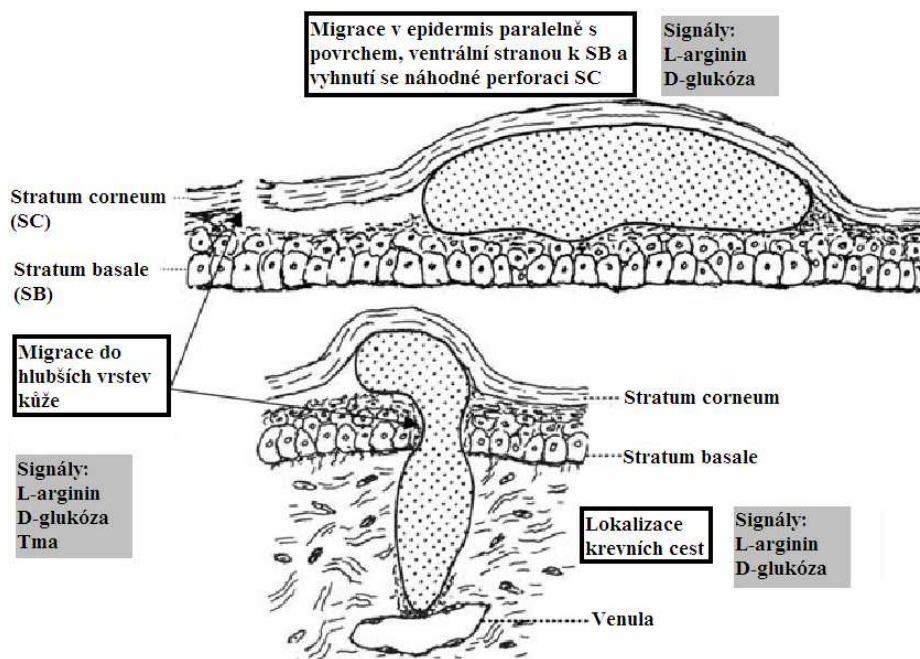
Chemoorientace v těle hostitele byla studována na schistosomulách druhů *S. mansoni* a *T. ocellata*. Pomocí pokusů v takzvaných W-komůrkách se zjistilo, že schistosomuly obou druhů jsou atrahovány lidským resp. ptačím sérem, konkrétně D-glukózou a L-argininem, které jsou v něm přítomny. Schistosomuly nejlépe odpovídaly na velmi nízké koncentrace D-glukózy (1 μM u *T. ocellata* a kolem 10 a 100 μM u *S. mansoni*) a L-argininu (kolem 0,02 a 0,25 μM u *T. ocellata*, *S. mansoni* byla atrahována širokým spektrem koncentrací především kolem 1, 10 a 1000 μM). Další atraktivní látkou v séru byl L-ornithin. Zajímavé je, že *T. ocellata* odpovídala nejlépe na takové koncentrace látek, které byly mnohem nižší než obvyklé koncentrace v ptačím séru, například u D-glukózy až desetkrát. Jiné sacharidy než D-glukóza neměly žádnou stimulační aktivitu. L-arginin byl pro schistosomuly vysoce atraktivní také když byl vázaný v tetrapeptidech. Oba druhy se však lišily v citlivosti na pozici L-argininu v těchto peptidech. *S. mansoni* odpovídala lépe na subterminálně, zatímco *T. ocellata* na terminálně vázaný L-arginin. Mezi náhodně vybranými složkami kůže a endotelií byly

atraktivní fibronektin a bradykinin, ale pouze pro schistosomuly *S. mansoni*. Fibronektin v koncentraci 1 μM , bradykinin nejvíce v koncentraci 33 μM a pěti-aminokyselinový fragment bradykininu nejvíce v koncentraci 100 μM . Schistosomuly obou druhů se natáčely svou ventrální stranou směrem k chemickému gradientu atraktantu, což jim při migraci v epidermis může pomoci zabránit penetraci pokožky zpět do vnějšího prostředí (Grabe a Haas 2004a).

