

UNIVERZITA KARLOVA V PRAZE

**Přírodovědecká fakulta**

**Katedra parazitologie**

Studijní program Biologie

Studijní obor Biologie



Terezie Vojtová

**Orientace helmintů při hledání hostitele**  
Orientation of helminths during host seeking

BAKALÁŘSKÁ PRÁCE

Školitel: RNDr. Libor Mikeš Ph.D.

Praha 2014

**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 dne 9. 8. 2014

### **Poděkování**

Ráda bych poděkovala svému školiteli panu Mikešovi za jeho bezmeznou trpělivost a pomoc při tvorbě této práce, a dále pak svým rodičům a všem kamarádům, kteří mě podporovali a pomáhali mi neklesat jak na mysli, tak na duchu.

## Obsah

1. <b>Abstrakt</b> .....	5
2. <b>Úvod</b> .....	6
3. <b>Parazitické organismy</b> .....	7
3.1 Motolice.....	7
3.1.1 Životní cykly motolic.....	7
3.2 Monogenea.....	8
3.2.1 Životní cykly monogeneí.....	8
3.3 Nematoda.....	8
3.3.1 Životní cykly nematodů.....	9
3.4 Ostatní skupiny.....	9
4. <b>Typy pohybů</b> .....	10
4.1. Orientace v prostředí.....	10
4.2. Orientace vůči hostiteli.....	10
5. <b>Metodické přístupy při zkoumání orientace</b> .....	12
6. <b>Orientace motolic</b> .....	14
6.1 Orientace miracidíí.....	14
6.1.1 Typy orientace.....	14
6.1.1.1 Reakce na nechemické podněty.....	15
6.1.1.2 Reakce na chemické podněty.....	16
6.2 Orientace cercárií.....	18
6.2.1 Typy orientace.....	18
6.2.1.1 Reakce na nechemické podněty.....	19
6.2.1.2 Reakce na chemické podněty.....	21
7. <b>Orientace monogeneí</b> .....	24
7.1 Oviparní druhy.....	24
7.2 Viviparní druhy.....	25
8. <b>Orientace nematodů</b> .....	26
8.1 Typy orientace.....	26
8.1.1 Reakce na nechemické podněty.....	26
8.1.2 Reakce na chemické podněty.....	27
9. <b>Další organismy</b> .....	28
9.1 Ciliophora.....	28
9.2 Myxozoa.....	29
10. <b>Závěr</b> .....	31
11. <b>Použitá literatura</b> .....	32

## 1. Abstrakt

Parazitičtí helminti jsou ve vnějším prostředí nuceni často rychle vyhledat svého hostitele, aby tak mohli pokračovat ve svém ontogenetickém vývoji, případně tento vývoj dokončit. K vyhledání a identifikaci hostitele využívají různé typy receptorů, které jim umožňují vyvolat taxi odpovídající přicházejícímu podnětu a zachovat se tak podle dané situace. Z hlediska pojetí helmintů se tato práce dotýká motolic, jejichž volně se pohybující stádia jsou miracidium a cercárie, monogeneí, kteří jsou živorodí nebo vejcorodí s larvou oncomiracidium a hlístic, u kterých se volně pohybuje třetí larvální stádium. Pozornost je věnována také zástupcům skupiny Myxozoa a Ciliophora, neboť i tyto využívají při vyhledávání hostitelů podobné mechanismy jako helminti. Tato práce nabízí shrnutí dosavadních poznatků týkajících se orientace helmintů ve vnějším prostředí a na základě zjištěných údajů lze porovnat, jaké mechanismy pro nalezení hostitele jednotlivé druhy využívají a podle jakých signálů z vnějšího prostředí se nejčastěji orientují.

**Klíčová slova:** helmint, hlístice, motolice, miracidium, cercárie, oncomiracidium, fototaxe, rheotaxe, thigmotaxe, chemotaxe

## Abstract

The parasitic helminths are often forced in the environment to search for their host quickly in order to continue the ontogenetic development, or else to finish it. To search for and indentify the host, they use various types of receptors which allow them to provoke a taxes corresponding to the oncoming stimulus and to react regarding the current situation. In respect to the concept relevant to the helminths, this work concerns trematodes, whose freely movable stadia are miracidium and cercacia, and then monogeneans which are viviparous or oviparous with oncomiracidium larva, and nematodes during which the third larva stage moves. The representatives of the groups of Myxozoans and Ciliophorea are also mentioned, since they use similar mechanisms to look for hosts as helminths. This thesis includes the summary of the existing knowledge related to the orientation of helminths in the environment. On the basis of the data that is already known, it is possible to compare which mechanisms are used for host-seeking by particular species, and according to which signals from the surroundings they most often orientate themselves.

**Key words:** helminth, nematode, trematode, miracidium, cercaria, oncomiracidium, phototaxis, rheotaxis, thigmotaxis, chemotaxis

## 2. Úvod

Helminti neboli laicky červi jsou mnohobuněčné organismy, které žijí převážně parazitickým způsobem života, najdeme mezi nimi ale také například destruenty. Ti, kteří jsou parazitičtí, pak napadají meziphostitele či definitivní hostitele za účelem ontogenetického vývoje a pohlavního rozmnožování. Endoparaziti se do svých hostitelů dostávají pasivní cestou, například požitím vajíček či aktivní cestou, penetrací. Pro aktivní nalezení hostitele musí být schopni orientace ve vnějším prostředí, k čemuž využívají různě uzpůsobené receptory a pro samotný průnik do hostitele slouží například penetrační žlázy či jednoduché kutikulární zuby. Ektoparaziti vyhledávají své hostitele podobně, setrvávají však na povrchu.

Mezi helminty žijící tímto způsobem života patří ploštěnci (*Trematoda* a *Monogenea*) a hlístice (*Nematoda*). Mimo skupinu helmintů bylo aktivní vyhledávání hostitele prokázáno i u některých zástupců z kmene *Myxozoa* či *Ciliophora*, zmínění budou tedy i oni. Vzhledem k rozmanitým zástupcům se i hostitelé liší prakticky od bezobratlých po obratlovce.

Tato práce by měla vytvořit přehled o chování parazitů při hledání hostitele, o signálech, jaké z vnějšího prostředí přichází a o konkrétních atraktantech, které parazity přitahují. Pro přehlednost budou také shrnuty životní cykly těch druhů, kterých se práce týká.

### Cíle práce

1. Shrnout informace o podnětech, které umožňují orientaci helmintů
2. Sumarizovat konkrétní signály, které v rámci orientace vnímají vybrané druhy
3. Stručně popsat pohyby, které jsou při orientaci vyvíjené
4. Vytvořit přehled helmintů a jejich životních cyklů

### 3. Parazitické organismy

V této kapitole budou zmíněny všechny organismy, kterých se orientace při hledání hostitele týká, a shrnuty budou také jejich životní cykly.

#### 3.1. Motolice

Motolice neboli *Trematoda* patří do kmene ploštěnců (*Platyhelminthes*), velká část světového výzkumu je věnována široké podtřídě *Digenea*. Životní cyklus motolic zahrnuje zpravidla dva či více hostitelů, kteří jsou infikováni larválními stádii, miracidiiem a cercárií. Miracidium vždy napadá plže, zatímco hostitelé cercárií jsou různí a záleží na konkrétním druhu motolice.

##### 3.1.1. Životní cykly motolic

Každý nový cyklus začíná uvolněním vajíčka do vnějšího prostředí. U některých druhů uvolněné vajíčko obsahuje již plně vyvinuté první larvální stádium miracidium (čeleď *Schistosomatidae*), u jiných druhů se po odchodu vajíčka z těla hostitele musí miracidium nejprve zformovat (čeleď *Fasciolidae*). Miracidium poté opouští obal vajíčka otvorem zvaným operculum a aktivně vyhledává hostitele, kterým je vždy plž. Například pro čeleď *Schistosomatidae* jsou to plži z čeledi okružákovití, *Planorbidae*, u čeledi *Fasciolidae* se mezihostiteli stávají plži z čeledi plovatkovití, *Lymnaeidae*. Jelikož miracidium po dobu ve vnějším prostředí nepřijímá žádnou potravu, musí využívat energetické zásoby, které nejsou neomezené a má tedy na nalezení hostitele jen určitou dobu. V plži dochází k dalšímu ontogenetickému vývoji do stádia sporocysty, ve které dále vznikají (u čeledi *Schistosomatidae*) dceřiné sporocysty a v těchto pak vzniká stádium opouštějící plže, furkocercárie. V jiném případě (jako je tomu u čeledi *Fasciolidae*) se z miracidia stává sporocysta a z té se formuje další vývojová fáze – redie. Z redií vznikají dceřiné generace a v těch se pak formují cercárie. Cercárie jako volně pohyblivá larva opouští tělo plže a v případě dvou předchozích zmíněných čeledí hledá definitivního hostitele – u čeledi *Schistosomatidae* je jím savec nebo pták, u čeledi *Fasciolidae* se cercárie (přesněji metacercárie) encystuje na vodní vegetaci, kde čeká na pozření obratlovcem.

Některé cykly čítají ale více mezihostitelů, například čeleď *Opisthorchiidae*, jejíž metacercárie (po vývoji miracidium – sporocysta – redie) napadají ryby (například čeleď kaprovití) a do definitivního hostitele se dostávají pozřením právě druhého mezihostitele, a čeleď *Echinostomatidae*, která má cyklus velmi podobný, jen méně hostitelsky specifický.

### 3.2. Monogenea

Třída žábrohlisti (*Monogenea*) spadá také do kmene ploštěnců. Tato skupina je ryze parazitická, jako své hostitele vyhledává hlavně ryby, ale například pro rod *Polystoma* jsou hostiteli žáby. Převážně se jedná o ektoparazity živící se epiteliárními buňkami, mukusem či krví, vždy s vývojem přímým bez účasti mezihostitele. Zástupci třídy *Monogenea* jsou hermafrodité a mohou být viviparní nebo oviparní, v případě oviparie se z vajíčka líhne obrvená larva – onkomiracidium.

#### 3.2.1. Životní cykly monogeneí

Rod *Dactylogyrus* je oviparní, takže dochází k vývoji přes larvu onkomiracidium. Larva je volně pohyblivá a aktivně vyhledává hostitele. Po přisednutí na jeho povrch se mění v dospělce.

Rod *Gyrodactylus* je naopak viviparní a jednotliví paraziti se přenášejí úzkým kontaktem dvou hostitelů (často lososovití, *Salmo spp.*). Jejich rozmnožování se nazývá pedogenetická polyembryonie. Narození juvenilové se dělí na první a druhou generaci. První generace vzniká asexuálně v matce, která je sama ještě embryem. Druhá generace vzniká z oocytů, u kterých začíná vývoj ještě před úplným dozráním samčího reprodukčního systému.

