

**Univerzita Karlova v Praze**

**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



**Monika Nečasová**

Laboratorní cykly schistosom, chov mezihostitelských plžů a jejich ekologické  
nároky

Laboratory cycles of schistosomes, breeding of intermediate snail hosts and their  
ecological requirements

Bakalářská práce

Školitel: RNDr. Libor Mikeš, Ph.D.

Praha, 2016

*Poděkování:*

Ráda bych poděkovala svému školiteli RNDr. Liborovi Mikešovi, Ph.D. za odborné vedení, za trpělivost a cenné rady při zpracovávání této práce. Děkuji také doc. RNDr. Lucii Juříčkové, Ph.D. za ochotu a pomoc při získání potřebných informací a podkladů.

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 13.5.2016

.....

## ABSTRAKT

Čeď Schistosomatidae je významnou skupinou krevních motolic zahrnující vážné patogeny člověka a hospodářských zvířat. Z hlediska rozmnožování se jedná o gonochoristické parazity. Jejich životní cyklus probíhá ve dvou fázích – nepohlavní rozmnožování v mezihostiteli (sladkovodní a mořští plži) a pohlavní rozmnožování v definitivním hostiteli (savci a ptáci). Vzhledem ke své patogenitě u definitivních hostitelů, je životní cyklus schistosom hojně udržován v laboratořích. Pro zachování celého cyklu jsou velice důležití mezihostitelští plži, kterými jsou například zástupci čeledi Lymnaeidae. Jejich vnímavost k parasitismu schistosomami se však mezidruhově výrazně liší. Plovatky byly v minulosti klasifikovány do několika rodů podle různých parametrů. Nejčastější byla systematika založená na anatomických a morfologických rozdílech. Nejpřesnější taxonomie se však odvíjí od molekulárních dat a vzájemné fylogenetické vztahy lymnaeidních plžů zůstávají předmětem výzkumu. Jedná se o sladkovodní čeď plžů se specifickými ekologickými a nutričními nároky. Shrnuté informace o jejich ekologii odhalují, že plovatkovití plži jsou velice sensitivní na přítomnost těžkých kovů ve vodě, jako je olovo, měď a kadmium. Naopak se řadí mezi méně citlivé plže na deriváty amoniaku. Dalším abiotickým faktorem, který na tyto plže působí je salinita, pH a teplota s kterou souvisí parciální tlak kyslíku. Nejdůležitějším prvkem je vápník, který se podílí na tvorbě schránek a je součástí mnoha fyziologických procesů. V laboratořích jsou plži často chováni v úplně odlišných podmínkách, které se mohou u plžů projevit například vyšší mortalitou nebo sníženou fekunditou. Přírodní podmínky jsou nejčastěji uměle simulovány s pomocí moderní techniky (tj. vzduchovací kompresory, vodní filtry, umělé osvětlení atd.). Esenciální látky jsou plžům dodávány jednak s potravou a jednak v podobě chemických náhražek. Na plže působí nejen abiotické ale i biotické faktory. Jedním z biotických faktorů je parasitismus schistosomami. Během vývoje schistosom v plži dochází k mnoha biologickým, morfologickým a behaviorálním změnám. Současné poznatky, které se zabývají přežíváním lymnaeidních plžů mimo jejich přirozené prostředí jsou často neúplné. Zabývají se spíše jednotlivými faktory, které plže Lymnaeidae ovlivňují než jejich celkovými nároky.

**Klíčová slova:** Schistosomatidae, Trichobilharzia, schistosomóza, Lymnaeidae, taxonomie, chov plžů, ekologické a nutriční nároky

## ABSTRACT

The Schistosomatidae family is an important group of blood flukes, including serious human and livestock animal pathogens. With regard to reproduction, they are gonochoristic parasites. Their life cycle has two stages – asexual reproduction in an intermediary host (fresh water and sea gastropods) and sexual reproduction in the definitive host (mammals and birds). With regard to their pathogenicity at the definitive hosts, the blood fluke life cycle is abundantly maintained in laboratories. To preserve the whole cycle, the intermediary host gastropods are very important. They can include, without limitation, representatives of the Lymnaeidae family. However, their sensitivity to parasitism by blood flukes varies significantly by species. Floats were classified into several genera according to various parameters in the past. The systematics was most frequently based on anatomic and morphological differences. However, the most precise taxonomies are based on molecular data and mutual phylogenetic relationships of Lymnaeidaegastropods remain a subject of research. It is a fresh water family of gastropods with specific ecological and nutritional requirements. Summary information about their ecology estimate that the float gastropods are highly sensitive to the presence of heavy metals in water, such as lead, copper and cadmium. In contrast, they belong to less sensitive gastropods to ammonia derivatives. Another abiotic factor affecting these gastropods is salinity, pH and temperature, which is related to oxygen partial pressure. The most important element is calcium which participates in the creation of shells and is a part of numerous physiological processes. Gastropods are bred in completely different conditions in laboratories, which can cause e.g. a higher mortality or reduced fecundation. Natural conditions are most frequently simulated by means of modern technologies (i.e. air compressors, water filters, artificial lighting etc.). Essential substances are delivered to gastropods both through nutrition, and in the form of chemical substitutes. Abiotic as well as biotic factors affect gastropods. One of biotic factors parasitisms by blood flukes. During the development of blood flukes in the gastropod, numerous biological, morphological and behavioral changes occur. Present knowledge concerning the survival of Lymnaeidae gastropods outside their natural environment are often incomplete. They rather deal with individual factors which affect Lymnaeidae gastropods, than with their overall demands.

Key words: Schistosomatidae, Trichobilharzia, schistosomiasis, Lymnaeidae, taxonomy, snail breeding, ecological and nutritional requirements

## OBSAH

1. ÚVOD A CÍLE PRÁCE.....	1
2. ÚVOD DO BIOLOGIE SCHISTOSOM.....	2
2.1. ŽIVOTNÍ CYKLUS.....	4
2.1.1. MIRACIDIUM.....	4
2.1.2. SPORO CYSTA.....	4
2.1.3. CERKÁRIE.....	5
2.1.4. SCHISTOSOMULA.....	6
2.1.4.1. SCHISTOSOMULY VISCERÁLNÍCH DRUHŮ SCHISTOSOM.....	7
2.1.4.2. SCHISTOSOMULY NASÁLNÍCH DRUHŮ SCHISTOSOM.....	7
2.1.5. DOSPĚLCI A VAJÍČKA.....	7
3. ŽIVOTNÍ CYKLUS SCHISTOSOM V LABORATOŘÍCH.....	8
3.1. ZISK VAJÍČEK A MIRACIDIÍ, INFEKCE MEZIHOSITELSKÉHO PLŽE.....	8
3.2. ZÍSKÁVÁNÍ CERKÁRIÍ A INFEKCE DEFINITIVNÍCH HOSTITELŮ.....	8
4. PLŽI JAKO MEZIHOSITELÉ SCHISTOSOM.....	10
4.1. LYMNAEIDAE JAKO MEZIHOSITELÉ SCHISTOSOM.....	10
4.1.1. CHARAKTERISTIKA PLŽŮ ČELEDI LYMNAEIDAE (PLOVATKOVITÍ).....	11
4.1.2. SYSTEMATIKA A TAXONOMIE PLŽŮ ČELEDI LYMNAEIDAE.....	11
4.1.3. SYSTEMATIKA A TAXONOMIE PLŽŮ ČELEDI LYMNAEIDAE VE.....	
STŘEDNÍ EVROPĚ.....	13
4.1.4. SYSTEMATIKA A TAXONOMIE PLŽŮ ČELEDI LYMNAEIDAE NA ÚZEMÍ ČR.....	15
5. EKOLOGICKÉ A NUTRIČNÍ NÁROKY PLŽŮ.....	16
5.1. EKOLOGICKÉ NÁROKY PLŽŮ ČELEDI LYMNAEIDAE.....	16
5.2. NUTRIČNÍ NÁROKY LYMNAEIDAE.....	19
6. CHOV PLŽŮ V LABORATORNÍCH PODMÍNKÁCH.....	19
6.1. SBĚR PLŽŮ.....	19
6.2. CHOV PLŽŮ.....	20
7. ZMĚNY VE FYZIOLOGII A CHOVÁNÍ INFIKOVANÝCH PLŽŮ.....	23
7.1. ZMĚNY V REPRODUKCI.....	23
7.2. RŮST.....	24
7.3. BEHAVIORÁLNÍ ZMĚNY.....	24
8. ZÁVĚR.....	26
9. REFERENCE.....	28
10. INTERNETOVÉ ZDROJE.....	39

## 1. ÚVOD A CÍLE PRÁCE

Schistosomy neboli krevničky jsou zástupci digenetických motolic s dvouhostitelským životním cyklem vázaným na vodní prostředí. Mezihostiteli jsou sladkovodní a mořští plži a definitivními hostiteli jsou homoiotermní obratlovci – ptáci a savci. Schistosomy jsou známé především jako původci schistosomózy, druhého nejvýznamnějšího parazitárního onemocnění člověka na světě, hned po malárii. To dosvědčuje i počet celosvětově nakažených osob, který se pohybuje okolo 200 miliónů. Medicína se o schistosomy začala zajímat i kvůli schopnosti některých ptačích druhů vyvolávat u savců svědivou vyrážku – cercariální dermatitidu.

Právě díky patogenitě schistosom jsou jejich jednotlivá životní stádia zkoumána v laboratorních podmínkách. Pro výzkum schistosom je velice důležité mít potřebné hostitele. Takovými mezihostiteli některých schistosom jsou plži z čeledě Lymnaeidae. Plovatkovití patří mezi celosvětově rozšířené sladkovodní plže a v Evropě jsou jedni z nejběžnějších plžů.

Jeich systematika a taxonomie byla v minulosti různě upravována, například byli rozřazováni podle morfologie nebo anatomie. Poslední studia založená na molekulární analýze výrazně změnila dosavadní pohled na mezidruhové ale i vnitrodruhové vztahy těchto plžů a díky tomu došlo k výraznému přejmenování. Tuto metodu však mnoho odborníků neuznává a v literatuře se stále uvádí původní jména.

Ekologické a nutriční nároky se u plžů výrazně liší díky různé sensitivitě na abiotické a biotické faktory. Mezi tyto faktory obecně patří kvalita vody a potravy, množství minerálních látek a kovů, denzita plžů, predace, apod.. Aby mohli být lymnaeidní plži dlouhodobě chováni i mimo své přirozené prostředí, je nutné znát všechny tyto nároky a pochopit jaký na ně mají vliv. Co se týče jejich chovu, simulované podmínky se v různých laboratořích výrazně liší. Zatímco v některých laboratořích kladou důraz především na potravu, některé dbají spíše na čistotu vody nebo světelné podmínky.

Dalším důležitým faktorem, který ovlivňuje tyto plže je infekce schistosomami. Kromě toho, že jsou schistosomy schopné obházet jejich imunitní systém využívají jejich energetické zásoby a působí na okolní tkáň. Jejich vliv na plže se projevuje změnami v morfologii, fyziologii a v chování.

Cílem této práce je shrnout informace o plovatkovitých, zejména o jejich ekologických a nutričních nárocích. Cílem je též utřídit poznatky o systematice a taxonomii, o jejich chovu v laboratorních podmínkách a současně popsat hlavní morfologické a fyziologické změny u infikovaných plžů.