Schistosomuly migrují tělem hostitele pomocí komplexu vzorců chování, při kterých reagují na různé signály z hostitele, stejně jako při vyhledávání hostitele. Popsaná chemo- a fotoorientace a natáčení tělní osy může mít význam ve třech fázích chování při migraci schistosomul kůží (Obr. 3):

- 1) migrace do hlubších vrstev kůže a vyhnutí se náhodné perforaci pokožky zpět do vnějšího prostředí – předpokládanými signály jsou tma, L-arginin a D-glukóza
- 2) migrace v epidermis paralelně s povrchem – předpokládanými signály jsou L-arginin a D-glukóza
- 3) lokalizace krevních cest – předpokládanými signály jsou L-arginin a D-glukóza

Obr. 3: Fáze migrace schistosomul v kůži a možné signály z těla hostitele (upraveno dle Grabe a Haas 2004a)



Koncentrační gradient byl dokázán u D-glukózy i L-argininu, mohly by proto při orientaci v těle hostitele sloužit jako dobré signály. Koncentrace D-glukózy se u člověka zvyšuje od povrchu kůže (0,6-1,7 mM) směrem k epidermis (2,2-5,0 mM) a krvi (4,4-6,0 mM) (Cunningham a Young 2003). V epidermis také existuje vzrůstající koncentrační gradient reziduí argininu směrem od stratum corneum ke stratum basale (Senshu a kol. 1995, 1996). Koncentrace L-argininu se zvyšuje od povrchu kůže (13 μ M, Haas a kol. 2002a), až ke krvi (40-140 μ M) a endoteliálním buňkám (100-1000 μ M, Harrison 1997).

Podle chemických gradientů se mohou larvy motolic uvnitř těla hostitele orientovat jen na krátké vzdálenosti. Proto je důležité pokračovat ve výzkumech, aby se zjistilo, jaké mechanismy umožňují parazitům vyhledat místa své definitivní lokalizace na velké vzdálenosti.

6. Závěr

Tato bakalářská práce shrnuje dosavadní poznatky o orientaci motolic ve vnějším prostředí a v hostiteli. Tomuto zajímavému tématu se věnuje mnoho autorů již od počátku minulého století. Nicméně mnoho otázek zůstává stále neobjasněno, především co se týče orientace uvnitř hostitele.

Motolice jsou významnými patogeny člověka i hospodářských zvířat. Například na schistosomózy zemře ročně na celém světě až 11 tisíc lidí a podle některých údajů je až 800 miliónů lidí touto nemocí ohroženo (Volf, Horák a kol. 2007). Znalost chemoorientace motolic by tedy mohla být přínosná při vyvíjení specifických metod pro přerušení životních cyklů motolic, jako jsou „pasti“ na miracidia a cercárie či blokování nebo saturace jejich chemoreceptorů.

Chemickými látkami atrahujícími miracidia jsou s největší pravděpodobností makromolekulární glykokonjugáty, jejichž chemická struktura je velmi podobná u různých druhů motolic. Nicméně chemické složení sacharidové části, ve které je uložen signál sloužící k rozpoznání kompatibilního měkkýše, doposud nebylo možné analyzovat. Více nadějí je proto vkládáno do výzkumu cercárií. Penetraci do hostitele stimulují u mnoha druhů motolic mastné kyseliny. Shiff a kol. (1993) vyvinuli metodu, jak zachytit cercárie v jednoduchých pastích, což jsou podložní sklička potřená průhledným lakem na nehty smíchaným s kyselinou linoleovou jako stimulační látkou. Tato metoda se ale nedá použít ve velkém. Mastné kyseliny také vyvolávají transformaci tegumentu cercárií, které se tak ve vnějším prostředí stávají osmoticky zranitelné, protože se zvýší propustnost jejich tegumentu pro vodu. Toto by tedy mohla být další metoda jak přerušit životní cyklus motolic. Za vhodnou látku, která by mohla v budoucnu zabránit nákazám člověka schistosomózami, je považována kyselina 2-tetradecenová (TDA). Šedesátiminutová inkubace v této kyselině o koncentraci 0,7 µg/ml stoprocentně eliminuje infektivitu cercárií *S. mansoni* vůči myši (Haas 1984). Bohužel působením UV-záření v kombinaci s bakteriemi vznikají z této kyseliny toxické látky, je tedy nutné dále hledat a studovat analogy této a jiných mastných kyselin (Haas 2003).