Zvláštní rozmnožování nacházíme u rodu *Diplozoon*. Tito jedinci lokalizovaní na žábřácích ryb produkují vajíčka, ze kterých se líhne larva nazvaná diporpa. Aby se diporpa proměnila v dospělce, potřebuje splynout s další larvou do tvaru písmene „X“, čímž dojde k trvalému srůstu dvou jedinců, oplození a tedy produkci vajíček.

Rod *Polystoma* žije část svého života endoparaziticky v močovém měchýři žab (například pro zástupce *Polystoma xenopi* je hostitelem žába drápatka, *Xenopus laevis*). V močovém měchýři produkuje vajíčka ve stejném období jako žába, takže si vylíhlá onkomiracidia hledají ve vnějším prostředí mladé pulce a právě tehdy žijí ektoparaziticky tzv. neotenický cyklus na vnějších žábřácích pulců (produkují vajíčka, ale při metamorfóze pulců hynou). Pokud onkomiracidia napadnou starší pulce, čekají na jejich metamorfózu, přičemž téměř nedospívají. Do dospělců dospějí až po migraci do močového měchýře.

### 3.3. Nematoda

Početnou skupinou živočichů, ve které také nalezneme parazitující zástupce, je kmen hlístic (*Nematoda*). Vývoj hlístic (ať už přímý či nepřímý) probíhá přes čtyři larvální stádia, během kterých dochází k obnově tělního povrchu, tvorbě nové kutikuly. Dospělci jsou nejčastěji lokalizovaní v trávicím traktu nebo jiných orgánových soustavách. Nejvíce



informací máme o skupině *Secernentea*, jejíž zástupci jsou ve třetím larválním stádiu (L3) infekční pro hostitele – obratlovce.

### 3.3.1. Životní cykly nematodů

Z vajíčka se ještě stále v hostiteli líhnou u čeledí *Steinernematidae* a *Strongyloididae* larvy, které se nejprve přemění na druhá a třetí larvální stadia, a ta ve stolici opouští hostitele, aby ve vnějším prostředí našla nového hostitele. Pro čeleď *Steinernematidae* se stává hostitelem hmyz, do kterého proniká skrz tělní otvory. Čeleď *Strongyloididae* parazituje na savcích, do kterých z vnějšího prostředí proniká invazivně skrz kůži. Odtud migruje krevním řečištěm na místo cílové lokalizace.

Čeleď *Ancylostomatidae* patří mezi nematoda, jejichž vajíčka opouští tělo hostitele s trusem a larvální stadia tak žijí ve vnějším prostředí, dokud svlékáním nedospějí do třetí generace. Larvy této čeledi pak pronikají do hostitele, kterým je savec, invazivně skrz kůži, a poté migrují do cílového místa, kterým je střevo.

### 3.4. Ostatní skupiny

Kromě helmintů byla ale orientace při hledání hostitele prokázána u zástupce *Ichthyophthirius multifiliis* (česky kožovec rybí) z kmene *Ciliophora*. Jeho životní cyklus je rozdělený do tří částí. První stádium trophonta žije přisedle na hostiteli a živí se jeho epidermis. Jakmile se uvolní, encystuje ve volném prostředí do stadia tomonta. Toto stádium produkuje dceřiné tomity. Jakmile se tomity uvolní z cyst, mění se na theronty, kteří již aktivně napadají hostitele, a cyklus začíná znova.

Druhým organismem mimo skupinu helmintů, u kterého byla orientace vůči hostiteli objevena, je *Myxobolus cerebralis* z kmene Myxozoa. Hostitele vyhledává stádium cysty aktinosporeového typu, které se na hostitele přichytí pomocí lepkavého vlákna. Do kůže ryby proniká sporoplasma, která se v několika cyklech množí a posouvá po těle ryby až do hlavové chrupavky. Zde vytvoří spory myxosporeového typu, které se po smrti uvolňují do vody, kde se nechají pohltit například nitěnkou. V nitěnce dochází k dalšímu vývoji, kopulaci a vzniku spor aktinosporeového typu.

## 4. Typy pohybů

V první řadě se pohyby vykonávané parazitem dají rozdělit na orientované a neorientované. Při orientovaných pohybech paraziti využívají rozmanitých stimulů a pohybují se tak například ve směru k možnému hostiteli. To samé sice umožňují i pohyby neorientované, parazit se při nich ovšem pohybuje zcela náhodně.

Pohybovou aktivitu vykonávanou parazitem ve vnějším prostředí lze také rozdělit do dalších dvou typů, a to na pohyby způsobené reakcí na vzruch vedoucí od hostitele a pohyby vyvolané faktorem pocházejícím z vnějšího prostředí.

Všechny dále uvedené podněty jsou vždy vnímány specializovanými receptory umístěnými variabilně na těle parazitů.

### 4.1. Orientace v prostředí

Světlo je jedním z vnímatelných podnětů ve volném prostředí. K jeho vnímání slouží zpravidla primitivní světločivné skvrny, fotoreceptory. Vlivem působení světla dochází k orientovanému pohybu, fototaxi. V přírodě můžeme pozorovat dva její projevy. Negativní fototaxe znamená pro parazity vyhledávání stinných míst, pozitivní fototaxe je tedy pravý opak, pohyb za světlem. Pozitivní fototaxi provádí například cercárie setrvávající u hladiny v klidovém stavu (Loy *et al.*, 2001).

Geotaxe je další z typů pohybů, jedná se o orientovaný pohyb vůči gravitačnímu vektoru, opět pozitivní či negativní. Geotaxi můžeme například pozorovat při pohybu ve vodním sloupci: pokud se organismus zdržuje spíše u dna, jedná se o pozitivní geotaxi. Pokud setrvává převážně u hladiny, nazýváme tento pohyb negativní geotaxí (Loy *et al.*, 2001).

Posledním výrazným podnětem ve vodním prostředí je proudění vody. To může být samovolné nebo pocházet od hostitele. Tuto orientaci nazýváme rheotaxí a opět byly zaznamenány oba dva projevy, pozitivní a negativní. Pozitivní rheotaxí se rozumí pohyb proti vodnímu proudění, negativní pohyb po proudu vody. Na rheotaxi často spoléhají například zástupci třídy *Monogenea* (Whittington, 1997).

### 4.2. Orientace vůči hostiteli

Hostitel do prostředí uvolňuje chemické látky, podle kterých se paraziti tedy mohou orientovat. Tyto chemické látky mají ve vztahu k parazitovi odpudivé, neutrální nebo kladné účinky. Taková oblast chemických látek, která obklopuje hostitele a umožňuje parazitům se podle ní orientovat, se označuje anglickým termínem „active host space“ neboli aktivní prostor hostitele. Čím je inkubace hostitele ve vodě delší, tím se velikost tohoto

koncentračního oblaku zvyšuje a umožňuje tak parazitovi orientovat se na delší vzdálenosti (Hertel *et al.*, 2006). Jev, kdy se parazit orientuje podle chemických látek, nazýváme chemoorientací. Pokud parazit analyzuje vnímané látky jako atraktanty a začne vykonávat pohyb směrem k místu, odkud signál vychází, nazýváme tento pohyb chemotaxe. Je to tedy přímý orientovaný pohyb po koncentračním gradientu. Chemokineze je odlišný druh reakce na chemické molekuly. Jedinci sice dokáží rozeznat změnu koncentrace, neumí se však pohybovat přímo po koncentračním spádu a pouze mění svou pohybovou aktivitu dle intenzity stimulu tak, aby se dostali co nejbližší výchozímu chemickému signálu (Haas *et al.*, 1991).

Paraziti, u kterých chybí aktivní pohyblivé stádium (například larvy viviparních *Monogenei*), se adaptovali na přenos z jednoho hostitele na druhého pomocí dotyku. Jelikož žijí přisedle na povrchu hostitele, přenos na jiného hostitele nastane pouze v případě, dojde-li ke kontaktu parazita s novým hostitelem. Tento pohyb vyvolaný dotykem se nazývá thigmotaxe.

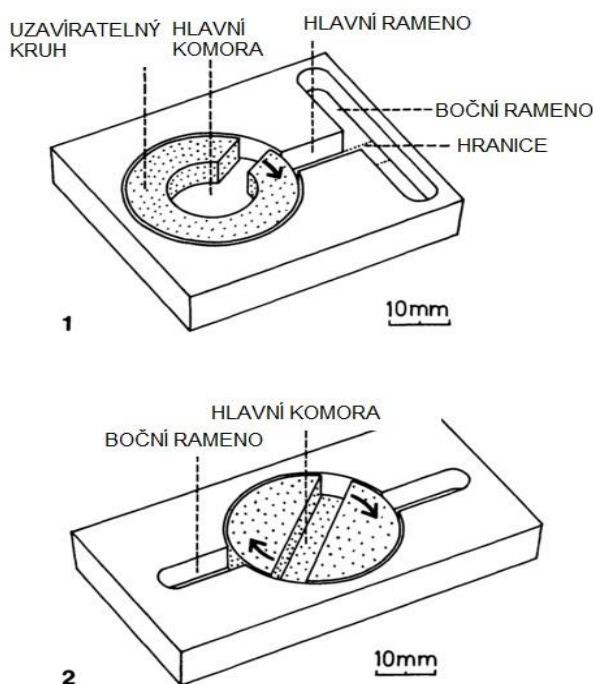
Pohyb spuštěný změnou světelné intenzity se nazývá fotokineze. Parazit je schopný světlo vnímat svými fotoreceptory a orientovat se tak podle směru, ze kterého světelný stimul přichází. Kromě přímého proudu světla paraziti umí rozeznat také změnu směru, ze kterého světlo přichází anebo krátkodobé změny jako stínový podnět (Sopott – Ehlers *et al.*, 2003). Například cercárie *Echinostoma revolutum* zaznamenají stínový podnět, začnou vykonávat sice náhodné, ale uspořádané pohyby za účelem maximálně se přiblížit k hostiteli a zaznamenat chemické molekuly uvolňované z jeho tělního povrchu (Loy *et al.*, 2001).

Termotaxe je pohyb vyvolaný teplem. Například pokusy provedené na miracidíích *Schistosoma japonicum* jasně prokázaly, že v chladném prostředí inklinuje k vystavenému tepelnému zdroji a pro penetraci upřednostňuje teploty okolo 37°C. Vystavení *S. japonicum* vyšším teplotám na delší dobu se pro ni už ukázalo být letální (Haas *et al.*, 1987).