## 2. ÚVOD DO BIOLOGIE SCHISTOSOM

*Schistosomatidae* jsou jednou z čeledí motolic patřící do řádu Strigeidida (Trematoda: Digenea). Hlavním znakem, kterým se schistosomy neboli krevničky odlišují od většiny ostatních motolic, je gonochoristický způsob života. Jsou to krevní parazité s dvouhostitelským životním cyklem vázaným na vodní prostředí. Využívají plže jako mezihostitele a homiotermní obratlovce jako definitivní hostitele. *Schistosomatidae* se dělí na 14 rodů. Kromě rodu *Schistosoma*, medicínsky významného rodu díky své patogenitě u člověka, patří do čeledi *Schistosomatidae* další 3 rody s přibližně 30 popsány druhy parazitujícími na savcích (*Bivitellobilharzia*, *Schistosomatium*, *Heterobilharzia*) a 10 rodů zahrnujících kolem 67 druhů ptačích schistosom (*Allobilharzia*, *Anserobilharzia*, *Austroilharzia*, *Bilharziella*, *Dendritobilharzia*, *Gigantobilharzia*, *Jilinobilharzia*, *Macrobilharzia*, *Ornithobilharzia*, *Trichobilharzia*) (Brant a Loker 2013; Lockyer a kol. 2003).

Celkově schistosomy kolonizovaly velké množství čeledí plžů. Většina druhů schistosom se vyvíjí v plicnatých plžích čeledí Lymnaeidae, Physidae a Planorbidae (Loker 1983). Některé rody plžů (příkladem *Stagnicola* patřící do čeledi Lymnaeidae) jsou schopny sloužit jako hostitelé pro ptačí i savčí schistosomy. Podrobněji se budu zabývat mezihostitelskými plži ve speciálních kapitolách.

Jak už bylo naznačeno výše, definitivními hostiteli schistosom jsou homiotermní obratlovci – savci a ptáci. Poměrně malá skupina schistosom o 8 druzích, rodů *Austroilharzia* a *Ornithobilharzia* je vázána na mořské podmínky. Jejich larvální stádia parazitují na mořských plžích (Batillariidae, Nassariidae, Littoriniidae a Potamididae). Definitivním hostitelem jsou pak nejvíce racci a rybáci obývající mořské prostředí (Brant a Loker 2013).

Primárně jsou však schistosomy vázány na sladkovodní prostředí. To platí pro všechny savčí a většinu ptačích schistosom. Šíře hostitelské a mezihostitelské specifity schistosom se může lišit v rámci jednoho druhu i mezi druhy. Ptačí schistosomy rodů *Bilharziella* a *Dendritobilharzia* patří z hlediska definitivního hostitele spíše ke generalistickým rodům infikujícím nejméně 4 řady ptáků (viz Tabulka 1). Dalším příkladem je rod *Gigantobilharzia* parazitující na zástupcích pěvců, dlouhokřídlých, brodivých a vrubozubých. Opačnými případy jsou pak rody *Allobilharzia* známá pouze u labutí nebo *Anserobilharzia* u hus (Brant a Loker 2013).

Životní cyklus některých schistosom zatím není přesně znám. Málo dostupných informací je například o rodech *Bivitellobilharzia*, *Macrobilharzia* a *Allobilharzia*, kde dosud nebyl zjištěn mezihostitelský plž. *Macrobilharzia* parazituje na anhingách a kormoránech. Díky schopnosti těchto ptáků obývat sladkovodní i mořské prostředí je velice složité zjistit mezihostitelského plže. Definitivním hostitelem *Bivitellobilharzia* spp. jsou sloni s výjimkou *B. nairi* parazitující na nosorožcích (*Rhinoceros unicornis*). Předpokládá se, že mezihostitelští plži jsou velice vzácní nebo produkce infekčních stádií schistosom je velice ojedinelá. Dalším příkladem neznámého mezihostitele je už zmíněný rod *Allobilharzia* způsobující velmi častou infekci u labutí na Islandu (Huffman a Fried 2008).

**Tabulka 1 Mezihostitelé a definitivní hostitelé schistosom, jejich cílová lokalizace v definitivním hostiteli a geografické zařazení**

Rod	Mezihostitelský plž	Definitivní hostitel	Lokalizace uvnitř definitivního hostitele	Rozšíření	Vodní prostředí
<i>Austrobilharzia</i>	Nassariidae, Batilariidae, Litoriniidae, Potamididae	dlouhokřídlí	viscerální	celosvětově	mořské
<i>Ornithobilharzia</i>	Batillariidae	dlouhokřídlí	viscerální	celosvětově	mořské
<i>Macrobilharzia</i>	Neznámý	suliformní (anhingy)	viscerální	Severní Amerika, Afrika	neznámé
<i>Bivitellobilharzia</i>	Neznámý	nosorožcovití, slonovití	viscerální	Afrika, Asie	sladkovodní
<i>Schistosoma</i>	Planorbidae, Lymnaeidae, Pomatiopsidae	savci	viscerální, nasální	Eurasie, Afrika, Jižní Amerika	sladkovodní
<i>Heterobilharzia</i>	Lymnaeidae	savci	viscerální	Severní Amerika	sladkovodní
<i>Schistosomatium</i>	Lymnaeidae	hlodavci	viscerální	Severní Amerika	sladkovodní
<i>Bilharziella</i>	Planorbidae	brodiví, krátkokřídlí, potápky, vrubozobí	viscerální	Evropa	sladkovodní
<b>Druhy izolované z plžů Haminoea</b>	Haminoeidae	dlouhokřídlí, veslonoží	viscerální	Severní Amerika	mořské
<i>Gigantobilharzia</i> *	Physidae	pěvci	viscerální	Severní Amerika	sladkovodní
<i>Dendritobilharzia</i>	Planorbidae	krátkokřídlí potáplice, veslonoží, vrubozubí	viscerální	celosvětově	sladkovodní
<i>Jilinobilharzia</i>	Neznámý	vrubozubí (kachnovití)	viscerální	Čína	neznámé
<i>Allobilharzia</i>	Neznámý	vrubozubí (labutě)	viscerální	Severní polokoule	neznámé
<i>Anserobilharzia</i>	Planorbidae	vrubozubí (husy)	viscerální	Severní polokoule	sladkovodní
<i>Trichobilharzia</i>	Lymnaeidae, Physidae	vrubozubí (kachnovití)	viscerální, nasální	celosvětově	sladkovodní

\*Gigantobilharzia není monofyletický rod, udaná informace se týká pouze G. huronensis

Tabulka převzata a upravena dle publikace Horák a kol. (2015)



## 2.1. ŽIVOTNÍ CYKLUS

Během svého vývoje krevničky střídají vnější–vodní a vnitřní–hostitelské prostředí. Aby se jedinec mohl v co nejkratší době přizpůsobit změnám okolních podmínek, prodělává v průběhu svého života velké morfologické a fyziologické změny odlišující od sebe jednotlivá vývojová stádia.

### 2.1.1. MIRACIDIUM

Prvním vývojovým stádiem jsou volně žijící miracidia, která se líhnou ve vodním prostředí nejčastěji v reakci na změnu osmotického tlaku, světla a teploty (Sukhdeo a Sukhdeo 2004). Výjimkou je *T. regenti*, jejíž miracidia se líhnou už v nosní tkáni vodních ptáků, odkud se pak vylíhla dostávají do vodního prostředí (Horák a kol. 1998).

Protože ve vnějším prostředí nemohou přijímat potravu a mají omezené množství zásobních látek, jejich hlavním úkolem po vylíhnutí z vajíčka je co nejdříve najít mezihostitelského plže. Životnost miracidia je pouze několik hodin (Moné a Fournier 1994). Pravděpodobnost nalezení vhodného mezihostitele je u některých schistosom zvyšována načasováním vylučování vajíček dospělci. Příkladem je vylučování vajíček kolem poledne u *S. mansoni* (McMahon 1976), tedy v době s vysokou pravděpodobností výskytu definitivního hostitele ve vodě. Adaptace jednotlivých druhů schistosom na fyziologické podmínky v mezihostitelích jim umožňuje ovlivňovat jejich imunitní systém, metabolismus a endokrinní systém tak, aby se dokázaly ve svém mezihostiteli dále vyvíjet (Haas 2003). Z tohoto důvodu je pro miracidia velice důležité najít a rozpoznat vhodného mezihostitele. U většiny schistosom je to jen několik málo druhů plžů.

Po vylíhnutí z vajíčka se miracidia nejprve snaží lokalizovat habitat svého hostitele. Toho dosahují rychlým plaváním v dlouhých liniích a schopností reagovat na různé fyzikální faktory jako je světlo, gravitace či teplota vody (Haas 2003). Značně hbitého pohybu dosahují pomocí kmitání ciliárních destiček na svém povrchu – epidermálních buněk s výrazným počtem cílií. Rychlost takového miracidia se pohybuje u *S. haematobium* okolo 2,5 cm/s (Mason a Fripp 1976). Reakce na fyzikální podněty se u miracidii schistosom výrazně liší. Příkladem reakce na světlo je fotopozitivní orientace (navíc s geonegativní) u *S. mansoni* (Mason a Fripp 1976). Zajímavým příkladem je *S. haematobium*, která mění svou fotoorientaci v závislosti na okolní teplotě vody (Shiff 1974). Po 1-3 hodinách rychlého pohybu se rychlost miracidia snižuje a zvyšuje se počet změn směru plavání. Řídí se především gradientem chemických látek, které jsou obsaženy ve slizu plžů a vodě, kterou předtím obývali (snail conditioned water – SCW). Tyto chemoatraktivní látky, známé pod označením “miracidia attracting glycoproteins“ (MAGS), mají u plžů obecně podobné složení. Jsou charakterizovány jako makromolekulární glykokonjugáty, v kterých jsou sacharidové řetězce připojeny k proteinu pomocí O-glykosidické vazby pravděpodobně mezi threoninem a N-acetylgalaktosaminem (Haas 2003). Signálem sloužícím k rozpoznání vhodného plže je právě druhově specifická sacharidová část, která je větší jak 30 kDa (Kalbe a kol. 2000). Samotná penetrace probíhá nejčastěji přes nohu mezihostitelského plže. Vyjímkou je pak *S. japonicum*, kdy více jak 57% miracidii proniká do plže jeho přirozenými otvory jako je ústní otvor, žaberní štěrby nebo rektum (Xia a Jourdan 1991). Během penetrace pak dochází k nahrazení obrveného povrchu syncytiálním tegumentem (neodermis) a vzniká tak další vývojové stádium – mateřská sporocysta (Walker 2011).

### 2.1.2. SPOROCYSTA

Vzniklá **mateřská sporocysta** zůstává nejčastěji blízko místa, kudy penetrovala do mezihostitele, tedy v noze plže. Uvnitř mateřské sporocysty vznikají z germinálních buněk **dceřiné sporocysty**. Sporocysty nemají vyvinutou trávicí soustavu a příjem probíhá pouze přes jejich povrch. Dceřiné sporocysty migrují do nutričně bohatších míst, především pak do hepatopankreatu. Ze zárodečných buněk sporocyst mohou být utvářeny cercarie nebo i další generace sporocyst sporocystogenezí. Výsledkem je obrovské množství dceřiných sporocyst, kterých bylo u *S. mansoni* napočítáno 625 původem z jedné mateřské sporocysty (Etges a kol. 1975). Díky adaptaci schistosom na jednotlivé druhy plžů jsou sporocysty schopny odolávat

imunitnímu systému a navíc ovlivňovat vnitřní homeostázi plže. Zejména přímým výskytem v hepatopankreatu a kompeticí o zásobní látky dochází u plže k mnoha morfologickým a behaviorálním změnám. Mezi ně řadíme například parazitární kastraci, změny v růstu, v pohybu, atd. (Faro a kol. 2013). Některé druhy ptačích schistosom jsou navíc schopny ovlivňovat fitness meziphostitele působením na neuroendokrinní systém plže (Horák a Kolářová 2005). Vlivy na meziphostitelského plže jsou podrobněji popsány v šesté kapitole.