Svojí budoucí práci bych ráda navázala na dosavadní poznatky o orientaci motolic v hostiteli. Schistosomuly *Trichobilharzia regenti* migrují do místa své definitivní lokalizace (cévy a tkáň nosní dutiny vodních ptáků) přes nervovou soustavu, což je u motolic velmi neobvyklé. Doposud nebylo zkoumáno, na jaké signály při navigaci v těle reagují a jakým způsobem. Proto bych se chtěla této zajímavé problematice věnovat ve své diplomové práci.

7. Použitá literatura

Alicata J. E. (1962): Life Cycle and Developmental Stages of *Philophthalmus gralli* in the Intermediate and Final Hosts. *The Journal of Parasitology* 48: 47-54.

Austin F. G., Stirewalt M. A., Danzinger R. E. (1972): *Schistosoma mansoni*: stimulatory effect of rat skin lipid fractions on cercarial penetration behavior. *Experimental Parasitology* 31: 217-224.

Behrens, A.C., Nollen, P.M. (1992): Responses of *Echinostoma caproni* miracidia to gravity, light, and chemicals. *International Journal for Parasitology* 22: 673–675

Betterton C. (1974): Studies on the host specificity of the eye fluke, *Diplostomum spathaceum*, in brown and rainbow trout. *Parasitology* 69: 11-29.

Bogéa T. (2004): Functional and phylogenetic components in cercarial nervous systems. *Folia Parasitologica (Praha)* 51:311-319.

Brachs S., Haas W. (2008): Swimming behaviour of *Schistosoma mansoni* cercariae: responses to irradiance changes and skin attractants. *Parasitology Research* 102: 685-690.

Campbell W. C., Todd A. C. (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.

Clegg J. A. (1969): Skin penetration by cercariae of the bird schistosome *Austrobilharzia terrigalensis*: the stimulatory effect of cholesterol. *Parasitology* 59: 973-989.

Combes C., Fournier A., Moné H., Théron A. (1994): Behaviours in trematode cercariae that enhance parasite transmission: patterns and processes. *Parasitology* 109: 3-13.

Cunningham D. D., Young D. F. (2003): Measurements of glucose on the skin surface, in stratum corneum and in transcutaneous extracts: Implications for physiological sampling. *Clinical Chemistry and Laboratory Medicine* 41: 1224-1228.

Czubaj A., Niewiadomska K. (1996): Ultrastructure of sensory endings in *Diplostomum pseudospathaceum* Niewiadomska, 1984 cercariae (Digenea: Diplostomidae). *International Journal for Parasitology* 26: 1217-1225.

Davis D. J. (1936): Pathological Studies on the Penetration of the Cercaria of the Strigeid Trematode, *Diplostomum flexicaudum*. *The Journal of Parasitology* 22: 329-337.

Doehring E., Feldmeier H., Daffalla A. A. (1983): Day-to-day variation and circadian rhythm of egg excretion in urinary schistosomiasis in the Sudan. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 77: 587-594.

Evans N. A., Gordon D. M. (1983): Experimental studies on the transmission dynamics of the cercariae of *Echinoparyphium recurvatum* (Digenea: Echinostomatidae). *Parasitology* 87: 167-174.

Feiler W., Haas W. (1988a): Host-finding in *Trichobilharzia ocellata* cercariae: swimming and attachment to the host. *Parasitology* 96: 493-505.

Feiler W., Haas W. (1988b): *Trichobilharzia ocellata*: chemical stimuli of duck skin for cercarial attachment. *Parasitology* 96: 507-517.

Grabe K., Haas W. (2004a): Navigation within host tissues: *Schistosoma mansoni* and *Trichobilharzia ocellata* schistosomula respond to chemical gradients. *International Journal for Parasitology* 34: 927-934.

Grabe K., Haas W. (2004b): Navigation within host tissues: cercariae orientate towards dark after penetration. *Parasitology Research* 93: 111-113.

Granzer M., Haas W. (1986): The chemical stimuli of human skin surface for the attachment response of *Schistosoma mansoni* cercariae. *International Journal for Parasitology* 16: 575-579.