## 5. Metodické přístupy při zkoumání orientace

Co se laboratorních podmínek týče, využívají se pro kultivaci motolic modelové organismy typu myš domácí (*Mus musculus*) pro linii *Schistosoma mansoni* nebo křeček zlatý (*Mesocricetus auratus*) pro linii *Schistosoma haematobium* (Haberl *et al.*, 1995). Vajíčka se obecně nechávají ve stanovených podmínkách inkubovat po několik dní a poté se záměrným snížením pH docílí líhnutí miracidí, neboť změna osmotického tlaku způsobuje otevření vajíčka či jeho prasknutí (Kalbe *et al.*, 1997). Jednotlivé pokusy pak probíhají ve speciálních orientačních komůrkách, ve kterých lze dokázat orientaci vůči vzrůstajícímu koncentračnímu gradientu (Obr. 1). Komůrky jsou dvojího typu, „T-typu“ a „dvojramenného typu“. Jedno rameno obsahuje pouze pufr bez chemikálií, druhé může obsahovat extrakt z plže (anglicky SCW, „snail-conditioned water“ - extrakt, který obsahuje známé a definované substance (Haberl a Haas, 1992)) nebo plže samotného (Haas *et al.*, 1991). Miracidia se vypustí z malého otáčivého kroužku a pozoruje se, zda-li vykazují chemokinezi nebo chemotaxi. V této fázi je také možné sledovat konkrétní pohybové projevy, například pro chemokinezi typické zvýšení pohyblivosti a otáčení se (Haas *et al.*, 1995). Pro podobné pozorování projevů miracidí se používají také z agaru vytvořené komolé jehlany o velikosti plže, které se napustí látkami obsaženými v SCW.

**Obr. 1: Ukázka typů orientačních komůrek (upraveno dle Haas *et al.*, 1991)**



K výzkumu reakcí a pohybů cercárií se využívají hlavně kyvety o různých rozměrech, umístěných vertikálně i horizontálně, to vše za normálních laboratorních podmínek (Loy *et al.*, 2001). Pro zkoumání orientace se používají roztoky s obsahem látek extrahovaných z povrchu hostitele (Haas *et al.*, 1990).

Výzkumné metody pro zjišťování orientace nematodů popsal Haas, jedná se o tříkomorovou metodu (Haas *et al.*, 2005a): larvy *Necator americanus* a *Ancylostoma duodenale* jsou umístěné v agaru v prostřední komůrce, boční komůrky jsou kontrolní a testovací. Pohyb larev se stimuluje přidáním emulze lipidů z lidské kůže. Druhou metodou je využití tříramenné kyvety ve tvaru „W“. Boční komory jsou opět testovací a kontrolní, prostřední obsahuje stimulované larvy. Pohyb larev se sleduje pod mikroskopem a výsledkem je poměr larev v testovací a kontrolní komoře (Haas *et al.*, 2005a).

## 6. Orientace motolic

### 6.1. Orientace miracidii

Jakmile se miracidium vylíhne z vajíčka, má omezenou dobu na nalezení hostitele (vždy plže), jelikož nepřijímá žádnou potravu. Většina miracidii si za své hostitele vybírá jen několik málo plžů, je pro ně tedy důležité najít správného hostitele včas.

#### 6.1.1. Typy orientace

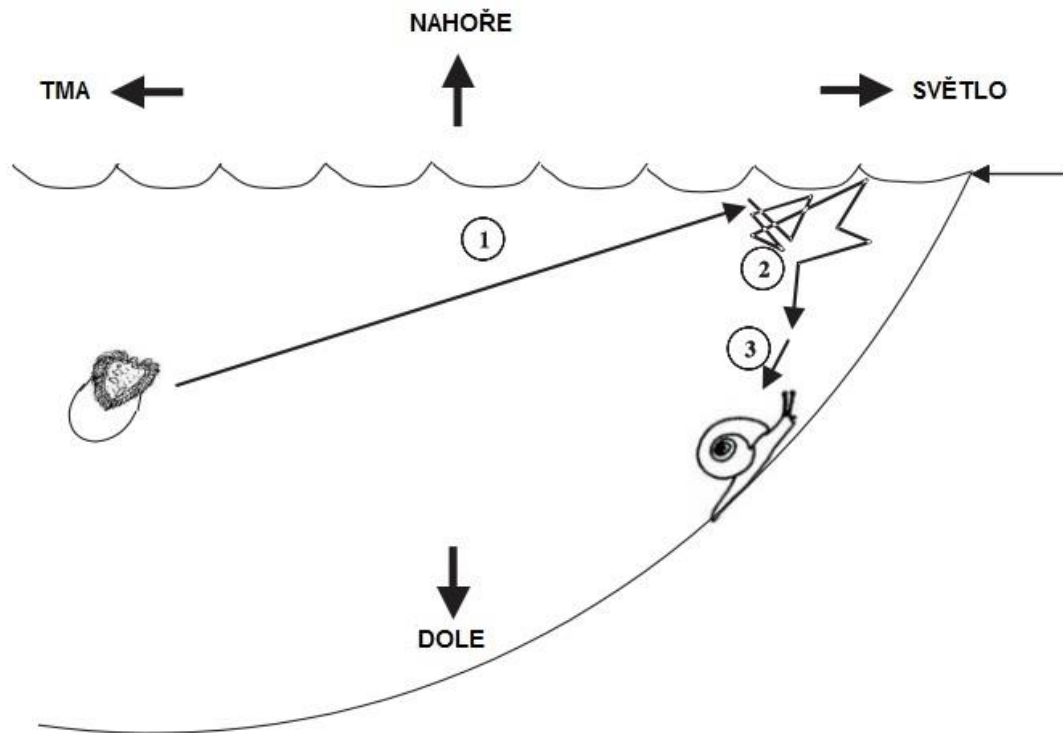
Ihned po vylíhnutí miracidia nereagují na chemické signály z měkkýše, řídí se podle fototaktických a geotaktických signálů. Na povrchu mají pro vnímání světla uzpůsobené fotoreceptory, což dokázali Mason a Fripp (Mason a Fripp, 1976) pokusem, ve kterém se miracidia shlukovala v místě s vyšší světelnou intenzitou. Podrobné struktury fotoreceptorů u miracidii však nejsou zatím dostatečně objasněné. Podle chemických signálů se miracidia začnou řídit až po delší uplynulé době.

Základní chování miracidii, které ověřil MacInnis na druhu *Schistosoma japonicum* (MacInnis, 1965) se dělí na klidový stav bez přítomnosti atraktantů a na aktivní stav s přítomností atraktantů. Za normálního stavu miracidia plavou klidně, bez zrychlování. Pokud se jim do cesty postaví překážka, mohou se dotknout povrchu, změnit směr a pokračovat v pohybu. Některá miracidia (konkrétně pokus provedený u *S. mansoni*) mohou v klidové poloze často měnit směr nebo plavat pomaleji i bez překážek, to se vysvětluje stářím a únavou (MacInnis, 1965).

Celou sérii reakcí miracidia na hostitelův podnět můžeme podle Christensena (Christensen, 1980) rozdělit do tří fází (obr. 2). V první fázi dochází k fototaktické a geotaktické odpovědi na první zaznamenané podněty, jakými je například změna světelné intenzity. Zároveň je tato fáze limitovaná objemem, hloubkou a prouděním vody, neboť příliš velký objem a hloubka a rychlé proudění vody miracidium ztěžuje nalezení hostitele. Tomu jsou však miracidia dobře přizpůsobena, jelikož velké vzdálenosti umí přímočarým pohybem překonat za poměrně krátkou dobu (dvakrát delší *Paramecium caudatum* patřící mezi *Ciliata* plave třikrát pomaleji než miracidium *Schistosoma mansoni*) a jsou tak schopny hostitele infikovat i na větší vzdálenosti (Haas *et al.*, 2003). Následuje druhá fáze plná náhodných pohybů, během které si miracidium ověřuje existenci hostitele ve své blízkosti. Toho může identifikovat pomocí „active host space“, rozptýleného oblaku chemických atraktantů. Třetí fáze je rozhodující. Miracidium v ní lokalizuje podle molekul svého hostitele a rozhodne se pro penetraci do těla plže (Christensen, 1980).

Miracidia i cercárie se nejčastěji pohybují pomocí klinokineze, což je chování, při kterém narůstající koncentrace atraktantů zvyšuje počet změn směru pohybu (Sukhdeo a Sukhdeo, 2004).

**Obr. 2: Schéma chování miracidii při hledání hostitele:** 1, orientace pomocí světla a gravitace; 2, série náhodných pohybů; 3, rozpoznání hostitele a orientace směrem k němu (upraveno dle Sukhdeo a Sukhdeo, 2004).



#### 6.1.1.1. Reakce na nechemické podněty

Nechemických podnětů miracidia využívají hlavně při hledání hostitelova habitatu, tedy na větší vzdálenosti. Uvádí se, že fáze, kdy miracidium nevnímá chemické látky obsažené ve vodě a hledá pouze prostředí, kde by se hostitel mohl vyskytovat, může u *S. mansoni* trvat od jedné do tří hodin a miracidia při ní využívají hlavně fototaxe a geotaxe. (Sukhdeo a Sukhdeo, 2004). Po sérii náhodných pohybů a po dosažení hostitele začne fáze orientace hlavně podle chemických atraktantů (Sukhdeo a Sukhdeo, 2004). Bez nalezení hostitele miracidia hynou.

Mezi nechemické podněty lze kromě světla a proudu vody také zařadit teplotu. Zvyšující se teplota souběžně s intenzivnějším slunečním zářením u miracidii *S. japonicum* a *S. haematobium* vykazují pozitivní odpověď a pohyb kupředu. Naopak do míst s klesající teplotou miracidia neputují (Christensen, 1980).

Krom fotoreceptorů mají miracidia na přední straně těla ještě jeden smyslový orgán, sensorickou papilu, která je citlivá na dotek a rozezná tak živého hostitele od neživého předmětu. Tato papila tedy pomáhá při rozhodování k penetraci (Bahia *et al.*, 2007).

#### **6.1.1.2. Reakce na chemické podněty**

Po nabídnutí chemických atraktantů miracidia *S. mansoni* začnou výrazně měnit pohybovou aktivitu. Dochází ke zrychlování, zvyšování náhodného zatáčení, otáčení se dokola nebo cílené zatáčení po určité vzdálenosti. Jakmile se miracidia dotknou povrchu s chemickým stimulem, začnou vykonávat okolo povrchu pohyby ve tvaru smyček, neustále se na krátkou vzdálenost oddalují a znova přibližují a mohou také narážet kolmo na povrch (obr. 3). Po sérii tohoto ověřování dochází k penetraci (MacInnis, 1965).

Receptory miracidíí dokáží vnímat i velmi malé změny v chemickém složení vody (Haas *et al.*, 1995). Toto je dokázáno sledováním pohybu miracidíí. Při zvyšující se koncentraci chemických atraktantů se miracidia pohybují mnohem aktivněji, přičemž častěji mění směr pohybu, naopak při klesající koncentraci dochází ke zpětnému pohybu od místa detekce (Kalbe *et al.*, 1997).

Jedny z prvních pokusů zaznamenávající pohyb miracidíí byly provedeny už v 60. létech minulého století (MacInnis, 1965). Laboratorními manipulacemi byly napuštěny pro miracidia *Schistosoma mansoni* agarové jehliny různými kombinacemi kyselin máselné, sialové či valerové, substancemi pocházejícími z hostitele *Biomphalaria glabrata*. Tyto objekty se vložily spolu s miracidii do vody, kde byla následně pozorována celá škála projevů a pohybů (viz. Obr. 3) dle konkrétního chemického složení, čímž byla prokázána orientace miracidíí vlivem chemických atraktantů (MacInnis, 1965). Kompletní složení atraktantů pocházejících z plže ještě nebylo zcela odhaleno, velká váha se však přikládá aminokyselinám, mastným kyselinám, amoniaku a různým formám glykoproteinů (Sukhdeo a Sukhdeo, 2004).