### 2.1.3. CERKÁRIE

Po dosažení cílového místa se ze zárodečných buněk uvnitř sporocysty začínají utvářet cercárie. Z rychle se dělicích zárodečných buněk vzniká stádium moruly. Je tvořena velkým počtem somatických buněk a několika zárodečnými buňkami. Na moruly se však přetváří pouze část zárodečných buněk. Z některých zárodečných buněk jsou tvořeny zárodečné masy, ze kterých se později tvoří polyembryonií embrya cercárií. Ze stádia moruly se tvoří zárodečná koule, která je rozdělena do dvou částí – přední a zadní. Z přední části se vyvíjí hlavová část cercárie. Ze zadní části tvořené pouze malým pupenem se vytváří ocas. Cercáriogeneze probíhající ve velkém množství sporocyst umožňuje obrovskou produkci cercárií. Ta se zvyšuje s rostoucí teplotou a velikostí plže. Příkladem velké denní produkce je *S. mansoni* s 1500 cercáriemi, *S. haematobium* s 2000 cercáriemi nebo *T. szidati* s 2621 cercáriemi (Walker 2011; Soldánová a kol. 2016).

Cercárie jsou volně žijící infekční stádia schistosom. K tomu aby se dostaly z meziphostitelské plže do voního prostředí mají dvojici specializovaných únikových žláz, které se u cercárií tvoří již během vývoje ve sporocystě (Horák a kol. 2015). Tělo je tvořeno hlavou a ocáskem. Podle ocásku (tzv. furky) se cercárie schistosom řadí mezi furkocercárie, tedy mezi cercárie s vidličnatě zakončeným ocáskem. Hlavním úkolem cercárie je, co nejrychleji najít a infikovat potenciálního hostitele. Není totiž schopna přijímat potravu a má omezené množství zásobních látek (Lawson a Wilson 1980; Haas 2003). Cercárie jsou z meziphostitelského plže uvolňovány v době s největší pravděpodobností výskytu definitivního hostitele ve vodním prostředí (Théron 1984). Nejčastěji jsou uvolňovány cirkadiálně (jedno uvolňování za den) nebo ultradiálně (dvakrát za den). Například cercárie *S. mansoni* jsou uvolňovány dvakrát za den v místech, kde jsou schopny nakazit dva hostitele – člověka a krysu. K uvolnění dochází poprvé kolem poledne pro nákazu člověka a podruhé v noci pro infekci krysu (Combes 1990, citace dle Sukhdeo a Sukhde, 2004).

Hledání hostitele má několik fází. Cercárie nejprve hledá habitat a pak potencionální hostitele, ke kterému se následně přichytí (Sukhdeo a Sukhdeo 2004). Díky schopnosti nejen rozdílně vnímat fyzikální a chemické podněty, ale i na ně reagovat, lze u cercárií schistosom pozorovat velkou variabilitu v chování (Kalbe a kol. 1997). *S. mansoni* se řídí chemickými podněty z povrchu meziphostitele, teplotou a vodní turbulencí. *S. haematobium* disponuje vysokou citlivostí především na termální gradienty (Haas, 2003). Cercárie *T. ocellata* (= *Trichobilharzia szidati* (Rudolfová a kol. 2005)) jsou schopné velmi sensitivně reagovat na stínové podněty, protože jsou vybaveny dvěma pigmentovanými pohárkovitými očima pokrytými čočkou a třemi nepigmentovanými rhabdomerickými fotoreceptory (Sopott-Ehlers a kol. 2003). Po kontaktu s potencionálním hostitelem vykazují cercárie opět spoustu vzorců chování, které mohou být stimulovány signály z hostitele nebo mohou být spontánní. Infekce hostitele cercárií probíhá podle Haase (2003) v několika fázích: 1) přichycení k hostiteli, 2) setrvání, 3) nalezení vhodného místa pro penetraci a 4) samotná penetrace. Každá z těchto fází je stimulována jinými signály.

Hlavním stimulem penetrace u všech schistosom je přítomnost nenasyčených mastných kyselin na povrchu kůže hostitele. Tyto mastné kyseliny však nejsou hostitelsky specifické a může dojít k penetraci i do nevhodného hostitele (Haas 2003). Příkladem je adaptace ptačích schistosom (*Austrobilharzia*, *Trichobilharzia*) reagovat na menší koncentrace mastných kyselin pokožky ptáků. Ta způsobuje větší sensitivitu vůči velkému množství těchto kyselin na povrchu pokožky obratlovců včetně člověka. V případě, kdy se už „postižený“ alespoň jedenkrát setkal s touto infekcí, dojde k imunitní reakci, která zastaví další

vývoj schistosomy a zabije ji už v kůži. V místě postižení pak vzniká svědivá makulopapulózní vyrážka nazývaná *cerkáriová dermatitida* či *swimmer's itch*. Masivní infekce může vyvolávat i vysoké teploty, otoky končetin a průjmy (Horák a Kolářová 2001). Tyto kožní problémy byly popsány nejen u člověka, ale vyskytují se i u králíků a psů (Augustine a Weller 1949; Olivier 1949, citace dle Horák a Lichtenbergerová 2012). Při infekci naivní myši ptačí neuropatogenní schistosomou *Trichobilharzia regenti* bylo dokázáno, že někteří jedinci schistosom byli schopni uniknout imunitní reakci v pokožce savce a dále migrovat tělem (Kolářová a Horák 2000). Zatímco larvy neuropatogenních schistosom migrují až do centrálního nervového systému, viscerální (*T. szidati*) jsou schopny migrovat do různých orgánů, jako jsou například plíce (Horák a kol. 2015). V porovnání s vývojem schistosom ve správném hostiteli, ptačí druhy schistosom v savci nejsou schopny úplného vývoje (Horák a Blážová 2005).

Mezi krevničkami lze pozorovat i rozdílnou specifitu k místu penetrace. Například cercárie savčí schistosomy *S. mansoni* upřednostňují volné plochy kůže. Cercárie *T. szidati* vyhledávají k penetraci vrásky a vlasové folikuly (Haas a Haeberlein 2009). Kůži poté narušují pomocí produktů penetračních žláz ústíčních na hlavovém orgánu. Penetrace je doprovázena mnoha fyziologickými a morfologickými změnami. Z volně žijící cercárie vzniká schistosomula, larvální stádium plně adaptované na endoparazitický způsob života. Dochází k odhození svalnatého ocásku a vytvoření nové dvojvrstvé membrány (Walker 2011).

#### 2.1.4. SCHISTOSOMULA

Schistosomula je larválním stádiem nacházejícím se uvnitř definitivního hostitele. V první řadě po penetraci je velice důležité, aby nedošlo k migraci zpět do vnějšího prostředí. Poté co penetruje *stratum corneum*, migruje paralelně s povrchem a následně migruje do *stratum basale* (Grabe a Haas 2004a). Prvním stimulem k zavrtávání hlouběji je u *Schistosoma mansoni* a *Trichobilharzia szidati* světlo (Grabe a Haas 2004b). Zatímco cercárie vykazovaly pozitivní fotoorientaci, schistosomuly se pohybují zásadně naopak. Dalším stimulem jsou chemické gradienty L-argininu a D-glukózy přítomné v ptačím respektive lidském séru. Tato chemoorientace byla studována na schistosomulách druhů *S. mansoni* a *T. szidati*. L-arginin byl pro schistosomuly velice atraktivní pokud byl vázán v tetrapeptidech. Citlivost těchto druhů schistosom se lišila právě podle pozice L-argininu v peptidech. Při migraci se schistosomuly natáčí k těmto chemickým gradientům svou ventrální stranou, což jim pomáhá zabránit případné penetraci zpět do vnějšího prostředí (Grabe a Haas 2004b).

V rámci vyhledávání cév po penetraci *stratum basale* u viscerálních schistosom, jako jsou *T. szidati* a *S. mansoni*, se schistosomuly řídí pravděpodobně dále dle gradientu L-argininu a D-glukózy. Koncentrace D-glukózy a L-argininu se zvyšuje od povrchu kůže směrem k epidermis a ke krvi (Grabe a Haas 2004b). Zatímco penetrace cercárií *S. mansoni*, *S. haematobium* a *S. japonicum* dovnitř hostitele trvá jen pár minut, migrace schistosomul je daleko pomalejší kvůli překonávání různých silných vrstev kůže. Doba migrace schistosomul se také mezi schistosomami zásadně liší. Schistosomuly *S. mansoni* a *S. haematobium* migrují kůží člověka necelé tři dny. *S. japonicum* dokončí svou migraci přes dermis během jednoho dne (He a kol. 2005). Ne všechny penetrované cercárie jsou schopné plně projít kůží (He 1988). Schopnost přežití závisí především na kompatibilitě definitivního hostitele (He a Salafsky 2001).

Vývoj a růst schistosomuly začíná už během migrace do cílové lokalizace. Gonády se začínají tvořit u *S. mansoni* už za tři týdny po penetraci. Plného vývoje dosáhnou během jednoho týdne (Walker, 2011). Schistosomy se od sebe odlišují nejen v různé preferenci míst pro penetraci do těla, rychlosti a způsobu penetrování, vyvolávání odlišných imunitních reakcí u napadených živočichů, ale hlavně v cílové lokalizaci. Podle toho je dělíme, jak už bylo zmíněno výše, na nasální a viscerální (Lichtenbergerová a Horák 2012; Horák a kol. 2015).

Viscerální schistosomy migrují přes krevní oběh, nebo z části přes lymfatický oběh. Následně osidlují cévy v různých lokalizacích specifických pro dané druhy. Oproti tomu nasální schistosoma

*Trichobilharzia regenti* migruje přes nervovou soustavu až do mozku, odkud se dostává do nosní tkáně. V nosní sliznici lze najít i *S. nasale*, která migruje do cílového místa cévní soustavou (Horák a kol. 1999).

#### 2.1.4.1. SCHISTOSOMULY VISCERÁLNÍCH DRUHŮ SCHISTOSOM

Schistosomuly viscerálních schistosom migrují nejprve krevním řečištěm do srdce (Jones a kol. 2008). Následně jsou odnášeny společně s krví přes *arteriae pulmonales* do plic. Během fáze v plicích dochází k mnohým morfologickým přeměnám, jako je syntéza tegumentu, způsobující až 52% nárůst povrchu (Crabtree and Wilson 1980, citace dle Wilson 1987). Zvětšováním pouze povrchu si zachovávají schopnost kontrakce do minimální velikosti. Poté se schistosomula velmi pomalu pohybuje přes krevní kapiláry do plicních sklípků. Po čase se vrací do krevního řečiště – mesenterických tepen a následně přes střevní krevní řečiště až do hepatoportálního systému. Příchod schistosomul do jater je spojený s mnoha změnami metabolismu a značným tělním nárůstem. Dospělé spárované schistosomy *S. haematobium* a *S. mansoni* po třech týdnech v játrech putují do cílových tkání. Načasování jednotlivých fází a cílová tkáň, kterou obývají je velice druhově specifická. Zatímco dospělci *S. mansoni* obývají portální žílu a její přítoky, *S. haematobium* se nachází v cévách urogenitálního traktu. V portální žíle a mezenterických cévách lze pak pozorovat *S. japonicum* (Erasmus 1987). Co se týče příkladů z ptačích schistosom, dospělci *Trichobilharzia mergi* a *Trichobilharzia szidati* obývají cévy tlustého střeva a dospělce *Allobilharzia visceralis* lze pozorovat v cévách tlustého střeva a mezenterických cévách (Kolářová a kol. 2013; Rudolfová a kol. 2006)

#### 2.1.4.2. SCHISTOSOMULY NASÁLNÍCH DRUHŮ SCHISTOSOM

Jiný typ migrace podniká neuropatogenní schistosoma *Trichobilharzia regenti*. Její schistosomuly migrují přes nervové svazky periferních nervů, míšní kořeny a míchu do mozku, odtud se dostávají do sliznice nosu (Horák a kol. 2015). Tento proces migrace je velice rychlý. Již dva dny po infekci byla nalezena schistosomula v míše, po 12 dnech v mozku (Horák a Hrádková 2002) a v cílové lokalizaci byla nalezena o den později (Horák a kol. 1999). Další schistosomou nacházející se v cévách sliznice nosu je *Schistosoma nasale*. Na rozdíl od *T. regenti*, schistosomuly *S. nasale* migrují do cílového místa přes cévní soustavu, jako je tomu u viscerálních schistosom (Latchumikanthan et al. 2014).