Gumble A., Otori Y., Ritchie L. S., Hunter G. W. (1957): The Effect of Light, Temperature and pH on the Emergence of *Schistosoma japonicum* Cercariae from *Oncomelania nosophora*. Transactions of the American Microscopical Society 76: 87-92.

Gustafsson M. K. S. (1988): Helminth nervous system. In: Parasitology in focus: facts and trends. Edited by H. Mehlhorn. Springer Verlag, Berlin. pp. 295-310.

Haas W. (1969): Reizphysiologische Untersuchungen an Cercariaen von *Diplostomum spathaceum*. Zeitschrift für vergleichende Physiologie 64: 254-287.

Haas W. (1974a): Analyse der Invasionmechanismen der Cercariae von *Diplostomum spathaceum*. I. Fixation und Penetration. International Journal for Parasitology 4: 311-319.

Haas W. (1974b): Analyse der Invasionmechanismen der Cercariae von *Diplostomum spathaceum*. II. Chemische Invasionsstimuli. International Journal for Parasitology 4: 321-330.

Haas W. (1975): Einfluss von CO₂ und pH auf das Fixationsverhalten der Cercariae von *Diplostomum spathaceum* (Trematoda). Zeitschrift für Parasitenkunde 46: 53-60.

Haas W. (1976): Die Anheftung (Fixation) der Cercariae von *Schistosoma mansoni*. Einfluss natürlicher Substrate und der Temperatur. Zeitschrift für Parasitenkunde 49: 63-72.

Haas W. (1984): *Schistosoma mansoni*: Cercaricidal Effect of 2-Tetradecenoic Acid, a Penetration Stimulant. Experimental Parasitology 58: 215-222.

Haas W. (1992): Physiological analysis of cercarial behavior. Journal of Parasitology 78: 243-255.

Haas W. (1994): Physiological analyses of host-finding behaviour in trematode cercariae: adaptations for transmission success. Parasitology 109: 15-29.

Haas W. (2003): Parasitic worms: strategies of host finding, recognition and invasion. Zoology 106: 349-364.

Haas W., Diekhoff D., Koch K., Schmalfluss G., Loy C. (1997): *Schistosoma mansoni* cercariae: Stimulation of acetabular gland secretion is adapted to the chemical composition of mammalian skin. *The Journal of Parasitology* 83: 1079-1085.

Haas W., Grabe K., Geis C., Päch T., Stoll K., Fuchs M., Haberl B., Loy C. (2002a): Recognition and invasion of human skin by *Schistosoma mansoni* cercariae: the key-role of L-arginine. *Parasitology* 124: 153-167.

Haas W., Granzer M., Brockelman C. (1990a): Finding and recognition of the bovine host by the cercariae of *Schistosoma spindale*. *Parasitology Research* 76: 343-350.

Haas W., Granzer M., Brockelman C. (1990b): *Opisthorchis viverrini*: finding and recognition of the fish host by the cercariae. *Experimental Parasitology* 71: 422-431.

Haas W., Granzer M., Garcia E. G. (1987): Host identification by *Schistosoma japonicum* cercariae. *The Journal of Parasitology* 73: 568-577.

Haas W., Gui M., Haberl B., Ströbel M. (1991): Miracidia of *Schistosoma japonicum*: approach and attachment to the snail host. *The Journal of Parasitology* 77: 509-513.

Haas W., Haberl B. (1997):. Edited by B. Fried, T. K. Graczyk. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, pp. 197-227.

Haas W., Haberl B., Kalbe M., Körner M. (1995a): Snail-host finding by miracidia and cercariae: chemical host cues. *Parasitology Today* 11: 468-472.

Haas W., Haberl B., Schmalfluss G., Khayyal M. T. (1994): *Schistosoma haematobium* cercarial host-finding and host-recognition differs from that of *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology* 80: 345-353.

Haas W., Haeberlein S., Behring S., Zoppelli E. (2008): *Schistosoma mansoni*: Human skin ceramides are a chemical cue for host recognition of cercariae. *Experimental Parasitology* 120: 94-97.

Haas W., Körner M., Hutterer E., Wegner M., Haberl B. (1995b): Finding and recognition of the snail intermediate hosts by 3 species of echinostome cercariae. *Parasitology* 110: 133-142.