K rozpoznání jednotlivých specifických druhů plžů využívají miracidia mukus, který slouží mezi plži pro vnitrodruhovou komunikaci. Rozhodující složkou pro identifikaci hostitele jsou různé typy glykokonjugátů. Tyto pokusy proběhly mezi zástupci *Fasciola hepatica* a *Trichobilharzia szidati* (dříve nazývaná *T. ocellata* – nedávné výzkumy však ukázaly, že označení *T. ocellata* zahrnuje komplex druhů, pro tohoto jedince se dnes nově užívá název *T. szidati* (Rudolfová *et al.*, 2005)) a hostiteli rodu *Biomphalaria* a *Lymnaea* (Kalbe *et al.*, 1997).



V laboratoři se místo mukusu používá tzv. snail-conditioned water, extrahovaný výtažek z vybraného plže. Tento atraktant mnohdy nespouští jen orientovaný pohyb k hostiteli, může zároveň sloužit jako rozhodující látka pro „přisednutí“ na hostitelův povrch. Například pro *Schistosoma mansoni* mohou mít tento dvojitý účinek krátké řetězce mastných kyselin, sialové kyseliny, nižší poměr vápenatých a hořečnatých kationtů či muramová kyselina (Haberl a Haas, 1992).

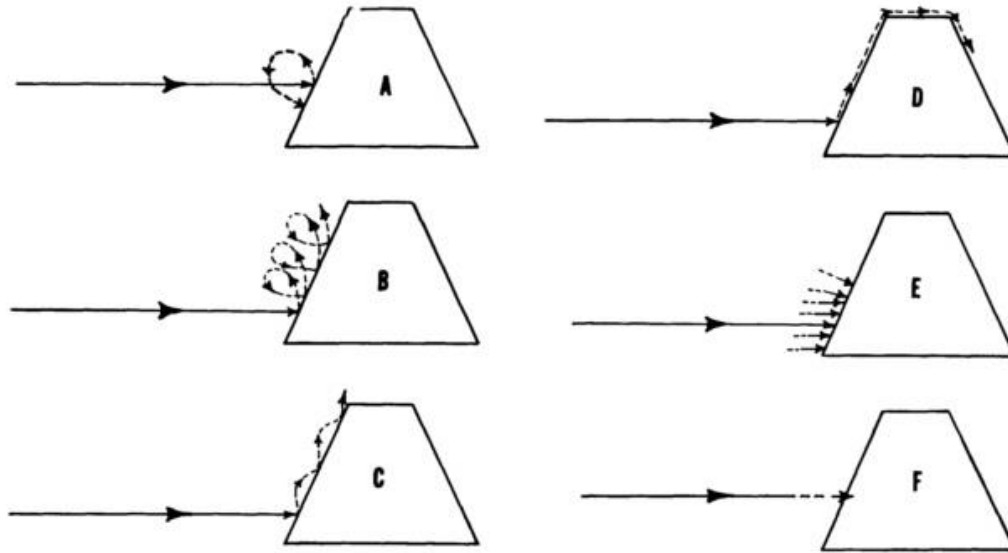
V základu miracidia *S. mansoni* a *S. haematobium* odpovídají na glykokonjugáty o větších molekulárních velikostech než 30kDa, jejichž sacharidové řetězce bývají spojeny O-glykosidickou vazbou přes serin a N-acetylgalaktosamin (Haas *et al.*, 1995). Stejně tak miracidia druhů *Fasciola hepatica* a *Trichobilharzia szidati* reagovala pozitivně na molekuly větší než 30kDa obsahující polysacharidové struktury (Kalbe *et al.*, 1997). Tyto specifické atraktanty v podobě glykokonjugátů dostaly své pojmenování, tzv. MAGs, z anglického „miracidia-attracting glycoconjugates“ (Haberl *et al.*, 2000). Bylo prokázáno, že delší doba inkubace plže v kapalině zvyšuje koncentraci těchto „MAGs“. Čím je koncentrace silnější, tím láká více miracidii a ty jsou schopny hostitele objevit na delší vzdálenost (Hertel *et al.*, 2006).

Roli však hrají i látky o menší velikosti, jako jsou aminokyseliny, hořečnaté kationty, krátké řetězce mastných kyselin, N-acetylneuraminová kyselina, klesající pH, amoniak a glutation, což prokázal výzkum u miracidii *S. mansoni* (Stibbs *et al.*, 1976; MacInnis, 1965; Mason, 1977; podle Haas *et al.*, 1991).

Je překvapivé, že *Schistosoma mansoni* i *Schistosoma haematobium* reagují na podobné, ne-li stejné chemické látky. Ačkoliv se v přírodě specializují na rozdílné hostitele, nedokázaly od sebe při chemotaktické orientaci odlišit dva různé hostitele (Haas *et al.*, 1991; Allan *et al.*, 2009). Toto je však výjimkou a může u některých druhů miracidii poukazovat na malou hostitelskou specifitu při probíhající chemokinezi (Haas *et al.*, 1995a). Obecně však umí miracidia svého hostitele dobře rozeznat - nejen odlišné druhy, ale také druhově příbuzné zástupce (Kalbe *et al.*, 1997).

Proč se další podobné druhy jako *Schistosoma mansoni* řídí pouze chemokinezi a efektivnější chemotaxi vyvinout neumí, je zatím jen málo probádané (Haberl *et al.*, 1995).

**Obr. 3: Chování miracidia *S. mansoni* po vystavení chemickým atraktantům: A, kontakt s objektem přední částí těla a opakování kontaktu; B, mnohonásobný kontakt s objektem; C, série několika přiblížení se; D, paralelní pohyb podél objektu; E, pohyb kolmo k objektu – slouží k ověření chemických stimulů; F, tzv. „pohyb vzdušnou čarou“ (upraveno dle MacInnis, 1965).**



## 6.2. Orientace cercárií

### 6.2.1. Typy orientace

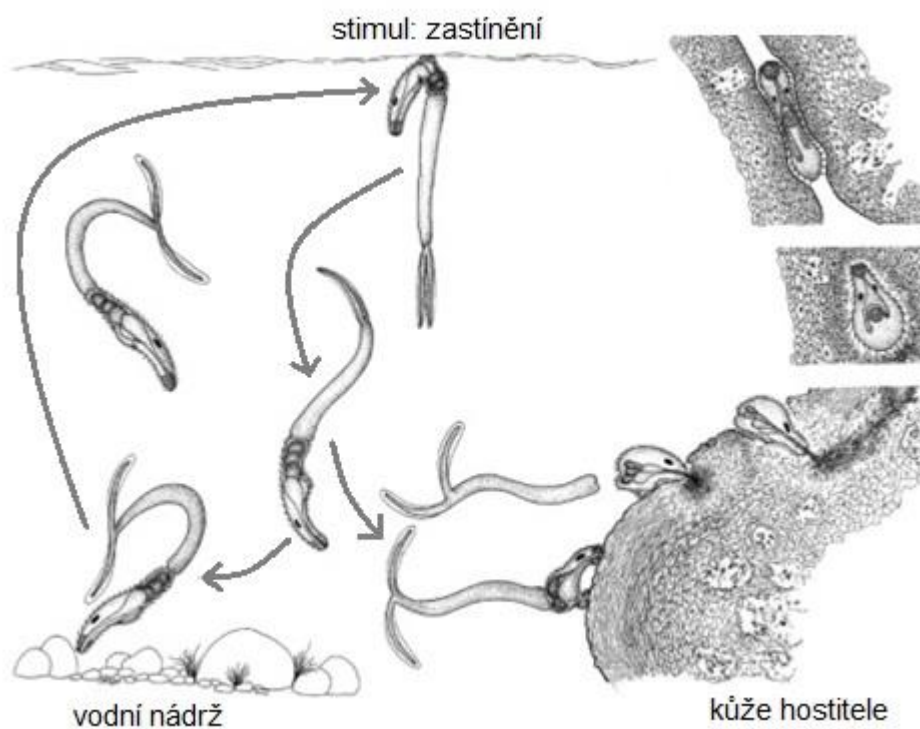
Ani cercárie ve vnějším prostředí nepřijímá potravu, je tedy žádoucí, aby úspěšně a rychle našla hostitele a penetrovala do něj (pokud se nejedná například o čeled' *Fasciolidae*, která, jak již bylo zmíněno, encystuje na vodní vegetaci).

Hledání hostitele cercáriemi lze rozdělit do čtyř fází: nalezení hostitele a přilnutí k němu, setrvávání na hostiteli, nasměrované plazení po jeho povrchu a penetrace (Haas *et al.*, 1994). U *S. mansoni* jsou takto popsány všechny čtyři fáze: cercárie nejprve plave přímo proti objektu a přibližuje se střídavě anteriorní a posteriorní stranou. Poté, co přisedne na hostitele, začne se po jeho povrchu plazit a přitom se orientuje teplotním gradientem a migruje do míst s vyšší teplotou (Haas *et al.*, 1994). K penetraci využívají cercárie *S. mansoni* preacetabulární a postacetabulární žlázy. Nejen že cercárie na povrchu přidržují, ale vylučují sekrety, které při penetraci degradují kůži hostitele. Stimulující účinky sekrece pro preacetabulární žlázy mají

lipidy obsažené v kůži, zatímco pro postacetabulární žlázy je hlavním stimulem hydrofilní složka kůže (Haas *et al.*, 1997).

Po vylíhnutí se u cercárií střídají aktivní fáze s pasivními. Výzkum u *S. haematobium* ukázal, že ihned po vylíhnutí cercárie plave rovně na co největší vzdálenost od původního hostitele, je tedy v aktivní fázi. Dá se předpokládat, že se tímto snaží zabránit autoinfekci. Po dlouhé aktivní fázi nastává pasivní fáze, ve které se cercárie potápí ke dnu a jako kotvu využívá furku na konci ocásku. Čerstvě po vylíhnutí pasivní fáze trvá jen pár milisekund, postupně se ale prodlužuje. V této době se cercárie orientuje především podle světla a gravitace (Haas *et al.*, 1994).

**Obr. 4: Schéma pohybů cercárie (upraveno dle Horák *et al.*, 2002)**



#### **6.2.1.1. Reakce na nechemické podněty**

Stejně jako miracidia, i cercárie vnímají ve vnějším prostředí různá působení zemské gravitace, proudění vody, teploty nebo světla. To je ale pouze obecné tvrzení, každý druh ve výsledku reaguje na vnější stimuly jinak (Loy *et al.*, 2001).