#### 2.1.5. DOSPĚLCI A VAJÍČKA

Mezi dospělci jednotlivých druhů schistosom lze pozorovat různou míru pohlavního dimorfismu. Obvykle větší samec má na své ventrální straně těla podlouhlý žlábek zvaný *canalis gynecophorus*, který slouží k uchování samice po úspěšném spárování. Délka tohoto kanálku se různí v závislosti na druhu schistosom (Beltran a Boissier 2008). U *S. malayensis* kanálek probíhá více jak 80% těla (Greer a kol. 1988). Některé rody jako je *Trichobilharzia* mají kanálek velice redukovaný a některé ho nemají vůbec (Loker a Brant 2006; Horák a kol. 2002). Samička má obvykle tělo delší a užší, z velké části vyplněné vaječným. Obě pohlaví mají vyvinuté dvě přísavky sloužící k přichycení ke stěně cévy. Dalším, velice dobrým mezidruhovým znakem samců je počet, velikost a uložení *testes*. Zatímco počet *testes* u *Gigantobilharzia huronensis* se pohybuje okolo 300, u některých zástupců rodu *Schistosoma* jich lze najít 30x méně. Po dosažení cílového místa dochází k sexuálnímu rozmnožování a následně k produkci vajíček. Rozdílná morfologie vajíček může být jedním ze znaků sloužícím pro určení druhu schistosom. Jejich heterogenita je dána především různou velikostí a délkou koncových výběžků společně s povrchovými, tj. například trnovitými strukturami u vajíček *Schistosoma mansoni* (Skírnisson a Kolářová 2008). Zároveň velice mezidruhově variabilní je množství oplodněných vajíček. Ta jsou z těla uvolňována společně s výkaly (*Schistosoma mansoni*), nebo s močí (*Schistosoma haematobium*). Pouze zhruba polovina vajíček savčích schistosom se dostane ven z těla hostitele. Druhá polovina zůstává uvnitř těla a vzniká lokální zánět, při kterém se okolo vajíčka tvoří granulom (Rollinson a Simpson 1987). Zachycení vajíček v tkáních může vést k mnoha patologickým účinkům. Například vajíčka *S. haematobium* způsobují hematurii, anémii a někdy i rakovinu močového měchýře. Obecně se pak onemocnění způsobené schistosomami značí pod názvem



schistosomóza či bilharzióza (Horák a kol. 2015). U nasálních druhů schistosom zůstávají vajíčka v nosní tkáni, kde se z nich po kontaktu s vodou líhnou miracidia. Okolo vajíček, která neopustí hostitele, jsou tvořeny granulomy. Zachycená vajíčka ve tkáni společně s velkými dospělci způsobují krvácení z nosní dutiny (Horák a kol. 1999).

### 3. ŽIVOTNÍ CYKLUS SCHISTOSOM V LABORATOŘÍCH

V případě dostupnosti kompatibilních mezihostitelů – plžů, a definitivních hostitelů – homoiotermních obratlovců, může být celý životní cyklus schistosom udržován v laboratorních podmínkách po mnoho let (Meuleman a kol. 1984). Proveditelnost těchto cyklů v laboratořích je však v některých případech snižována různými faktory. Horák a kolektiv (1999) označuje za hlavní omezující faktory 1) zákony o ochraně zvířat regulující nebo úplně zakazující jejich chov pro pokusy, a 2) problémový dlouhodobý chov některých mezihostitelských plžů. Například problémový chov *Radix auricularia* udržitelnost *T. franki*, protože je jediným známým mezihostitelským plžem (Bargues a kol. 2001).

#### 3.1. ZÍSK VAJÍČEK A MIRACIDIÍ, INFEKCE MEZIHOSTITELSKÉHO PLŽE

Oplozená vajíčka schistosom lze získat několika způsoby. První a rychlejší metodou je jejich získání přímo z tkáně nakažených definitivních hostitelů. Vajíčka *S. mansoni* jsou získávána z myších jater. Játra jsou homogenizována, promyta přes síto fyziologickým roztokem a zalita kohoutkovou vodou (Ashton a kol. 2001). V případě *T. regenti* jsou vajíčka, tedy miracidia, získávána výplachem nosní tkáně fyziologickým roztokem (Horák a kol. 2015). Druhou metodou je homogenizace sebraných výkalů definitivních hostitelů (Haas kol. 1995).

Výsledná suspenze je přefiltrována do kónické baňky s rozšířeným dnem a s dvěma hrdly, z nichž jedno vede do strany. Postranní vývod je poté osvětlen. Zatímco pevné částice stoupají na hladinu vrchního vývodu, miracidia se pohybují fototakticky k postrannímu vývodu (Haas a kol. 1991). Přítomnost miracidíí je poté kontrolována pod stereomikroskopem a následně jsou miracidia přenášena pomocí pipety do kultivačních jamek, kam byli dáni plži s malým množstvím vody. Poté jsou jamky přikryty víčkem, aby plži nemohli vylézat (Paraense a Corrêa 1989). Doba zanechání plžů v jamkách se různí a závisí především na době, kdy miracidia zůstávají infekční. Klíčovým faktorem majícím vliv na životaschopnost a infekčnost miracidíí je teplota. Ovlivňuje jejich metabolismus a tím i spotřebu glykogenu. Doba infekčnosti miracidíí ovlivňuje okolní teplota. Například u *S. mansoni* je tato teplota 20°C (Morley a Morley 2012). Nakažení plži jsou přemístěni do akvárií. Zvýšit úspěšnost infekce u plžů lze například zatemněním akvárií. Tma působí jako stresový faktor a tím dochází k oslabení imunitního systému plže. Výsledkem je usnadněný rozvoj sporocyst a tím zvýšená produkce cercárií (Tucker a kol. 2013).

Dalším způsobem nakažení plže je injekční podání miracidíí přímo do tkáně mezihostitele, aniž by docházelo k poškození miracidíí a plžů (Meuleman a kol. 1984). Jinou metodou je kultivace miracidíí *in vitro*. Během této metody jsou miracidia schopna plného vývoje mimo hostitele za pomoci kultivačního média, stimulující podmínky připomínající fyzikálně-chemické prostředí svého mezihostitele. Pro vývoj *S. mansoni in vitro* byly například použity tkáňové kultury zárodečných buněk mezihostitelského plže *B. glabrata* (Mellink a van den Bovenkamp 1985). Úspěšného vývoje se také dosáhlo použitím sníženého tlaku (Bixler a kol. 2001).

#### 3.2. ZÍSKÁVÁNÍ CERKÁRIÍ A INFEKCE DEFINITIVNÍCH HOSTITELŮ

K infekci definitivních hostitelů je nutné získat dostatečné množství cercárií z mezihostitelských plžů. Toho u fotosensitivních cercárií docílí umístěním jednotlivých plžů do nádob s vodou pod přímé světlo (Guttel a Ben-ami, 2014). Osvětlením a zvýšením vnitřní teploty plže se spustí rapidní uvolňování cercárií (Raymond a Probert 1987; Studer a Poulin 2014). Dalším způsobem je získání cercárií z dceřiných

sporocyst při pitvě plže, které se nejčastěji nachází v oblasti hepatopankreatu (Tucker a kol. 2013; Olivier a Mao 1949).

Výsledná koncentrace získaných cercárií se určuje pomocí disekčního mikroskopu (Graham 2003). V závislosti na druhu hostitele je důležité určit vhodnou infekční dávku cercárií, která se mění i s účelem infekce. Například pro výzkumy týkající se vzniku granulomů stačilo k infekci myši 30 cercárií *S. mansoni* (Yu a kol. 2016), ale za účelem většího zisku vajíček byla myš infikována 200 cercáriemi (Ashton a kol. 2001).

Existuje několik způsobů jak definitivního hostitele infikovat – přes pokožku, injekčně nebo orálně. Využitelnost těchto metod se mění s velikostí hostitelského obratlovce a s úspěšností infekce. Obecně nejvíce využívanými savci na experimentální účely jsou hlodavci, například myš, krysa, křeček apod. (Fryer a kol. 1990; Agrawal and Shah 1989; Lv a kol. 2016). U ptačích schistosom se k laboratorním účelům používá například kachna nebo kuře (*Anas platyrhynchos* f. *domestica* respektive *Gallus gallus* f. *dom.*) (Chanová a Horák 2007; Ito 1960). I přes velkou snahu, co nejvíce nahradit přirozeného hostitele laboratorními druhy, některé studie se bez těchto přirozených hostitelů neobejdou. Jako přirození hostitelé tak slouží ovce, selata, ale i člověk. Jako příklad studie závislé výhradně na specifickém hostiteli je výzkum penetrace lidských schistosom, během které byly využity vzorky lidské kůže (He a kol. 2003).

Infekci **přes pokožku** lze rozdělovat podle oblastí vystavených cercáriím. Mezi nejčastěji využívané metody nákazy u menších obratlovců patří infekce přes ocas. Hlodavec, například myš, je umístěn do speciální skleněné trubice hlavou nahoru tak, aby ocas volně visel do připraveného roztoku s cercáriemi (Da'dara a kol. 2016). Výhodou této infekce je možnost určit množství penetrovaných cercárií ihned po pokusu (spočítáním zbylých cercárií v připraveném roztoku). S použitím speciálně upravených nádob lze tuto metodu využít i na větší obratlovce, jako jsou králíci, selata a jehňata (Agrawal 2012). Kontrola množství penetrovaných cercárií je možná i u dalších metody - infekce přes nohy. Ta je nejčastěji využívanou metodou jak u savců, tak i u ptáků (Hrádková a Horák 2002; Chanová a Horák 2007; Leigh 1955). S pomocí igelitových pytlů přivázaných k nohám hostitele byla prováděna i u větších zvířat (Shristava a Agrawa 1999; Shames a kol. 2000). Dalším způsobem je infekce přes pokožku břicha za využití celkové anestezie (Haas a kol. 1991; Tucker a kol. 2013; Yu et al. 2016). Aby se zabránilo ulpění cercárií v chlupech (respektive v peří) a zvýšila se pravděpodobnost penetrace cercárií, je hostitel před infekcí v oblasti břicha oholen (oškubán). Poté je na kůži nanесena infekční dávka (Haas a kol. 1991; Leigh 1955). Infekce přes kůži se osvědčila i u větších zvířat, jako jsou kozy a ovce. Jedním ze způsobů jejich infekce je přiložení podtlakové nádoby společně s cercáriemi na hřbet uspaného zvířete (Agrawal 2012). Velmi účinná byla také infekce přes ušní boltce. Během této metody je roztok s cercáriemi přelit do igelitových pytlů, které jsou poté upevněny k hlavě hostitele (Shames a kol. 2000)

**Injekční podání** schistosom lze rozdělit do dvou metod – intraperitoneální a podkožní. Při intraperitoneální infekci jsou cercárie včetně ocásků injekčně vstříknuty do peritoneálního prostoru. Stejně tak mohou být cercárie injikovány přímo do svalů (Agrawal 1981). Vzhledem k tomu, že schistosoma ocásek při běžné penetraci odhazuje, je u obou případů injekčního podání stimulován imunitní systém hostitele. Z tohoto důvodu se injekční metody spíše nepoužívají (Tucker a kol. 2013; Haas a Haeberlein 2009).