Haas W., Ostrowski de Nuñez M. (1988): Chemical signals of fish skin for the attachment response of *Acanthostomum brauni* cercariae. *Parasitology Research* 74: 552-557.

Haas W., Schmitt R. (1982a): Characterization of chemical stimuli for the penetration of *Schistosoma mansoni* cercariae. I. Effective substances, host specificity. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 66: 293-307.

Haas W., Schmitt R. (1982b): Characterization of chemical stimuli for the penetration of *Schistosoma mansoni* cercariae. II. Conditions and mode of action. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 66: 309-319.

Haas W., Stiegeler P., Keating A., Kullmann B., Rabenau H., Schönamsgruber E., Haberl B. (2002b): *Diplostomum spathaceum* cercariae respond to a unique profile of cues during recognition of their fish host. *International Journal for Parasitology* 32: 1145-1154.

Haas W., van de Roemer A. (1998): Invasion of the vertebrate skin by cercariae of *Trichobilharzia ocellata*: penetration processes and stimulating host signals. *Parasitology Research* 84: 787-795.

Haas W., Wulff C., Grabe K., Meyer V., Haeberlein S. (2007): Navigation within host tissues: cues for orientation of *Diplostomum spathaceum* (Trematoda) in fish towards veins, head and eye. *Parasitology* 134: 1013-1023.

Haberl B., Haas W. (1992): Miracidium of *Schistosoma mansoni*: a macromolecular glycoconjugate as signal for the behaviour after contact with the snail host. *Comparative Biochemistry and Physiology* 101: 329-333.

Haberl B., Kalbe M., Fuchs H., Ströbel M., Schmalfuss G., Haas W. (1995): *Schistosoma mansoni* and *S. haematobium*: miracidial host-finding behavior is stimulated by macromolecules. *International Journal for Parasitology* 25: 551-560.

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: 479-486.

Haerberlein S., Haas W. (2008): Chemical attractants of human skin for swimming *Schistosoma mansoni* cercariae. *Parasitology Research* 102: 657-662.

Halton D. W., Maule A. G., Shaw C. (1997): Trematode neurobiology. In: *Advances in trematode biology*. Edited by B. Fried, T.K. Graczyk. CRC Press Inc., Boca Raton, Florida, pp. 345-382.

Harrison D. G. (1997): Perspective series: nitric oxide and nitric oxide synthase: cellular and molecular mechanisms of endothelial cell dysfunction. *The Journal of Clinical Investigation* 100: 2153-2157.

Hertel J., Holweg A., Haberl B., Kalbe M., Haas W. (2006): Snail odour-clouds: Spreading and contribution to the transmission success of *Trichobilharzia ocellata* (Trematoda, Digenea) miracidia. *Oecologia* 147: 173-180.

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

Chapman H. D. (1974): The behaviour of the cercaria of *Cryptocotyle lingua*. *Parasitology Research* 44: 211-226.

Cheng T. C., Cooperman J. S. (1964): Studies on Host-Parasite Relationships between Larval Trematodes and Their Hosts. V. The Invasion of the Reproductive System of *Helisoma trivolvis* by the Sporocysts and Cercariae of *Glythelmins pennsylvaniensis*. *Transactions of the American Microscopical Society* 83: 12-23.

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: 806-812.

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: 231-242.

Kassim O., Gilbertson D. E. (1976): Hatching of *Schistosoma mansoni* eggs and observations on motility of miracidia. *The Journal of Parasitology* 62: 715-720.

Kearn G. C. (1998): Parasitism and the platyhelminths. Chapman and Hall, London.

Keshavarz-Valian H., Nollen P. M. (1980): Responses of *Philophthalmus gralli* miracidia to gravity and light. *The Journal of Parasitology* 66: 684–686.

Körner M., Haas W. (1998a): Chemo-orientation of echinostome cercariae towards their snail hosts: amino acids signal a low host-specificity. *International Journal for Parasitology* 28: 511-516.

Körner M., Haas W. (1998b): Chemo-orientation of echinostome cercariae towards their snail hosts: the stimulating structure of amino acids and other attractants. *International Journal for Parasitology* 28: 517-525.

Kuntz R. E. (1947): Effect of Light and Temperature on Emergence of *Schistosoma mansoni* Cercariae. *Transactions of the American Microscopical Society* 66: 37-49.