Pro orientaci podle světla a vykonávání fototaxe mají cercárie uzpůsobené fotoreceptory, jednoduché oční skvrny. Ty bývají zpravidla pigmentované či bez pigmentu. Rozsáhlá studie proběhla na druhu *Trichobilharzia szidati* a z této studie později vyplynulo, že tyto cercárie mají oba zmíněné typy fotoreceptorů. Pigmentované fotoreceptory jsou dorzo-laterálně umístěný pár „očí“, který se skládá z pigment obsahujících pohárkových buněk a

senzorických buněk, které jsou mezi sebou navzájem propojeny. Na dorsální straně těla (blízko pigmentovaným fotoreceptorům) jsou pravidelně rozmístěné tři nepigmentované fotoreceptory. „Nejdorzálnější“ z nich obsahuje centrální dutinu ohraničenou mikrovili a vyplněnou cytoplasmou. V té se nachází velké množství glykogenu a mitochondrií. Ostatní dva fotoreceptory obsahují miskovitě prohnuté buňky vyplněné cytoplasmou, které jsou mezi sebou propojené podobně jako pigmentované fotoreceptory. Autoři se na základě poznatků domnívají, že nepigmentované oční skvrny slouží pouze k vnímání světelné intenzity, zatímco pigmentované oční skvrny dokáží rozeznat směr přicházejícího světla, díky čemuž cercárie plně kontroluje směr svého pohybu (Sopott-Ehlers *et al.*, 2003).

Reakce na světlo a stín se liší obecně podle toho, v jaké fázi se zrovna cercárie nachází. Pokud byla cercárie *D. spathaceum* stimulovaná stínovým podnětem v pasivní fázi, došlo ke zvýšení její pohybové aktivity. Naopak stín v aktivní fázi způsobil částečnou inhibici pohybu a zvýšil snahu stín pronásledovat. Podobné chování prokázaly cercárie u *T. szidati*, *Opisthorchis viverrini* a *Schistosoma spindale* (Haas, 1992). Studie cercárií *T. szidati* pak ukázaly, že vykazuje pozitivní fototaktické a negativní geotaktické chování, reaguje ale také na stínový podnět či teplotu vody. Toto přizpůsobení jí umožňuje nalézt hostitele a proniknout do jeho kůže (Kolářová *et al.*, 2012).

V pokusech věnovaných cercáriím rodu *Echinostoma* se fototaktické chování obecně potvrzuje, ovšem každý zástupce má své individuální chování. Například *Pseudechinoparyphium echinatum* je přitahováno spíše nižší intenzitou světla než-li přímým zářením, naopak *Isthmiophora melis* se sice nejprve drží ve stínu, poté se již ale pohybuje přímo za světlem (Loy *et al.*, 2001).

S odpovědí na světelné záření probíhá současně také odpověď na působení zemské gravitace. Pokud je organismus negativně fototaktický, bude upřednostňovat zároveň pozitivní geotaxi a naopak. Vlivem toho jsou třeba cercárie již zmíněné *I. melis* permanentně negativně geotaktické a setrvávají tedy převážnou většinu času u hladiny. Také zástupce *P. echinatum* vykazuje obdobné chování (Loy *et al.*, 2001).

Zajímavým poznatkem je korelace stáří cercárií s geotaktickým chováním. U čeledi *Echinostomatidae* bylo totiž dokázáno, že starší cercárie setrvávají často u dna a nepohybují se příliš aktivně, což se dá vysvětlit jednoduše únavou a vyčerpáním organismu (Loy *et al.*, 2001).

Teplota také ovlivňuje úspěšnost cercárií při pátrání po hostiteli. Obecně vyšší teplota značí možnou přítomnost hostitele, konkrétní výška teploty se ale liší druh od druhu. Při porovnání *S. mansoni* a *S. haematobium* vyšlo najevo, že cercárie první zmíněné vykazují

silnější odpověď a častější přisednutí při vyšších teplotách než cercárie *S. haematobium*, a to s rozdílem až 10°C (Haas *et al.*, 1994).

Ve spojení s předchozími faktory se na orientaci některých cercárií podílí také proudění vody (Haas, 2003). Cercárie *D. spathaceum* reagují jak na něj, tak na dotyk a dochází ke zvýšení aktivity při hledání hostitele (Haas, 1992).

Ukázkou komplexního chování je pak propojení aspektů světelného záření, gravitace a teploty dohromady. Při nízkých teplotách (okolo 15°C) se cercárie druhu *I. melis* zdržovaly jak za světla, tak za tmy, převážně u hladiny. S postupně zvyšující se teplotou docházelo k pravidelnějším rozmístěním ve vodním sloupci. Při konečné teplotě 30°C byly obecně rozdíly při rozmístění nejmenší, avšak přítomnost světla lákala cercárie hlavně k hladině, a úplná tma způsobovala koncentraci cercárií u dna (Loy *et al.*, 2001). To by mohlo poukazovat na adaptaci podle hostitelů cercárií *I. melis*, kterými jsou žáby. Cercárie se tak pravděpodobně snaží najít místo nejpravděpodobnějšího výskytu žab, ne však pulců.

#### **6.2.1.2. Reakce na chemické podněty**

Při zkoumání chemoorientace cercárií *Echinostoma trivolvis* a jím příbuzným druhům se mimo jiné ukázalo, že cercárie dávají přednost pomalu se pohybujícím hostitelům, jejichž chemický gradient lze v okolí lépe detekovat (Haas *et al.*, 1995). To je s velkou pravděpodobností dané tím, že po rychle pohybujícím se hostiteli zůstává špatně čitelná slabá chemická „stopa“ neboli active host space. Z tohoto výzkumu vyšlo také najevo, že cercárie vykazují mnohem omezenější škálu pohybů než miracidia. Chemotaxe u nich (kromě cercárie *Hypoderaeum conoideum*, která se pohybuje přímo chemotakticky po koncentračním gradientu oligopeptidů (Körner *et al.*, 1998a)) nebyla prokázána, řídí se pouze tzv. „turn-back“ pohybem. Navíc svou orientaci řídí místo makromolekul výskytem malých molekul jako jsou peptidy nebo aminokyseliny. Na úkor omezené detekce látek umí dobře rozlišovat nejen mezi vodními druhy organismů, ale také mezi samotnými plži (Haas *et al.*, 1995b).

Schistosomy, hlavně *S. mansoni*, se při prvním kontaktu s hostitelem řídí podle aminokyselin. Důležitou aminokyselinou je L-arginin. Ceramidy slouží jako signál pro setrvání při povrchu. K penetraci do hostitele nakonec dochází při identifikaci mastných kyselin, nejčastěji jde o L-arginin a *S. japonicum* využívá podobných signálů, ke spuštění penetrační aktivity dochází ale už při mnohem menších koncentracích, což může být adaptací na znečištěné vody, ve kterých se nachází (Haas, 2003).

Vlivem pH je způsobeno, že zástupci rodu *Opisthorchis* (hlavně *O. viverrini*) v laboratorních podmínkách lépe rozeznávají a raději napadají žijící jedince. Toto je důkazem,

že orientace je ovlivňována hodnotou pH a s tím související koncentrací uhlíku ( $\text{CO}_2$ ,  $\text{H}_2\text{CO}_3$  a  $\text{HCO}_3^-$ ) v okolním prostředí (Haas *et al.*, 1990). I příbuzné druhy mohou rozlišovat své hostitele podle rozdílných kritérií. Pro cercárie *D. spathaceum* je rozhodující výskyt  $\text{CO}_2$  a  $\text{H}_2\text{CO}_3$ , pro cercárie *I. melis* to je kombinace všech tří podob uhlíku, zatím co *A. brauni* se rozhoduje hlavně podle výskytu N-acetylneuraminové kyseliny (Haas *et al.*, 1990).

Molekulární analýzy mukusu pocházejícího z rybích hostitelů cercárií rodu *Opisthorchis* ukázaly, že z chemických složek obsažených v mukusu se cercárie nejvíce orientují podle molekul větších než 30kDa, těmi jsou například glykosaminoglykany. Naopak menší molekuly jako aminokyseliny, sacharidy nebo elektrolyty se nesetkaly s žádným účinkem (Haas *et al.*, 1990).

Nejvíce přitažlivého efektu se u cercárií (a obecně všech vývojových stádií) dosahuje kombinací několika typů molekul dohromady: u cercárií druhů *Echinostoma revolutum* nebo *Pseudechinoparyphium echinatum* se molekuly větší než 30kDa nesetkaly téměř s žádnou odezvou. Důležitější při orientaci se pro ně ukázaly naopak molekuly menší, hydrofilní (lipofilní neměly na přitažlivost cercárií žádný účinek). Ovšem smísení lipofilní i hydrofilní frakce dohromady vyvolalo orientaci (a pravděpodobnost tzv. „turn-back“ pohybu) mnohem vyšší, než tomu bylo čistě u hydrofilní složky (Haberl *et al.*, 2000).

Přesto, že *E. revolutum* a *P. echinatum* nevykazují chemotaxi, řídí se výše zmíněnou chemoorientací typu „turn-back“, při které kolem sebe vnímají koncentraci konkrétních látek (pro rod *Echinostoma* jsou to typicky různé aminokyseliny, ale také amoniak či močovina) a jakmile začnou tuto oblast obsahující chemické složky opouštět, otočí se a plavou zpět k ní (Körner *et al.*, 1998a; Körner *et al.*, 1998b).

Jakmile cercárie nalezne hostitele, přisedne na jeho povrch a případně na něm setrvá. Toto rozhodování je řízeno jinými molekulami než těmi, které hrají roli při vyhledávání hostitele a často stačí jen nepatrné rozdíly mezi vnějším prostředím a povrchem hostitele. Kromě specifických látek v kůži zde roli hraje i teplo (Haas, 1992). Například cercárii *T. szidati* pro přisednutí na povrch hostitele stačí teplotní rozdíl  $1^\circ\text{C}$  mezi médiem a povrchem hostitele. *Diplostomum spathaceum* zase vnímá minimální rozdíly v koncentraci  $\text{CO}_2$ , pro přisednutí stačí koncentrace odlišná o 0,1%. A cercáriím *S. mansoni*, které přisedají po detekci L-argininu (D-arginin nemá žádný účinek), stačí 0,05mM této složky pro zahájení přisednutí (Haas, 1992; Granzer a Haas, 1986), kromě argininu vykazuje přitažlivé účinky pro přisednutí také ornitin (Grabe a Haas, 2004).

Pro penetraci do kůže je pro cercárie (u *S. mansoni*, *T. szidati* a *Diplostomum spathaceum*) rozhodující hladina glukózy, jelikož koncentrace glukózy se postupně zvyšuje

směrem od povrchu kůže do krevního řečiště. Krom D-glukózy dává signál pro penetraci také L-arginin (Grabe a Haas, 2004). L-arginin je jako atraktant motolic obsažený také v lidské kůži a jako takový ho vnímají téměř všechny schistosomy. Pokusy u *S. mansoni* ukázaly, že v účinnosti atraktantů hned za argininem následuje ornitin, histidin a lysin (Granzer a Haas, 1986). Pro setrvání na lidské kůži jsou důležité teplo a některé lipidy. Nové výzkumy ukazují, že by se mohlo jednat o kyselinu olejovou (Lee et al., 2013).