Dalším způsobem infekce řadící se mezi méně využívané, je **orální infekce**. Nejčastěji se využívá u větších obratlovců. Během této infekce jsou cercárie naředěny velkým množstvím vody a celý roztok je vstříknut do ústní dutiny. Roztok je někdy předkládán i jako pitná tekutina (Chippaux a Sellin, 1999).

## 4. PLŽI JAKO MEZIHOSTITELÉ SCHISTOSOM

O schistosomách se dá spolehlivě říct, že kolonizovaly široké spektrum plžů jako mezihostitelských organismů (Brant a Loker 2013). Podle současných poznatků využívají savčí schistosomy během svého životního cyklu 3 čeledě plžů. Ptačí schistosomy jich využívají celkem 15 (Horák a kol. 2015). Zatímco většina ptačích a všechny savčí schistosomy jsou adaptovány na sladkou vodu, několik druhů ptačích schistosom je vázáno na mořskou vodu. Doposud není znám žádný životní cyklus, který by nebyl vázán na vodní prostředí a zahrnoval by tak suchozemské plže jako mezihostitele (Brant a Loker 2013). Částečnou výjimkou jsou mezihostitelští plži schopni nějaký čas přežít na souši. Takovým příkladem jsou mořští plži čeledí *Batillaridae*, *Nassariidae*, *Littoriniidae* a *Potamididae* žijící v přílivových oblastech. Tito plži tvoří poměrně různorodou skupinu mezihostitelů ptačích schistosom rodu *Austrobilharzia* a *Ornithobilharzia*. Definitivním hostitelem těchto schistosom jsou mořští ptáci, zejména dlouhokřídli (viz Tabulka 1). Dalším příkladem jsou "obojživelní" plži rodu *Oncomelania*, mezihostitelští plži *S. japonicum* (Attwood a kol. 2015). Jejich zástupci často obývají vlhké a bahnité povrchy, které mohou sezónně vysychat.

Vývoj schistosom zajišťují dvě hlavní linie plžů – Caenogastropoda a Heterobranchia. Heterobranchia zahrnují 2 skupiny plžů, známých jako zadožábří (Opisthobranchiata) a plicnatí (Pulmonata) (Blair a kol. 2002, citace dle Brant a Loker 2013). Jak už bylo zmíněno výše, savčí krevničky se celkově adaptovaly na 3 čeledě sladkovodních plžů, jednu z linie Caenogastropoda (Pomatiopsidae) a dvě z heterobranchiálních plicnatých plžů (Lymnaeidae a Planorbidae) (Lockyer a kol. 2003; Horák a kol. 2002). V případě sloních schistosom *Bivitellobilharzia* (s výjimkou *B. nairi* u nosorožců) není mezihostitelský plž doposud znám (Devkota 2014). Celkem 8 hlavních čeledí mezihostitelských plžů ptačích schistosom zahrnuje: 4 mořské čeledě caenogastropod (*Batillaridae*, *Nasarididae*, *Littorinidae* a *Potamididae*), 1 čeleď sladkovodních caenogastropod (*Pomatiopsidae*) a dále 3 sladkovodní plicnaté plže nadřádu heterobranchia (*Lymnaeidae*, *Physidae* a *Planorbidae*) (viz Tabulka 1) (Horák a kol. 2015). Mezihostitelští plži rodů *Allobilharzia*, *Jilinoibilharzia* a *Macrobilharzia* nejsou doposud známi. Velice zajímavý je případ ptačí schistosomy u kterého slouží jako mezihostitel mořský zadožábří plž *Haminoea japonicum* (Brant a kol. 2010). Molekulární analýzou je příbuzný spíše sladkovodním plicnatým plžům (Ponder a Lindberg 2000).

Specifita schistosom vůči čeledím plžů, či pouze jejich rodům se mezi schistosomami značně liší. Většina zástupců rodu *Schistosoma* je odkázána pouze na jednu čeleď. Někteří plži mohou sloužit jako mezihostitelé mnoha odlišným schistosomám. Zajímavé jsou především dvě čeledě plžů zahrnující rody *Biomphalaria* a *Indoplanorbis* čeledě Planorbidae a *Stagnicola* čeledě Lymnaeidae, které mohou být mezihostiteli ptačích i savčích schistosom (Brant a kol. 2006; Devkota a kol. 2014; Lockyer a kol. 2003). Dále se budu věnovat plžům čeledi Lymnaeidae.

### 4.1. LYMNAEIDAE JAKO MEZIHOSTITELÉ SCHISTOSOM

Čeleď Lymnaeidae neboli plovatkovití je velmi různorodá a celosvětově rozšířená skupina sladkovodních plžů. Pozornost této byla této čeledi proto, že, její zástupci mohou být mezihostitelem mnoha helmintů, která určitým způsobem koresponduje se schopností těchto plžů obývat vodní prostředí. Lymnaeidae slouží nejčastěji jako první nebo druzí mezihostitelé motolic (např. Schistosomatidae, Fasciolidae, Echinostomatidae) a v menší míře jako mezihostitelé hlístic a tasemnic. Plovatkovití se podílí na vývojovém cyklu nejméně 71 druhů motolic patřících do 13 různých čeledí (Brown 1978). Příkladem může být *Lymnaea stagnalis* ve které bylo nalezeno je 41 různých druhů cercárií, 17 v *Stagnicola palustris*, 31 v *Radix ovata*, 6 v *Radix auricularia* nebo 33 v *Radix peregra* (Faltýnková a kol. 2016; Erasmus 1976)

Lymnaeidae patří k nejvíce využívaným čeledím plžů schistosom (Lockyer a kol. 2003). Jako mezihostitelé slouží zástupcům rodů *Schistosoma*, *Heterobilharzia*, *Schistosomatium* a *Trichobilharzia* (Brant a Loker 2013). Někteří zástupci ptačích schistosom rodu *Trichobilharzia* jsou schopni se vyvíjet ve více druzích těchto plžů. Příkladem takového generalistického chování je *Trichobilharzia szidati* využívající

*Lymnaea stagnalis*, *Stagnicola palustris*, *Radix auricularia*, *Radix peregra* a *Radix ovata* (Horák a kol. 2015). Naopak *Trichobilharzia franki* pro svůj vývoj upřednostňuje pouze *Radix auricularia* (Bargues a kol. 2001). Mezi savčí schistosomy nalezené u plovatek patří *Schistosomatium douthitti* využívající plže *Catascopia* (Loker 1979). *Schistosoma incognitum* se vyvíjí v *Radix luteola*. (Lockyer a kol. 2003). *Galba cubensis*, *Fossaria humilis* a *Pseudosuccinea columella* slouží jako mezipřenositelé *Heterobilharzia americana* (Flowers a kol. 2002; Malek 1967). Některé schistosomy se za laboratorních podmínek dokáží adaptovat i na jiné „nestandardní“ mezipřenositele. Experimenty naznačují, že specifita schistosom vůči plžům vede k nízké úspěšnosti nákazy a stejně tak se snižuje permisivita plže. Například *T. regenti* se dokázala vyvíjet i v plži *Austropeplea tomentosa*, zatímco její přirození mezipřenositelé jsou zástupci plžů rodu *Radix* (Hurley a kol. 1994).

#### 4.1.1 CHARAKTERISTIKA PLŽŮ ČELEDI LYMNAEIDAE (PLOVATKOVITÍ)

Z hlediska morfologie a anatomie se jedná o plže s pravotočivě svinutou ulitou, obvykle vejčitého tvaru s výrazně rozšiřujícími se závitými směřem k ústí. Hrana ústí je pak většinou jednoduchá. Na poměrně malé hlavě se nachází krátká příústní makadla a široká nezatažitelná trojúhelníková tykadla, na jejichž bázi se nachází oči (spodnoocí - Basommatophora). Zrohovatělé okraje ústního otvoru tvoří čelisti, které využívají k uchycení potravy. K rozmělnění potravy pak slouží radula s mnoha řadami většinou stejných zubů (Mandahl-Barth 1962; Juříčková a kol. 2003; Hubendick 1951).

Téměř všichni zástupci čeledi Lymnaeidae se vyskytují v mělkých efemerních pomalu tekoucích nebo stojatých vodách (Alexander a kol. 1985). Výjimkou je například *Austropeplea viridis*, žijící ve vodě u pramenů, v malých potůčcích, zavlažovacích či odvodňovacích kanálech. Plovatky nejlépe prosperují zejména v eutrofních vodách, tedy ve vodách s vysokou primární produkcí a obsahem živin (Hubendick 1951). Právě podle svého rozšíření ve sladkovodním prostředí dostali své jméno odvozené z řeckého slova „*limne*“ značící rybník (Scott 1999). Největší diverzitu těchto plžů lze pozorovat v západní palearktické a východní nearktické oblasti (Baker 1911, citace dle Scott 1999; Jackiewicz 1998). Některé druhy této čeledě jako například *Galba truncatula* patří k nejběžnějším sladkovodním plžům v České republice. Zároveň jsou to plži schopní obývat velice různorodá prostředí od vysokohorských jezer až po místa vystavená vysokým teplotám (Scott 1999). *Lymnaea stagnalis lilianae* typicky obývá klidná místa rybníků. Byla nalezena v Ženevském jezeře v hloubce 250 m a na místech omývaných vlnami. Jednalo se o jeden nález. Lze tedy předpokládat, že se zde běžně nevyskytuje (Baker 1911, citace dle Scott 1999).

Stejně tak jako ostatní plicnatí, plovatky umí dýchat nejenom pomocí plicního vaku, ale i povrchem těla (Baker 1911, citace dle Scott 1999). Aby mohlo dojít k výměně plynů v plicním vaku, vylézají pravidelně k hladině, kde otvírají pneumostom pro přísun vzduchu. Přitom se udržují na povrchové blance vody pomocí svalnaté nohy. Tento typ dýchání jim umožňuje přežít ve vodách s nižší koncentrací kyslíku. Jsou to hermafrodité schopní samooplození, ale preferují spíše výměnu pohlavních buněk mezi dvěma jedinci. Následně kladou oplozená vajíčka v kokonech se slizovým obalem. Množství vajíček a počet snůšek je mezi plovatkovitými výrazně odlišné. Počet vajíček v jednom kokonu *Radix auricularia* se pohybuje okolo 100. *Catascopia occulta* je schopná jich naklást 6-30. Ve výběru potravy Lymnaeidae řadíme ke spásáčům neboli seškrabávačům živícím se řasami, živými i odumřelými částmi rostlin a detritem (Beran 1998). Právě kvůli dostupnosti potravy upřednostňují litorální oblasti, zejména pak místa s množstvím filamentární řasy, jako jsou například *Cladophora*, *Edogonium* atd. (Baker 1919, citace dle Scott 1999). Co se týče dožívání, Lymnaeidae patří spíše mezi krátkodobě žijící plže, jejich dospělci se dožívají zhruba 1-3 roku (Pfleger 1988). Mezi dlouhověké se řadí *L. stagnalis* s věkem okolo 3-5ti let (Piechocki 1979).