Loy C., Motzel W., Haas W. (2001): Photo- and geo-orientation by echinostome cercariae results in habitat selection. *The Journal of Parasitology* 87: 505-509.

MacInnis A. J. (1965): Responses of *Schistosoma mansoni* miracidia to chemical attractants. *The Journal of Parasitology* 51: 731-746.

- Mason P. R., Fripp P. J. (1976): Analysis of the movements of *Schistosoma mansoni* miracidia using dark-ground photography. *The Journal of Parasitology* 62: 721-727.
- McMahon J. E. (1976): Circadian rhythm in *Schistosoma haematobium* egg excretion. *International Journal for Parasitology* 6: 373-377.
- Moravec F. (2002): External morphological differences between *Crepidostomum farionis* and *Crepidostomum metoecus* (Trematoda: Allocreadiidae), parasites of salmonids, as revealed by SEM. *Folia Parasitologica (Praha)* 49: 211-217.
- Nollen P. M. (1994): The hatching behavior of *Echinostoma trivolvis* miracidia and their responses to gravity, light and chemicals. *International Journal for Parasitology* 24: 637-42.
- Olivier L. (1951): The Influence of Light on the Emergence of *Schistosomatium douthitti* Cercariae from Their Snail Host. *The Journal of Parasitology* 37: 201-204.
- Ostrowski de Nuñez M., Haas W. (1991): Penetration of stimuli of fish skin for *Acanthostomum brauni* cercariae. *Parasitology* 102: 101-104.
- Prechel D. P., Nollen P. M. (1979): The effect of miracidial aging and dilution of snail-conditioned water on response of miracidia of *Megalodiscus temperatus*. *The Journal of Parasitology* 65: 446-450.
- Raymond K., Probert A. S. (1991): The daily cercarial emission rhythm of *Schistosoma margrebowiei* with particular reference to dark period stimuli. *Journal of Helminthology* 65:159-168.
- Rea J. G., Irwin S. W. (1992a): The effects of age, temperature, light quantity and wavelength on the swimming behaviour of the cercariae of *Cryptocotyle lingua* (Digenea: Heterophyidae). *Parasitology* 105: 131-137.
- Richard J. (1971): La chétotaxie des cercaires. Valeur systématique et phylétique. *Mémoires du Muséum National d'Histoire Naturelle. Nouvelle série. Série A, Zoologie* 67: 1-179.

Saladin K. H. (1982): *Schistosoma mansoni*: Cercarial Responses to Irradiance Changes. The Journal of Parasitology 68: 120-124.

Scott J. A., Stimmel C. M. (1956): The regularity of egg output of *Schistosoma haematobium*. Texas Reports on Biology and Medicine 14: 440-458.

Senshu T., Akiyama K., Kan S., Asaga H., Ishigami A., Manabe M. (1995): Detection of deiminated proteins in rat skin: probing with a monospecific antibody after modification of citrulline residues. The Journal of Investigative Dermatology 105:163-169.

Senshu T., Kan S., Ogawa H., Manabe M., Asaga H. (1996): Preferential deimination of keratin K1 and filaggrin during the terminal differentiation of human epidermis. Biochemical and Biophysical Research Communications 225:712-719.

Shakarbaev E., Haberl B., Loy C., Haas W. (2001): Recognition of cattle skin by cercariae of *Orientobilharzia turkestanica*. Parasitology Research 87: 705-707.

Shiff C. J. (1969): Influence of light and depth on location of *Bulinus (Physopsis) globosus* by miracidia of *Schistosoma haematobium*. The Journal of parasitology 55: 108-110.

Shiff C. J. (1974): Seasonal factors influencing the location of *Bulinus (Physopsis) globosus* by miracidia of *Schistosoma haematobium*. The Journal of parasitology 60: 578-583.

Shiff C. J., Cmelik H. W., Ley H. E., Kriel R. L. (1972): The Influence of Human Skin Lipids on the Cercarial Penetration Responses of *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni*. The Journal of Parasitology 58: 476-480.

Shiff C. J., Chandiwana S. K., Graczyk T., Chibatamoto P., Bradley M. (1993): A Trap for the Detection of Schistosome Cercariae. The Journal of Parasitology 79: 149-154.