I ptačí druhy jednájí velmi podobně. Někteří zástupci druhu *Austrobilharzia* mohou pro penetraci využívat kromě mastných kyselin, které vyvolávají slabší reakci, také steroly nebo triacylglyceroly (Haas a Roemer, 1998).

Podobná specializace savčích (lidských) a ptačích schistosom často způsobuje, že ptačí schistosomy mylně pronikají do lidské kůže, kde poté způsobují vyrážku, cercáriovou dermatitidu. Proto je důležité zjistit, jaké molekuly jsou hlavními atraktanty vedoucími k penetraci do kůže hostitele. V jednom z mnoha výzkumů se využívají tzv. cercáriové pasti. Ty se skládají z podložního sklíčka mikroskopu, na kterém je umístěna atraktantová matice v podobě laku na nehty obsahujícího hlavně kyselinu linolovou. Cercárie tím pádem penetrují a chycené v pasti umírají. Touto metodou se dá zamezit styku cercárií s člověkem a minimalizovat tak infekce jimi způsobené (Graczyk a Shiff, 2000).

## 7. Orientace monogeneí

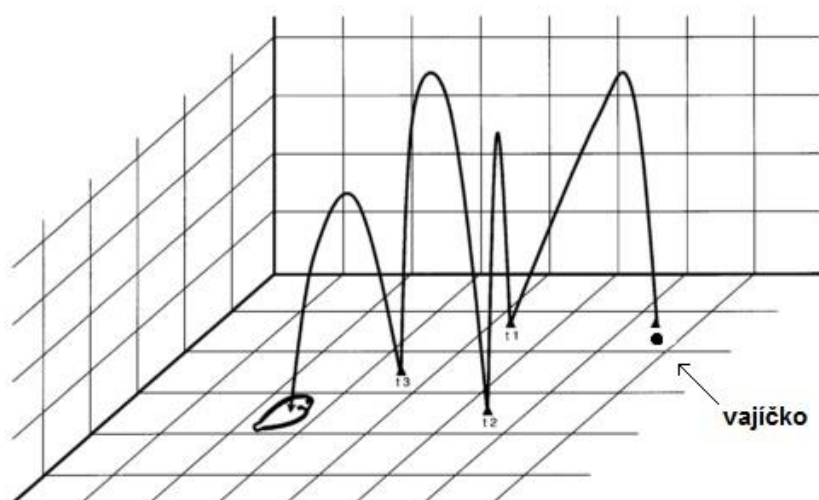
### 7.1. Oviparní druhy

Jeden z výzkumů u *Entobdella soleae* ukázal, že onkomiracidia po svém vylíhnutí plavou ve vodním sloupci nahoru a dolů (Kearn *et al.*, 1980; Sukhdeo a Sukhdeo, 2002). Vlivem vodního proudění se takto šíří, dokud náhodně nepřisednou na dně na svého hostitele (obr. 5). Tato strategie se ukázala v trojrozměrném prostředí jako nejvýhodnější. K orientaci onkomiracidia u *E. soleae* ve vodním prostředí také slouží fotoreceptory, pigmentované oční skvrny. Tyto světločivné buňky zaznamenávají světlo a jeho směr a pomáhají v pohybu za světlem. Tyto rhabdomery se skládají z mnoha velkých čoček odvozených od sloučených mitochondrií (Sopott–Ehlers *et al.*, 2003). Larvy endoparazitické *Polystomy* i díky těmto rhabdomerám nachází ve vodě své hostitele, žáby (Whittington *et al.*, 2000). Během dalších výzkumů bylo dokázáno, že onkomiracidia *E. soleae* reagují pozitivně na styk s epidermálními buňkami mukusu, můžeme tedy mluvit alespoň o chemoklinezi (o konkrétním složení mukusu zatím chybí dostatečné množství informací (Whittington *et al.*, 2000)). Přesto larvy *Diclidophora denticulata*, *Diplozoon paradoxum* a *Discocotyle sagittata* nevykazovaly přílišné behaviorální rozdíly při hledání hostitele na krátké vzdálenosti a málokdy došlo k přímo směřovanému pohybu k hostitelovu povrchu. Na druhou stranu, larvy jsou díky přichycovacím orgánům schopné téměř okamžitě po vylíhnutí přisedat na hostitelův povrch (Whittington *et al.*, 2000).

Hlavním faktorem pro rozpoznání hostitele je rybí sliz z povrchu těla. Ten slouží jen k identifikaci hostitele, nikoliv k orientaci na delší vzdálenost. Rozdíly mezi jednotlivými rybími druhy pak způsobuje chemické složení slizu bohatého na glykoproteiny, konkrétně jde o pozici sacharidu, pravděpodobně manózy (Buchmann, 1998a; Buchmann, 1998b; Whittington *et al.*, 2000). Je záhodné se domnívat, že více jak dvě složky mukusu jsou také určující pro líhnutí larev z vajíček umístěných na těle hostitele (Whittington *et al.*, 2000).



**Obr. 5: Schéma pohybu miracidia *E. soleae* (upraveno dle Sukhedo a Sukhedo, 2002)**



## 7.2. Viviparní druhy

Pro viviparní druhy je výzvou k hledání hostitele úzký kontakt mezi stávajícím a možným novým hostitelem. Dotyk spouští kaskádu reakcí pro nalezení nového hostitele a o těchto viviparních druzích můžeme tedy tvrdit, že vykazují thigmotaxi (Whittington *et al.*, 2000). Některé hostitele, často plankton, mohou *Gyrodactylidae* využívat pouze pro disperzi ve vodním prostředí, ve vzácných případech se nechávají rozptýlit vodním prouděním (Bakke *et al.*, 1992 podle Kearns, 1994). Jelikož se ale viviparní druhy neumí volně pohybovat, často dochází k silným autoinfekcím na jednom hostiteli (Kearns, 1994).

U *Gyrodactylus salaris* teplota ovlivňuje hostitelskou specifitu. Za vyšších teplot je méně specifický a ochotněji mění svého hostitele než za teplot nižších, nicméně hostitelská specifita je u čeledi *Gyrodactylidae* obecně nižší (Bakke *et al.*, 2002). To je prokazatelné snadnou přenosností parazita na ryby jiného druhu a dokonce žijící na jiném zeměpisném místě (Whittington *et al.*, 2000).

Chemické složení kůže a mukusu, které přitahují juvenilní *Gyrodactylus derjavini* ukázalo, že hlavními atraktanty z mukusu jsou proteiny, polypeptidy a sacharidy a atraktanty z kůže jsou mukopolysacharidy nesoucí galaktózu, manózu a laktózu. Rybí mukus hraje také roli při ochraně ryby jako chemická bariéra, některé složky mukusu tedy mohou být naopak repelenty.

## 8. Orientace nematodů

### 8.1. Typy orientace

Podle Haase (Haas, 2003) můžeme chování larev *Necator americanus* a *Ancylostoma duodenale* rozdělit na čtyři fáze: v první fázi se larva mění z nehybné fáze, ve které šetří energii, na aktivní, k čemuž dochází vlivem tepla nebo vibrací substrátu (k tomu mají larvy přizpůsobené termoreceptory a mechanoreceptory), dále se uplatňuje vliv vzdušné vlhkosti, světla nebo proudění vody. V této fázi se larva pohybuje plazivým způsobem (Haas, 2003). Do druhé fáze patří rozeznávání hostitele, kde působí krom tepla také obsah CO<sub>2</sub> a vlhkost vzduchu. Tyto faktory jsou nejsilnější, působí-li spolu. Ve třetí fázi se larva plazí po povrchu, přitahovaná opět teplotou a hydrofilními složkami kůže. Ve čtvrté fázi dochází k penetraci do hostitele. To způsobeno teplem a chemickým složením kůže. Testy probíhaly opět na larvách *N. americanus* a *A. duodenale* (Granzer a Haas, 1991).

#### 8.1.1. Reakce na nechemické podněty

Většina nematodů své hostitele hledá aktivně díky plazícímu se způsobu pohybu. Takto nachází hlavně pomalu se pohybující hostitele nebo hostitele trvale přisedlé. Pokud se hostitel proti nematodům pohybuje rychle, paraziti raději vyčkávají na jednom místě a snaží se zachytit například na chlupcích či kůži. Totéž platí i pro larvy *Ancylostoma caninum*, přičemž se toto behaviorální chování nazývá negativní geotaxi. Larvy se tak pohybují směrem k povrchu substrátu, aby zvýšily pravděpodobnost setkání s hostitelem (v tomto případě nejčastěji psi) (Haas *et al.*, 2005b). Pokud ale byly tepelné, světelné stimuly a vlhkost dostatečné, larva *Haemonchus contortus* (vlasovka slezová, která vylézá na rostliny a čeká na pozření mezihostitelem) se přestala orientovat primárně podle geomagnetického pole (Ashton a Schad, 1999).

Přes kůži penetrující larvy využívají k rozeznání přítomnosti hostitele termoreceptory, což je známo například u *A. caninum* nebo *Strongyloides stercoralis*. Jak bylo dokázáno, larvy se pohybují směrem po teplotním gradientu v očekávání teplokrevného hostitele. Teplota, při které docházelo při pokusech u *A. caninum* k penetraci do agaru, byla 37-38°C (Granzer a Haas, 1991). Každý druh má však nějakou teplotní hranici, při které se naopak odvrací a leze pryč, například pro *A. duodenale* to je 45°C (Haas, 2003). Tyto larvy pak kromě termotaxe vykazovaly také fototaxi, neboť se výrazně orientovaly podle světelného signálu. Pokud byla ze světelného zdroje ale odstraněná infračervená složka, larvy na světlo téměř přestaly reagovat, z čehož se dá usuzovat, že termotaxe je pro larvy nematodů při orientaci zásadní (Haas *et al.*, 2005b).

### 8.1.2. Reakce na chemické podněty

Podstatná je koncentrace CO<sub>2</sub> ve vzduchu, ale třeba *N. americanus* či *A. duodenale* ji vnímají jen ve spojení s teplem či vlhkostí vzduchu (Haas *et al.*, 2005). Lidský dech tyto larvy uvedl do pohybu a odstartoval u nich typické chování, kdy pátrají po svém hostiteli. Pro larvy *Ancylostoma caninum* a *Strongyloides stercoralis* byl CO<sub>2</sub> také faktorem spouštějícím pohyb, jakmile koncentrace ale přesáhla 5%, larvy se hýbat přestaly. To může být vysvětlené tím, že larvy se po průniku do hostitele (kde jsou také vyšší koncentrace CO<sub>2</sub>) zastaví a začnou se přizpůsobovat parazitickému způsobu života (Sciacca *et al.*, 2002).