#### 4.1.2. SYSTEMATIKA A TAXONOMIE PLŽŮ ČELEDI LYMNAEIDAE

Diverzita čeledě Lymnaeidae (Pulmonata: Gastropoda) je odhadována přibližně od 100 do 250 existujících druhů (Strong a kol. 2008; Kruglov 2005). V průběhu 20. století vzniklo několik prací



zabývajících se příbuzenskými vztahy v čeledi. Druhová determinace byla prováděna zejména podle konchologických parametrů, tedy například podle poměru výšky a šířky ulity, jejího tvaru, podoby ústí atd. (Hubendick 1951; Glör a Meier-Brook 1998). Poměrně oblíbené bylo také určování podle anatomie a morfologie pohlavní soustavy, tj. například podle délky vývodů a velikosti penisu (Hubendick 1951; Jackiewicz 1998) nebo podle zbarvení pláště (Jackiewicz 1993). Systematika podle vnější morfologie se zdá být velice nepřesná, zejména protože morfologické parametry ulity závisí na ontogenetickém vývoji a podmínkách, ve kterých plž žije. Dosud byla většina rodových jmen založena spíše na fenotypových podobnostech než na evolučních a fylogenetických vztazích. Starší literatura uvádí například jen 1 nebo 3 rody čeledě Lymnaeidae (Walter 1968; Hubendick 1951).

Nejpřesnější taxonomie se odvíjí od molekulárních dat (Bargues a kol. 2001; Horák a kol. 1999; Vinarski 2013; Correa a kol. 2010 a 2011). Poslední studie byla založena na fylogenetické analýze 50 druhů lymneidních plžů z různých částí světa, během které byly sekvenovány 3 geny ribozomální DNA – intronové sekvence 2 genů (ITS-1 a ITS-2) a 1 gen 16S. Doložila existenci 3 hlavních taxonomických větví demonstrující jejich geografický původ (Amerika, Eurasie a Indo-Pacifická oblast). Bylo dokázáno, že druhy které byly doposud uváděny jako příbuzné, neodpovídají jejich fylogenetickým vztahům, vyjma rodu *Radix* (Correa a kol. 2010)

První větev (viz. Obr. 1, značena **zeleně V1**) zahrnuje všechny americké druhy a 2 druhy z Evropy (*Catascopia occulta*, *Galba truncatula*). Dále jsou rozeznávány dvě jeho podskupiny. Pod první z nich (viz Obr. 1, značena **hnědě V1a**) jsou zařazeni *Lymnaea diaphana* ze Severní Ameriky, jihoamerická *Stagnicola caperata*, evropská *Lymnaea occulta* (= *Stagnicola oculata* Meier-Brook a Bargues 2002; = *Catascopia occulta* Horsák a kol. 2013) a všechny další plži rodu *Stagnicola* ze Severní Ameriky. Druhou podskupinu (viz Obr. 1, značena **růžově V1b**) tvoří na jedné straně severoamerická *Lymnaea cousini*, jihoamerická *Fossaria obrissa* a *Lymnaea humilis* a na druhé straně evropská *Galba truncatula*, neotropická *Lymnaea cubensis*, *Lymnaea neotropica* a *Lymnaea viatrix*, jihoamerická *Fossaria bulimoides* a kolumbijské druhy *Lymnaea*.

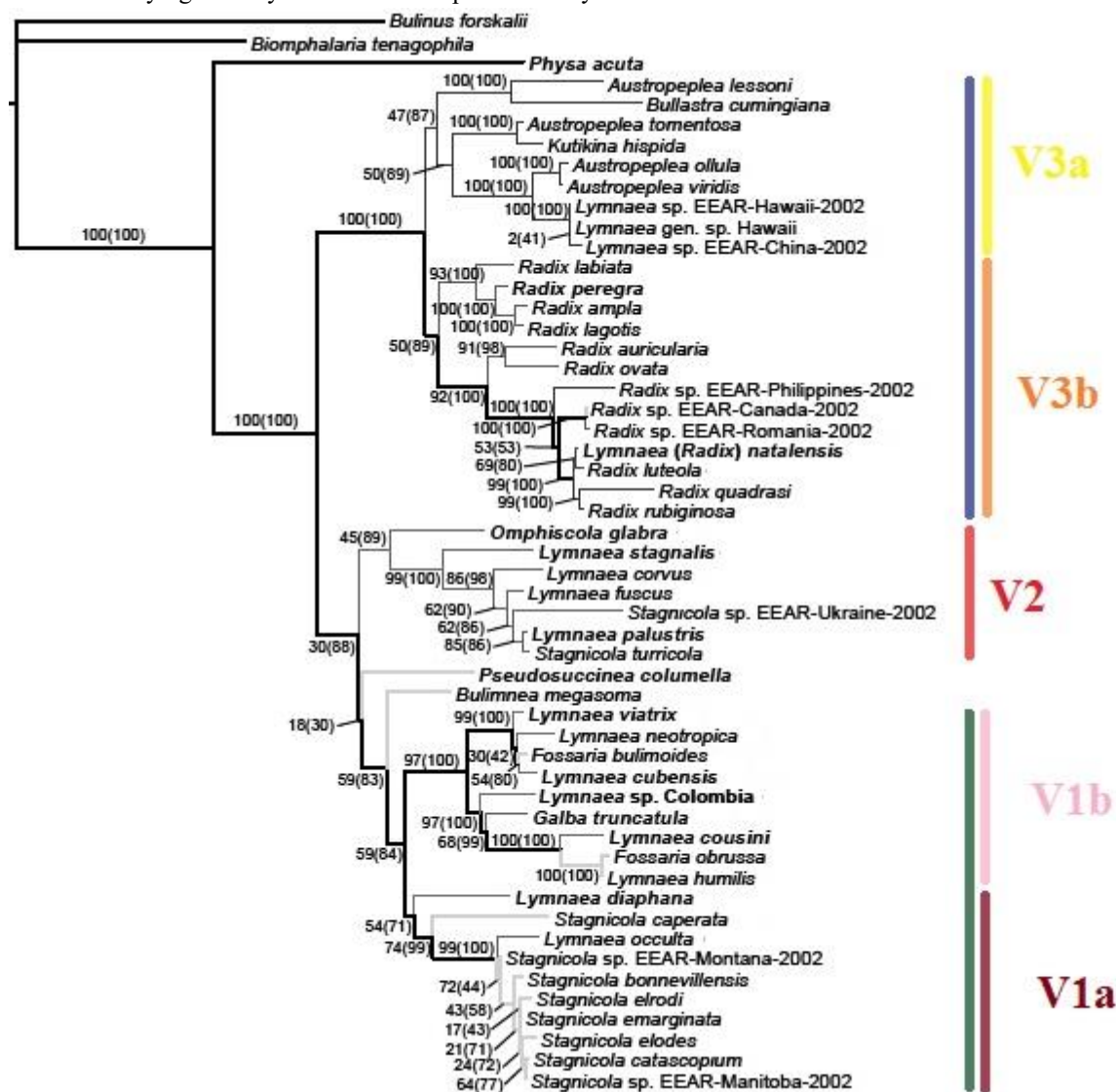
Druhá větev (viz Obr. 1, značena **červeně V2**) zahrnuje výhradně euroasijské druhy – *Omphiscola glabrata*, *Lymnaea stagnalis*, *Lymnaea corvus*, *Lymnaea fuscus*, druh *Stagnicola* z Ukrajiny (označený EEAR-Ukrajine-2002), *Lymnaea palustris* (= *Stagnicola palustris* Bargues a kol 2001) a *Stagnicola turricola*.

Třetí větev (viz Obr. 1, značena **modře V3**) tvoří všechny australsko-asijské rody, rod *Radix* a africká *Lymnaea natalensis*. Tento kmen dále zahrnuje dvě podskupiny. První podskupina (viz Obr. 1, značena **oranžově V3b**) slučuje na jednu stranu taxonomického stromu plže *Austropeplea lessoni*, *Ballustracumingiana*, *Austropeplea tomentosa*, *Kutikina hispidina*, *Austropeplea ollula* a *Austropeplea viridis*. Na druhé straně obsahuje druh *Lymnaea* nalezený v Číně (označen EEAR-China-2002) a druh *Lymnaea* nalezený na Havaji (značen EEAR-Hawaii-2002). Druhá podskupina (viz Obr. 1, značena **žlutě V3a**) mezi sebou taxonomicky spojuje všechny druhy *Radix* společně s *Lymnaea natalensis*, kteří dohromady utvářejí dvě monofyletické větve.

Většina izolátů z australsko-asijského kontinentu (*Austropeplea* spp., *Lymnaea* spp., *Ballustracumingiana*, *Kutikina hispidida*) tvoří první podskupinu 3. větve (viz Obr. 1, **V3a**). Výjimkou jsou australsko-asijské izoláty rodu *Radix* (*Radix quadrasi*, *Radix rubiginosa* a izoláty z Filipín). Ty jsou přiřazeny k dalším plžům rodu *Radix* z jiných kontinentů, přičemž všechny izoláty rodu *Radix* tvoří monofyletickou podskupinu taxonomického stromu (viz Obr. 1, **V3b**). Ze získaných dat vyplývá, že například doposud uváděný rod *Lymnaea* nebo *Stagnicola*, jsou polyfyletické taxony. V případě rodu *Stagnicola*, jsou od sebe odděleny americké a evropské druhy do dvou větví (viz Obr. 1, **V1a** a **V2**). Americké druhy jsou přiřazeny k plži *Lymnaea occulta* (viz Obr. 1, **V1a**). Evropské druhy (například

*Stagnicola palustris*) jsou přiřazeny k evropským druhům *Lymnaea* spp. (viz Obr. 1, V2). Co se týče nomenklatury, bylo by správné pojmenovat zástupce jednotlivých větví (podskupin) stejným rodovým jménem. V souladu se zásadami Mezinárodního kódu zoologické nomenklatury (International Code of Zoological Nomenclature) by se zástupci druhé větve měli jmenovat *Lymnaea* (viz Obr. 1, V2). Stejně tak by mělo dojít k přejmenování i ostatních větví (podskupin), vyjma podskupiny *Radix* spp (viz Obr. 1, V3b). V rámci první větve by se zástupci první podskupiny měli jmenovat *Catascopia* (viz Obr. 1, V1a) a zástupci druhé podskupiny *Galba* (viz Obr. 1, V1b). V rámci třetí větve by se zástupci druhé podskupiny měli jmenovat *Austropeplea* (viz Obr. 1, V3a)(Correa a kol. 2010; Correa a kol. 2011).