Schauer R., Kelm S., Reuter G., Roggentin P., Shaw L. (1995): Biochemistry and role of sialic acids. In: Biology of the Sialic Acids. Edited by A. Rosenberg. Plenum Press, New York, pp. 7-67.

Schmidt K. A., Fried B. (1996): Emergence of Cercariae of *Echinostoma trivolvis* from *Helisoma trivolvis* under Different Conditions. *The Journal of Parasitology* 82: 674-676.

Smyth J. D., Halton D. W. (1983) *The physiology of trematodes*. Cambridge university Press, Cambridge, UK.

Stabrowski A., Nollen, P. M. (1985): The responses of *Philophthalmus gralli* and *P. megalurus* miracidia to light, gravity and magnetic fields. *International Journal for Parasitology* 15: 551–555.

Sukhdeo M. V. K. a Sukhdeo S. C. (2004): Trematode behaviours and the perceptual worlds of parasites. *Canadian journal of zoology* 82: 292-315.

Takahashi T., Mori K., Shigeta Y. (1961): Phototactic, thermotactic and geotactic responses of miracidia of *Schistosoma japonicum*. *Japanese Journal of Parasitology* 10: 686-691.

Théron A. (1984): Early and Late Shedding Patterns of *Schistosoma mansoni* Cercariae: Ecological Significance in Transmission to Human and Murine Hosts. *The Journal of Parasitology* 70: 652-655.

Théron A., Mouahid G., Moné H. (1977): *Schistosoma mansoni*: cercarial shedding patterns from a mixed infection of *Biomphalaria glabrata* with two (early and late) chronobiological variants. *Parasitology research* 83: 356-358.

Toledo R., Muñoz-Antoli C., Esteban J. G. (1999): Production and Chronobiology of Emergence of the Cercariae of *Euparyphium albuferensis* (Trematoda: Echinostomatidae). *The Journal of Parasitology* 85: 263-267.

Upatham E. S. (1972a): Effect of water depth on the infection of *Biomphalaria glabrata* by miracidia of St. Lucian *Schistosoma mansoni* under laboratory and field conditions. *Journal of Helminthology* 46: 317-325.

Upatham E. S. (1972b): Exposure of caged *Biomphalaria glabrata* (Say) to investigate dispersion of miracidia of *Schistosoma mansoni* Sambon in outdoor habitats in St. Lucia. *Journal of Helminthology* 46: 297-306.

Volf P., Horák P., Čepička I., Flegr J., Lukeš J., Mikeš L., Svobodová M., Vávra J., Votýpka J. (2007): *Paraziti a jejich biologie*. Triton, Praha.

Wagenbach G. E., Alldredge A. L. (1974): Effect of Light on the Emergence Pattern of *Plagiorchis micracanthos* Cercariae from *Stagnicola exilis*. *The Journal of Parasitology* 60: 782-785.

White S. K., Secombes C. J., Chappell L. H. (1991): Studies on the infectivity of *Diplostomum spathaceum* in rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Journal of Helminthology* 65: 169-178.

Wilson R. A. (1987): Cercariae to liver worms: development and migration in the mammalian host. In: *The Biology of Schistosomes. From Genes to Latrines*. Edited by D. Rollinson, A. J. G. Simpson. Academic Press, London, pp. 115-146.

Wilson R. A., Denison J. (1980): The parasitic castration and gigantism of *Lymnaea truncatula* infected with the larval stages of *Fasciola hepatica*. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 61: 109-119.

Wilson R. A., 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.

Xia M. Y., Jourdane J. (1991): Penetration and migration routes of *Schistosoma japonicum* miracidia in the snail *Oncomelania hupensis*. *Parasitology* 103: 77-83.

Zibulewsky J., Fried B., Bacha W. J. (1982): Skin Surface Lipids of the Domestic Chicken, and Neutral Lipid Standards as Stimuli for the Penetration Response of *Austrobilharzia variglandis* Cercariae. *The Journal of Parasitology* 68: 905-908.

Žďárská Z. (1992): Transmission electron microscopy of sensory receptors of *Echinostoma revolutum* (Froelich 1802) cercaria (Digenea: Echinostomatidae). *Parasitology Research* 78: 598-606.