Na larvu *S. stercoralis* jako atraktanty dále působí i kyselina urokanová (už v malých koncentracích), která je obsažena v kůži a kožních sekretech mnoha savců, kde pravděpodobně plní úlohu protiinfekční bariéry (Safer *et al.*, 2007), a také gradient chloridu sodného (Forbes *et al.*, 2004). Chemokinetické chování a nepřímocháry pohyb ke koncentraci chloridu sodného potvrdily i další pokusy u larev *Strongyloides ratti*. Ideální koncentrace odpovídala zhruba 80 mM NaCl (Tobata-Kudo *et al.*, 2000).

Pro plazící se larvu *A. caninum* je chemickým atraktantem hydrofilní složka kůže, lipofilní tyto účinky nemá a nepůsobí ani zesilujícím účinkem (Granzer a Haas, 1991). U larvy *A. caninum* byla dokonce během penetrace prokázána chemotaktická orientace. K penetraci dochází, když larva pozná přítomnost hydrofilních molekul pocházejících z kůže hostitele, působí ale také teplotní faktor (Granzer a Haas, 1991).

Na signálu pro penetraci se u *N. americanus* podílí mastné kyseliny stejně jako u motolic. Charakter signalizace se ale liší, protože mastné kyseliny u motolic napomáhají při pátrání po hostiteli, u nematodů rozhodují o penetraci (Haas *et al.*, 2005).

Zatímco výše zmíněné larvy nematodů se krom tepla orientují i podle chemického gradientu, zástupci čistě lidských nematodů toto nedokáží. Pravděpodobně je pro ně dostačující citlivá termotaxe, nicméně si lze představit, že s chemotaxí by byla úspěšnost napadání hostitelů mnohem efektivnější (Haas *et al.*, 2005b).

## 9. Další organismy

Poslední kapitola se věnuje organismům, které vzhledem k jejich fylogenezi nelze zařadit mezi helminty, své hostitele ale vyhledávají velmi podobně, proto se jich tato práce okrajově dotýká.

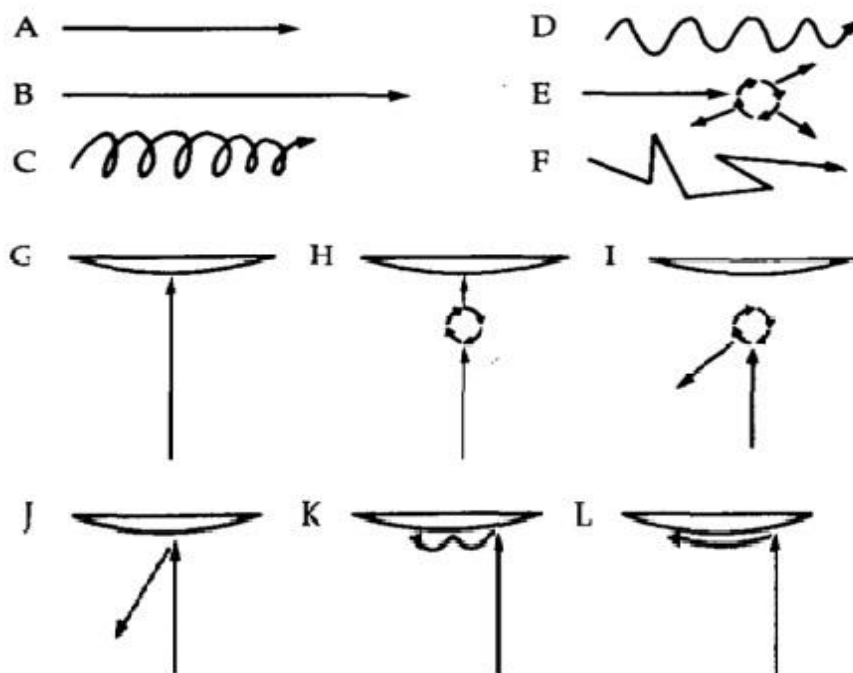
### 9.1. Ciliophora

I jednobuněčný zástupce kmene nálevníku (*Ciliophora*) *Ichthyophthirius multifiliis*, který je významným patogenem ryb (napadá epitel kůže a šupin) dokáže své hostitele cíleně vyhledávat (Buchmann *et al.*, 2001).

Larvální stádium, theront, vykazuje podle Haase (Haas *et al.*, 1999) různé typy chování v závislosti na chemických signálech. Během studia tohoto organismu bylo odhaleno dvanáct specifických typů pohybů (Obr. 6), u volně žijících therontů krom obvyčejného plavání vodou to jsou také: zrychlení, zrychlení s otáčením se, kývání se ze strany na stranu, zastavení se a přehodnocení směru, náhlá změna směru. Theronti přibližující se k hostiteli provádí následující pohyby: plavba v náhodném směru, zpomalení rychlosti těsně před hostitelem a zastavení se a odplutí pryč. Theronti se v kontaktu s hostitelem chovají podobně jako miracidia: kontakt s odplaváním pryč, série několika přiblížení se k povrchu a plavání souběžně s hostitelovým povrchem. Z těchto uvedených pohybů se nejčastěji opakovala změna směru a zpomalení těsně před kontaktem s hostitelem. K orientaci dochází pouze na krátké vzdálenosti, atraktanty therontů nepůsobí příliš daleko. Všechny uvedené fáze pohybů jsou navíc ovlivňovány prouděním vody, stínovými podněty a v neposlední řadě přítomností chemických molekul (Haas *et al.*, 1999).

Ukázalo se, že molekuly s malou molekulovou hmotností, jako jsou aminokyseliny, sacharidy nebo močovina, theronty nijak nepřitahují. Naopak molekuly s hmotností nad 188kDa na theronty působily chemotakticky. Během pokusů theronti ochotně vyhledávali místa s vyšší koncentrací extraktu z kůže, séra a mukusu ryb, nejvíce ze pstruha duhového. Z toho pokusu také vyšlo najevo, že atraktanty mají proteinovou povahu a pravděpodobně by mohlo mj. jít například o imunoglobuliny (Buchmann a Nielsen, 1999). Obecně ale theronty přitahují makromolekulární glykoproteiny, naopak glykokonjugáty působí odpudivě (Haas *et al.*, 1999).

**Obr. 6: Schéma různých reakcí *Ichthyophthirius multifiliis* v závislosti na chemických signálech: A – F, pohyby volně plovoucích therontů; G – I, pohyby během přibližování se k hostiteli; J – K, pohyby po kontaktu se substrátem (upraveno dle Haase *et al.*, 1999)**



## 9.2. Myxozoa

Aktivitu při hledání hostitele vykazuje také aktinospora, jedno z vývojových stádií Myxozoi. Aktinospora hledá jako své hostitele ryby, na které se dostává vymrštěním pólového vlákna stočeného v apikálně umístěné kapsuli. Na rozdíl od ostatních parazitů má aktinospora na zachycení proplouvajícího hostitele pouze jeden pokus, nemůže se za hostitelem aktivně vydat jako například cercárie. I proto se pólové vlákno vymršťuje velmi rychle, celý proces trvá méně než 10msec (Kallert *et al.*, 2011, Kallert *et al.*, 2007). Rychlost pólového vlákna není u všech zástupců stejná. Naopak se ukazuje, že rychlost zareagování vůči rybě negativně koreluje s hostitelskou specializací (Yokoyama *et al.*, 2006). Pólové vlákno je sice mechanicky drážditelné a aktinospora tak vykazuje thigmotaxi, na ověření hostitele aktinospora využívá ale také chemických látek (Yokoyama *et al.*, 1995).

Ukazuje se, že i tento parazit (*Myxobolus cerebralis*) reaguje pozitivně hlavně na mukus z povrchu ryb, konkrétně se jedná o nízkomolekulové mucinové složky – menší než 3kDa

(Yokoyama *et al.*, 1995), glykokonjugáty a peptidy. Z konkrétních aminokyselin jsou největšími atraktanty tryptofan, který není hostitelsky specifický a vyskytuje se často v mukusu z povrchu ryb, stejně tak dlouho známou složkou je inosin. Ten se v poslední době spolu ukazuje jako velmi silný atraktant. Naopak složky jako laktát, kyselina močová nebo inositolmonofosfát byly v mukusu přítomné, na orientaci aktinospor ale neměly žádný vliv (Kallert *et al.*, 2011). Zároveň se nabízí předpoklad, že by aktinospory mohly živé ryby identifikovat podle metabolitů uvolňovaných z těla ryb. Tuto domněnku ještě nikdo nepotvrdil ani nevyvrátil.

Při pokusech s *Myxobolus. cultus* se jako optimální hodnota pH ukázalo blízké rozmezí kolem 7, při kyselých či zásaditých hodnotách se aktivita snižovala. Teplota neměla na aktivitu aktinospor vliv (Yokoyama *et al.*, 1995). Stejně tak nebyl prozatím prokázán žádný zesilovací efekt molekul, které samy o sobě atraktanty nejsou.

## 10. Závěr

Tato bakalářská práce je shrnutím dosavadních poznatků o orientaci motolic, monogeneí, nematodů i dalších organismů, u nichž byla cílená orientace a aktivní vyhledávání hostitele dokázána. Jak z práce vyplývá, paraziti k vyhledávání hostitelů využívají jak chemické signály, tak signály nechemické povahy a často musí jednat velmi rychle a rozhodně. Nechemické signály jako je světlo, stín, proudění vody či zemská přitažlivost jsou víceméně společní určovatelé orientace v prostředí pro všechny parazity. Záleží jen na jejich pozitivním či negativním vnímání, vždy jsou ale jednotlivé druhy specializované tak, aby se vyskytovaly v maximálně podobném prostředí jejich hostiteli. Z chemických látek se paraziti naučili využívat jednoduché metabolity vylučované tělem hostitele nebo dokonce látky, které jinak slouží pro vnitrodruhovou komunikaci. Pokud se v ontogenezi nachází dvě vývojová stádia pátrající po hostiteli, často využívají zcela odlišné chemické látky, aby tak zvýšili pravděpodobnost nalezení toho správného hostitele.

Zatímco téma miracidí a cercarií hledajících hostitele je v dnešní době prozkoumané poměrně hodně, například informací o monogeneích je zatím málo a často tak nezbývá, než jen odhadovat a domnívat se. Přesto že je tato skupina významným patogenem ryb, pro člověka není nebezpečná, což může být jedním z důvodů, proč dnes některé informace o monogeneích stále chybí.