Obrázek 1 Fylogenetický strom 50ti zástupců čeledi Lymnaeidae



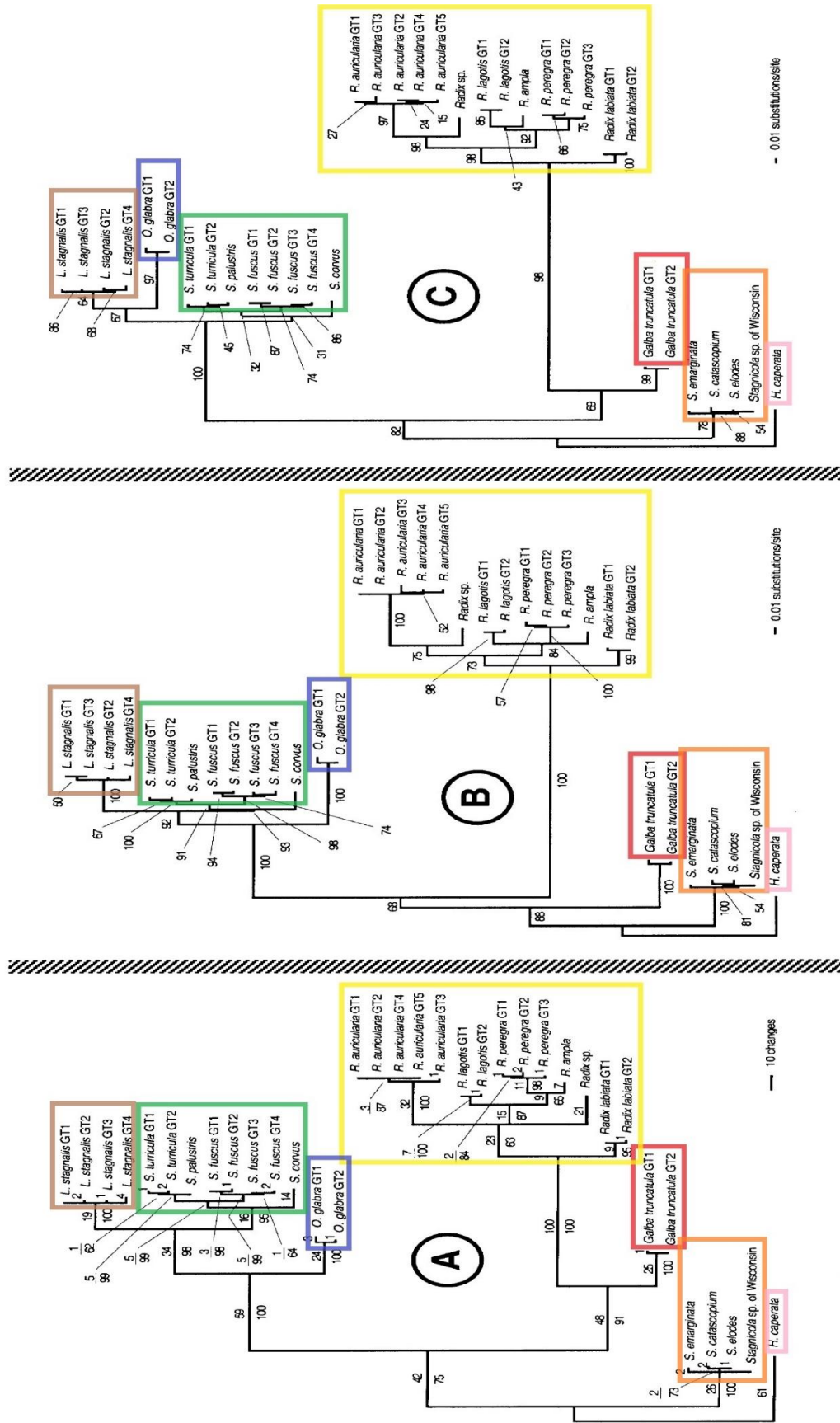
Obrázek byl převzat a upraven dle Correa a kol. (2010).

#### 4.1.3. SYSTEMATIKA A TAXONOMIE PLŽŮ ČELEDI LYMNAEIDAE VE STŘEDNÍ EVROPĚ

V kontextu fylogeneze lymnaeidních plžů byla v Evropě provedena zásadní studie založená na molekulární analýze několika izolátů ze Severní Ameriky a Evropy. Cílem bylo použito 66 populací zahrnujících 5 rodových taxonů *Lymnaea sensu stricto*, *Stagnicola*, *Omphiscola*, *Radix* a *Galba*. Pro tvorbu taxonomického stromu byl sekvenován gen 18S rRNA. I přes to, že tato a výše zmiňovaná studie se lišila

v sekvenovaných genech, utvořené taxonomické stromy se shodovaly. Některé populace plžů, které původně patřily do různých druhů, byly zařazeny do stejných větví. Izoláty původně tvořící jeden rod byly rozděleny.

Obrázek 2 Fylogenetický strom lymnaeidních plžů v rámci Evropy s basálním taxonem *Hinkleyia caperata*; (A), (B) a (C) značí různé metody utváření fylogenetického stromu



Příkladem shodného taxonomického řazení jsou plži z rodu *Stagnicola* a *Lymnaea*, tvořící polyfyletické taxony. Dalším příkladem stejného řazení je monofyletický rod *Radix*. Dalším rozdílem kromě sekvence rozdílných genů byl počet a původ použitých izolátů (Bargues a kol. 2001, Correa a kol. 2010).

Během této studie byly provedeny 3 fylogenetické analýzy. I přesto, že byly založené na rozdílných molekulárních aspektech, vzniklé fylogenetické stromy rozdělovaly plže do stejných větví. S použitím *Galba truncatula* a *Hinkleyia caperata* (viz Obr. 2, plži značení **červeně** respektive **růžově**) jako bazální taxon pro molekulární analýzu, byla zjištěna mezi lymnaeidními plži konzistentní fylogenetická topologie. Hlavní rozdíly byly v zařazení a zhuštěnosti vzniklých skupin a v umístění skupiny tvořené rody *Galba truncatula*. Ta se podle rozdílných aspektů nacházela buďto na bázi větve skupin *Radix* (viz Obr. 2, strom A), nebo byla na bázi hlavního dichotomického větvení (viz Obr. 2, strom C).

Ze získaných dat vyplývá, že všechny druhy rodu *Radix* (viz Obr. 2, značeny **žlutě**) tvořili jednu větev taxonomického stromu. Na rozdíl od evropských lymnaeidních plžů, tvořily severoamerické stagnicoly (viz Obr. 2, značeny **oranžově**) monofyletickou skupinu řazenou do rodu *Catascopia* (Correa a kol. 2010). Evropské druhy byly rozděleny do dvou skupin. První skupina byla tvořená izoláty *Galba truncatula* (viz Obr. 2, značení **červeně**). Ve druhé skupině evropských druhů, byli plži rozděleni do tří podskupin. První podskupinu tvořily druhy *Lymnaea sensu stricto* (viz Obr. 2, značeny **hnědě**), druhou druhy rodu *Stagnicola* (viz Obr. 2, značeny **zeleně**) a třetí tvořily druhy *Omphiscola* (viz Obr. 2, značeny **modře**) (Bargues a kol. 2001).

#### 4.1.4. SYSTEMATIKA A TAXONOMIE PLŽŮ ČELEDI LYMNAEIDAE NA ÚZEMÍ ČR

V České republice se vyskytuje pouze 5 rodů lymnaeidních plžů, tj. *Galba*, *Stagnicola*, *Catascopia*, *Radix* a *Lymnaea*. Do nedávné doby byl k těmto rodům řazen také rod *Myxas*, jehož zástupce *Myxas glutinosa* je více jak 50 let neznámý (Horsák a kol. 2013).

Rod *Galba* je zastoupen na našem území pouze jediným druhem *Galba truncatula*, jenž je hlavním přenašečem motolice *Fasciola magna*. Patří mezi nejhojnější české akvatické plže a je nejmenší plovátkou u nás (Horskák a kol. 2013).

Druhy rodu *Stagnicola* jsou od sebe morfologicky těžko rozlišitelné. Ve starší literatuře byl uváděn pouze jeden druh *Stagnicola palustris*. Poté byly popsány anatomické rozlišovací znaky, které rozlišily několik druhů. Díky molekulární analýze jsou popsány 3 u nás žijící druhy - *Stagnicola palustris*, *S. fuscus* a *S. corvus*. Zároveň byl z tohoto rodu vyčleněn plž *Stagnicola occulta*, který je nyní součástí nově vzniklého rodu *Catascopia* (Bargues a kol. 2001, Correa a kol. 2010)..

V minulosti byly popisovány 2 druhy rodu *Lymnaea* – *Lymnaea corvus* a *Lymnaea stagnalis* (Faltýnková 2005). Podle fylogenetických analýz byla *Lymnaea corvus* přiřazena pod rod *Stagnicola* a tedy přejmenována na *Stagnicola corvus* (Bargues a kol. 2001). Nyní je rod *Lymnaea* na našem území zastupován pouze jedním druhem, kterým je *Lymnaea stagnalis sensu stricto* (Horsák a kol. 2013; Bargues a kol. 2001). Tento plž patří k nejvíce rozšířeným druhům plžů v České republice. Na našem území slouží jako mezihostitel mnoha druhům motolic. Například slouží jako mezihostitel zástupcům čeledí Echinostomatidae, Plagiorchiidae, Diplostomidae, Notocylidae apod. (Našincová 1992). V rámci schistosom slouží *L. stagnalis* jako mezihostitel *Trichobilharzia franki* (Horák a kol 1998).

Co se týče rodu *Radix*, jeho zástupci jsou mezihostitelskými plži schistosom rodu *Trichobilharzia*. Například *Radix auricularia* a *Radix peregra* slouží jako mezihostitel *Trichobilharzia franki* a *Radix peregra* *T. regenti* (Horák a kol. 2015). Přesné taxonomické dělení do druhů zatím nebylo stanoveno a je stále otázkou diskuzí. Existuje mnoho přechodných forem mezi druhy, které není možné spolehlivě determinovat



na základě morfologických znaků. Spolehlivou možností je determinace na základě molekulárních znaků (Pfenninger a kol. 2006). Dle studie založené právě na fylogenetické analýze se na území Evropy vyskytuje 6 různých druhů rodu *Radix*, tj. *Radix auricularia*, *Radix ampla*, *Radix peregra*, *Radix labiata*, *Radix lagotis* a *Radix sp.* (Bargues a kol. 2001). *Radix labiata* byl molekulární analýzou oddělen od skupiny plžů popisovaných původně jako *Radix peregra*. Dříve odlišované druhy *Radix ovata* a *Radix balthica* jsou nově synonymizovány jako *Radix peregra* (Muñoz-Antoli a kol. 2007). Avšak existují data, která od sebe oddělují druhy *Radix ovata* a *Radix peregra*, protože jejich juvenilní stádia vykazují při stejných podmínkách různou míru růstu a také se odlišují ve vývoji rozmnožovacích orgánů (Wullschleger a Jokela 2002). Navíc *Radix balthica* a *Radix ampla* byly dlouho považovány za formy případně poddruhy *Radix labiata* (Horsák a kol. 2013).

Podle molekulární analýzy provedené na vzorcích plžů České republiky byl potvrzen výskyt 4 druhů rodu *Radix*, tj. *Radix auricularia*, *Radix lagotis*, *Radix peregra* a *Radix labiata* (Huňová a kol. 2012). Na našem území by se měl podle některých poznatků vyskytovat i další druh, *Radix ampla*. Jedná se však o velmi vzácný druh a proto nebyl do této studie zahrnut. Čeští malakologové neuznávají *Radix lagotis* za samostatný druh a považují ho pouze za formu *Radix labiata* (Horsák a kol. 2013). Nicméně toto taxonomické dělení rodu *Radix* se zdá být zatím přechodné a mělo by být dále ověřováno.

## 5. EKOLOGICKÉ A NUTRIČNÍ NÁROKY PLŽŮ

Pro všechny plže platí, že podmínky prostředí, ať už abiotické (voda, tlak, sluneční svit, atd.) či biotické (predace, kompetice, atd.), mají velký vliv na fyziologii jedince, případně i jejich parazita (Steinauer a Bonner 2012). Změny těchto podmínek, jako je nedostatek živin, změna teploty, predace, parazitismus atd., se u plže projevují produkcí stresových hormonů, které přímo ovlivňují jeho imunitní systém (Marketon a Glaser 2008). V této práci se budu zabývat ekologickými a nutričními nároky, které ovlivňují schopnost přežití plžů čeledi Lymnaeidae.

### 5.1. EKOLOGICKÉ NÁROKY PLŽŮ ČELEDI LYMNAEIDAE

Mezi nejdůležitější abiotické faktory pro Lymnaeidae patří **voda**, kde prodělávají celý svůj životní cyklus (Pfleger 1988). Na plže ve vodě působí několik fyzikálně-chemických faktorů. Mezi ně se řadí pH, teplota a obsah rozpuštěných látek. Dohromady vytvářejí unikátní podmínky, které jsou důvodem rozsáhlé diverzity plžů. Například na rozšíření rodu *Lymnaea* mají vliv zejména ionty chlóru (Cl), magnesia (Mg), vápníku (Ca) a těžké kovy. Jsou to prvky (sloučeniny) ovlivňující homeostázi plže (Raut 1996; Brix a kol. 2012).