## 11. Použitá literatura

- Allan, F., Rollinson, D., Smith, J. E., & Dunn, A. M. (2009). Host choice and penetration by *Schistosoma haematobium* miracidia. *Journal of Helminthology*, 83(1), 33–38.
- Ashton, F. T., Li, J., & Schad, G. A. (1999). Chemo- and thermosensory neurons: structure and function in animal parasitic nematodes. *Veterinary Parasitology*, 84(3-4), 297–316
- Bahia D., Mortara R. (2007). *Schistosoma mansoni*: expression of Fes-like tyrosine kinase SmFes in the tegument and terebratorium suggests its involvement in host penetration. *Experimental Parasitology*, 116(3), 225–32.
- Bakke T. A., Harris P. D., Jansen P. A. & Hansen L. P. (1992). Host specificity and dispersal strategy in gyrodactylid monogeneans, with particular reference to *Gyrodactylus salaris* (Platyhelminthes, Monogenea). *Diseases of Aquatic Organisms* 13: 63-74
- Buchmann, K. (1998a). Histochemical characteristics of *Gyrodactylus derjavini* parasitizing the fins of rainbow trout (*Oncorhynchus mykiss*). *Folia Parasitologica*, 45(4), 312–318.
- Buchmann, K. (1998b). Binding and lethal effect of complement from *Oncorhynchus mykiss* on *Gyrodactylus derjavini* (Platyhelminthes: Monogenea). *Diseases of Aquatic Organisms*, 32(3), 195–200.
- Buchmann, K., & Nielsen, M. E. (1999). Chemoattraction of *Ichthyophthirius multifiliis* (Ciliophora) theronts to host molecules. *International Journal for Parasitology*, 29(9), 1415–1423.
- Buchmann, K., Sigh, J., Nielsen, C. V., & Dalgaard, M. (2001). Host responses against the fish parasitizing ciliate *Ichthyophthirius multifiliis*. *Veterinary Parasitology*, 100(1-2), 105–116.
- Christensen, N. Ø. (1980). A review of the influence of host- and parasite-related factors and environmental conditions on the host-finding capacity of the trematode miracidium. *Acta Tropica*, 37(4), 303–318.
- Forbes, W. M., Ashton, F. T., Boston, R., Zhu, X., & Schad, G. A. (2004). Chemoattraction and chemorepulsion of *Strongyloides stercoralis* infective larvae on a sodium chloride gradient is mediated by amphidial neuron pairs ASE and ASH, respectively. *Veterinary Parasitology*, 120(3), 189–198.



- Grabe K., Haas W. (2004).** Navigation within host tissues: *Schistosoma mansoni* and *Trichobilharzia ocellata* schistosomula respond to chemical gradients. *International Journal for Parasitology*, 34(8), 927–34
- Graczyk, T. K., & Shiff, C. J. (2000).** Recovery of avian schistosome cercariae from water using penetration stimulant matrix with an unsaturated fatty acid. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, 63(3-4), 174–177.
- 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(6), 575–579.
- Granzer, M., & Haas, W. (1991).** Host-finding and host recognition of infective *Ancylostoma caninum* larvae. *International Journal for Parasitology*, 21(4), 429–440.
- Haas, W, Granzer, M., & Brockelman, C. R. (1990).** *Opisthorchis viverrini*: Finding and recognition of the fish host by the cercariae. *Experimental Parasitology*, 71(4), 422–431
- Haas, W. (1992).** Physiological analysis of cercarial behavior. *The Journal of Parasitology*, 78(2), 243–255.
- \*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(4), 509–513.
- Haas, W., Haberl, B., Kalbe, M., & Kömer, M. (1995).** Snail-host-finding by Miracidia and Cercariae: chemical host cues. *Parasitology Today*, 11(12), 468–472.
- Haas, W., Körner, M., Hutterer, E., Wegner, M., & Haberl, B. (1995).** Finding and recognition of the snail intermediate hosts by 3 species of echinostome cercariae. *Parasitology*, 110 (Pt 2), 133–142.
- 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(10), 787–795.
- Haas, Wilfried. (2003).** Parasitic worms: strategies of host finding, recognition and invasion. *Zoology (Jena, Germany)*, 106(4), 349–364.
- Haas, Wilfried, Granzer, M., & Garcia, E. G. (1987).** Host Identification by *Schistosoma japonicum* Cercariae. *The Journal of Parasitology*, 73(3), 568–577.

- Haas, Wilfried, Haberl, B., Hofmann, M., Kerschensteiner, S., & Ketzer, U. (1999).**  
 Ichthyophthirius multifiliis invasive stages find their fish hosts with complex behavior patterns and in response to different chemical signals. *European Journal of Protistology*, 35(2), 129–135
- Haas, Wilfried, Haberl, B., Schmalfuss, G., & Khayyal, M. T. (1994).** Schistosoma haematobium Cercarial Host-Finding and Host-Recognition Differs from That of S. mansoni. *The Journal of Parasitology*, 80(3), 345–353
- Haas, Wilfried, Haberl, B., Syafruddin, N., Idris, I., Kallert, D., Kersten, S. (2005)a.**  
 Behavioural strategies used by the hookworms Necator americanus and Ancylostoma duodenale to find, recognize and invade the human host. *Parasitology Research*, 95(1), 30–39.
- Haas, Wilfried, Haberl, B., Syafruddin, N., Idris, I., Kersten, S., & Syafruddin. (2005)b.**  
 Infective larvae of the human hookworms Necator americanus and Ancylostoma duodenale differ in their orientation behaviour when crawling on surfaces. *Parasitology Research*, 95(1), 25–29.
- Haas, W., Diekhoff, D., Koch, K., Schmalfuss, 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(6), 1079–1085.
- Haberl, B., Kalbe, M., Fuchs, H., Ströbel, M., Schmalfuss, G., & Haas, W. (1995).**  
 Schistosoma mansoni and S. haematobium: Miracidial host-finding behaviour is stimulated by macromolecules. *International Journal for Parasitology*, 25(5), 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(05), 479–486.
- Haberl, Bernhard, & 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 Part A: Physiology*, 101(2), 329–333.
- 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(1), 173–180.

- Horák, P., Kolářová, L., & Adema, C. M. (2002).** Biology of the schistosome genus *Trichobilharzia*. In *Advances in Parasitology* (Volume 52, pp. 155–233).
- Kalbe M., B. Haberl. (1997).** Miracidial host-finding in *Fasciola hepatica* and *Trichobilharzia ocellata* is stimulated by species-specific glycoconjugates released from the host snails. *Parasitology Research*, 83(8), 806–12.
- Kallert, D. M., Ponader, S., Eszterbauer, E., El-Matbouli, M., & Haas, W. (2007).** Myxozoan transmission via actinospores: new insights into mechanisms and adaptations for host invasion. *Parasitology*, 134(Pt 12), 1741–1750.
- Kallert, Dennis M., Bauer, W., Haas, W., & El-Matbouli, M. (2011).** No shot in the dark: myxozoans chemically detect fresh fish. *International Journal for Parasitology*, 41(3-4), 271–276.
- \*Kearn, G. C. (1994).** Evolutionary expansion of the Monogenea. *International Journal for Parasitology*, 24(8), 1227–1271
- Kearn, G. C. (1980).** Light and gravity responses of the oncomiracidium of *Entobdella soleae* and their role in host location. *Parasitology*, 81(01), 71 – 89
- Kolářová L., Horák P. (2012).** Cercarial Dermatitis, a Neglected Allergic Disease. *Clinical Reviews in Allergy & Immunology*.
- 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(3), 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(3), 517–525.
- Lee, V. S. T., Burgess, J. L., Sterling, C. R., & Lutz, E. A. (2013).** *Schistosoma mansoni*: assessment of effects of oleic acid, cercarial age and water temperature on parasite-host attraction. *International Journal for Parasitology*, 43(10), 837–842.
- Loy, C., Motzel, W., & Haas, W. (2001).** Photo- and geo-orientation by Echinostome cercariae results in habitat selection. *The Journal of Parasitology*, 87(3), 505–509.
- MacInnis, A. J. (1965).** Responses of *Schistosoma mansoni* Miracidia to Chemical Attractants. *The Journal of Parasitology*, 51(5), 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(5), 721–727.
- Mason, P. R. (1977).** Stimulation of the activity of *Schistosoma mansoni* miracidia by snail-conditioned water. *Parasitology*, 75(3), 325–338.
- Rudolfová, J., Hampl, V., Bayssade-Dufour, C., Lockyer, A. E., Littlewood, D. T. J., & Horák, P. (2005).** Validity reassessment of *Trichobilharzia* species using *Lymnaea stagnalis* as the intermediate host. *Parasitology Research*, 95(2), 79–89
- Safer, D., Brenes, M., Dunipace, S., & Schad, G. (2007).** Urocanic acid is a major chemoattractant for the skin-penetrating parasitic nematode *Strongyloides stercoralis*. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, 104(5), 1627–1630.
- Sciacca, J., Forbes, W. M., Ashton, F. T., Lombardini, E., Gamble, H. R., & Schad, G. A. (2002).** Response to carbon dioxide by the infective larvae of three species of parasitic nematodes. *Parasitology International*, 51(1), 53–62.
- Stibbs, H. H., Chernin, E., Ward, S., & Karnovsky, M. L. (1976).** Magnesium emitted by snails alters swimming behaviour of *Schistosoma mansoni* miracidia. *Nature*, 260(5553), 702–703.
- Sopott-Ehlers, B., Haas, W., & Ehlers, U. (2003).** Ultrastructure of pigmented and unpigmented photoreceptors in cercariae of *Trichobilharzia ocellata* (Plathelminthes, Trematoda, Schistosomatidae): evidence for the evolution of parasitism in Neodermata. *Parasitology Research*, 91(2), 109–116.
- Sukhdeo, M. V. K., & Sukhdeo, S. C. (2004).** Trematode behaviours and the perceptual worlds of parasites. *Canadian Journal of Zoology-Revue Canadienne De Zoologie - CAN J ZOOLOG*, 82(2), 292–315
- Sukhdeo, M. V. K., & Sukhdeo, S. C. (2002).** Fixed behaviours and migration in parasitic flatworms. *International Journal for Parasitology*, 32(3), 329–342.
- Tobata-Kudo, H., Higo, H., Koga, M., & Tada, I. (2000).** Chemokinetic behavior of the infective third-stage larvae of *Strongyloides ratti* on a sodium chloride gradient. *Parasitology International*, 49(3), 183–188.
- Whittington, I. D. (1997).** Reproduction and host-location among the parasitic platyhelminthes. *International Journal for Parasitology*, 27(6), 705–714.

- Whittington, I. D., Cribb, B. W., Hamwood, T. E., & Halliday, J. A. (2000).** Host-specificity of monogenean (platyhelminth) parasites: a role for anterior adhesive areas? *International Journal for Parasitology*, 30(3), 305–320
- Yokoyama, H., Ogawa, K., & Wakabayashi, H. (1995).** Chemoresponse of actinosporean spores of *Myxobolus cultus* to skin mucus of goldfish *Carassius auratus*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 21(1), 7–11.
- Yokoyama, Hiroshi, Kim, J.-H., & Urawa, S. (2006).** Differences in host selection of actinospores of two myxosporeans, *Myxobolus arcticus* and *Thelohanellus hovorkai*. *Journal of Parasitology*, 92(4), 725–729.

\* - označuje sekundární citace