Množství minerálních látek ve vodě, především chloridu sodného (NaCl) - **salinita**, se značně liší region od regionu, a stejně tak lze nalézt velké fluktuace mineralizace během roku. Důležitou adaptací vodních plžů na tento faktor je schopnost osmotické a iontové regulace. Tato schopnost umožňuje plžům se do určité míry přizpůsobit měnící se salinitě (Zinchenko a Golovatyuk, 2013; Al-Yaquob 2011). Tolerance plžů se pohybuje mezi 2,7 až 32,1 g/l (Rutherford a Kefford 2005). Vhodná salinita u *Radix auricularia* byla stanovena na 1-2,5 g/L (Al-Yaquob 2011). Větší či naopak menší koncentrace minerálních látek se podepisuje na fekunditě a životaschopnosti dospělců, přičemž rozsáhlejší vliv má na vývoj zárodků (Ntonifor a Ajayi 2007; Al-Yaquob 2011). Obecně plicnatí jsou schopni klást vajíčka už při velice nízké salinitě o hodnotě 0,5 – 1,0 g/l, avšak se značným poklesem jejich množství (Metz 1973, citace dle Al-Yaquob 2011). Naopak v hypertonickém prostředí, nedochází ke snižování početnosti vajíček ale k jejich poškozování. Při vystavení vajíček plže *Bulinus abyssinicus* hypertonickému prostředí docházelo ke ztrátám obsahu vody ve vaječné mase, což způsobovalo jejich sníženou schopnost líhnutí (Dagal a kol. 1986).

Na rozdíl od salinity, hodnota **pH** v přirozených podmínkách výrazně nefluktuuje. V ideálním prostředí pro lymneidní plže se jeho hodnota pohybuje okolo 7-8. Během pokusů s *Radix auricularia* bylo

dokázáno, že tolerance vůči pH vody se u jednotlivých stádií plžů neliší. K vývoji embrya tak docházelo při jakémkoliv stupni pH, které přežili i dospělí jedinci. Jediný rozdíl byl v trvání vývoje embrya, který se prodlužoval. (Al-Yaquob 2011; Diaw a kol. 1986).

Velmi důležitá je pro vývoj plže **teplota**. V přírodě se plži dokáží fluktuaci teploty přizpůsobit (například zalézáním do hlubších vod), ale v laboratorních podmínkách toho nejsou schopni. Ve studiích byly postupně porovnávány výsledky vystavení plžů různým teplotám. Nízké teploty způsobily u plžů rodu *Lymnaea* snížený příjem potravy. Při vystavení vyšším teplotám jednotlivá vývojová stadia vykazovala různé vzorce chování (Aziz a Raut 1996; Boon-Niermeijer a Scheur 1984). Nejvíce byla ovlivněna stadia plžů, u kterých teprve začínaly pracovat orgány. Míra mitózy v tomto období způsobuje u plžů zvýšenou citlivost na teplotu. Při teplotě 40°C je tak schopno přežít pouze 10 % třídních a čtyřdních stádií *Lymnaea stagnalis* (Boon-Niermeijer a Scheur 1984).

Teplota vody úzce souvisí s dalším fyzikálním faktorem, kterým je **parciální tlak kyslíku**. Během letních měsíců dochází ve vodě k jeho snižování. To vede ke vzniku hypoxického prostředí. Dospělci *L. stagnalis* se umí vyrovnávat s takovým prostředím zvýšením ventilace u hladiny. Pokud se plži nachází v prostředí bez přístupu vzduchu, jsou schopni získávat kyslík kožním dýcháním (Hermann a Bulloch 1998). U vajíček byla za stejných podmínek pozorována rychlost rotace embryí uvnitř slizového obalu. Touto rotací pravděpodobně rozvířují okolní tekutinu a tím dochází k usnadnění difúze kyslíku (Goldberg a kol. 2008). Při skoro 100% hypoxii (0,5 mg O<sub>2</sub>/l) jsou vývojově starší embrya schopna zvýšit rychlost této rotace. Naopak u mladších stádií se rychlost nemění (Byrne a kol. 2009).

Dalším faktorem vody je její **tvrdost** vyplývající z přítomnosti alkalických kovů. Tvrdost vzniká v důsledku rozpouštění půdních minerálů a hornin a v menší míře přímou kontaminací odpadními látkami (Wurts 1993, citace dle Oliviera-Filho 2014). Podle koncentrace hořčíku a vápníku lze tvrdost vody rozřazovat do následujících skupin: velmi tvrdá (>3,76 mmol/l), tvrdá (2,51-3,75 mmol/l), středně tvrdá (1,26-2,5 mmol/l), měkká (0,7-1,25 mmol/l) a velmi měkká (<0,7 mmol/l) (internetová stránka č. 2). Je řazena do několika stupňů podle Zvýšená tvrdost vody přináší plžům mnoho výhod. Jednou z výhod je, že tvrdší voda je pro plže méně toxická (Ebrahimpour a kol., 2010). Tento efekt je dán kompeticí mezi kovy a kalcium o ionty a jiné vazebné ligandy (Di Toro a kol, 2001). Příkladem je snížené množství rozpuštěného stříbra nebo mědi v tvrdé vodě, které patří mezi toxické látky pro mnoho vodních organismů (Stoiber a kol, 2014).

**Vápník** je rozhodujícím prvkem v životě plžů, u kterých se podílí zejména na výstavbě schránek a je součástí mnoha fyziologických procesů. Například v podobě Ca(HCO<sub>3</sub>)<sub>2</sub> slouží jako pufr v hemolymfě (Marxen a Becker 2000). Společně se sodíkem hraje důležitou roli v přenosu nervově-svalového vzruchu (Zsombok a kol. 2000, citace dle Zbikowska 2003). V hojné míře se vápník vyskytuje v bílkových žlázách, kde je součástí perivitelinu vajíček (Mazuran a kol. 1999). Sladkovodní plži přijímají vápník z 80 % z vody, zbylých 20 % získávají z potravy (Young 1975). Množství rozpuštěného vápníku ve vodě se v průběhu roku značně mění. K největšímu poklesu koncentrace dochází v létě (Kajak 1998). Díky rostoucí teplotě během tohoto období se u plžů zvyšuje míra metabolismu, vedoucí k jeho větší spotřebě. Bylo však prokázáno, že saturace hemolymfy plžů zůstává stále stejná, díky spotřebě vápníku uvolňovaného z ulity a epitelu pláště. V opačném případě je přebývající vápník ukládán zpět do ulity (De With a Sminia 1980). Dalším důvodem pro ukládání vápníku do ulity je ochrana před predátory. Zvýšené množství vápníku v ulitách v závislosti na přítomnosti predátora bylo pozorováno u levatky *Physa acuta* (Bukowski a Auld 2014). Ke stejnému výsledku docházelo i u okružáka *Helisoma anceps* (Hoverman a kol., 2014). Vlivem predátora na plže *Lymnaea stagnalis* se zabýval Dalesman a jeho kolegové (2015). Zatímco větší plži investovali vápník do stavby schránky, nově vylíhnutí jedinci se pouze predátorům vyhýbali. Díky větší investici vápníku do mobility dosahovali juvenilové menší míry růstu než kontrolní skupiny plžů. Knezevic a

kolektiv (2011) prováděl pokusy s plži z rodu *Lymnaea*. Zabýval se závislostí koncentrace vápníku na jejich míře učenlivosti. Z jeho pokusů vyplývá, že nízká koncentrace vápníku v prostředí funguje u tohoto rodu jako stresový faktor, který zvyšuje schopnost dlouhodobé paměti a rychlejší učenlivosti plžů. Naopak při standartních podmínkách (80 mg/l Ca<sup>2+</sup>) rychleji zapomínali.

**Měď, zinek, olovo** a další kovy jsou velmi důležitými prvky v metabolismu živočichů. Jakékoliv větší množství je pro vodní organismy toxické. Poslední studia ukázala, že *Lymnaea stagnalis* patří mezi nejcitlivější organismy na přítomnost těchto kovů. **Olovo** ovlivňuje koncentraci Ca<sup>2+</sup>, Cl<sup>-</sup> a Na<sup>+</sup> v homeostázi plže. Mechanismus této sensitivity spočívá v mimořádné citlivosti plžů na příjem Ca<sup>2+</sup> pro metabolické využití, která je za přítomnosti olova inhibována (Grosell a Brix 2009). Výsledkem je spuštění kaskád vedoucích k acidobazickým poruchám v homeostázi plže (Brix a kol 2012). Inhibice příjmu Ca<sup>2+</sup> má za následek nižší míru růstu u nově vylíhnutých jedinců a zvýšenou letalitu dospělců (Brix a kol. 2012; Borgmann a kol. 1946, citace dle Grosell a Brix 2009; Robert a Kevin 2006).

Dalším velmi toxickým kovem je pro *Lymnaea stagnalis* **měď**. Přirozené množství mědi ve vodním prostředí je 2-3 µg/l (Wedepohl 1970, citace dle Das a Khangarot 2011). Má vliv na osmotický tlak hemolymfy. Příčinou je pravděpodobně snížená koncentrace Na<sup>+</sup>. Narušení homeostáze se projevuje i na množství CO<sub>2</sub> v hemolymfě a jejím pH, současně s redukcí exkrece amoniaku (Brix a kol. 2011). Sekundárně je ovlivněno i množství Ca<sup>2+</sup>, které vede k nižší míře růstu juvenilů a dospělců, a neschopnosti vývoje vajíček (Ng a kol. 2011). Das a Khangarot (2010) pozorovali sníženou velikost juvenilních stádií při koncentraci 8 µg/L současně s inhibicí vývoje embryí při 14 µg/l. Při další studii vystavili plže koncentraci 10 µg/l, při které sledovali navíc snížený příjem potravy a fekundity (Das a Khangarot 2011). Daleko vyšší koncentrace stanovená na 48 µg/l ovlivňovala i dospělé (Brix a kol. 2011). Při nákaze *Lymnaea. lutolea* byl prokázán vliv mědi také na chemorepcepci, pohyblivost a příjem potravy (Das a Khangarot 2011). Pokud je však *L. stagnalis* vystavena chronické toxicitě po delší dobu, dochází k postupné detoxikaci (Ng a kol. 2011). Za „normálních“ podmínek je měď pro plže velmi důležitým prvkem. 2 atomy mědi jsou součástí hemocyaninu, krevního barviva u plžů, které má stejnou funkci jako hemoglobin u obratlovců. Atomy mědi dokáží reverzibilně vázat kyslík a a hemolymfou ho rozvádí po těle plžů (Soucek a Dickinson 2012)

**Kadmium** se přirozeně vyskytuje v půdě a vodě v malých koncentracích (0,01 µg/l). Během posledního století jeho množství rapidně vzrostlo a začalo se řadit mezi znečišťující látky. V případě *Lymnaea stagnalis* jde o další výrazně toxický prvek ovlivňující její schopnost přežití (Gomot 1998). Při zvýšených koncentracích kadmia se ve tkáni plže akumulují proteiny vázající kovy, které jsou jinak označovány jako „methallothionein-like proteins“ (MTLPs). Tyto proteiny hrají důležitou roli v homeostázi esenciálních kovů jako je zinek a měď, a detoxifikaci kovů zahrnujících kadmium a rtuť (Dalinger a kol. 1997). Příkladem je až dvojnásobná koncentrace zinku a chromu ve tkáni *L. stagnalis*, která byla vystavena koncentraci kadmia o hodnotě 1000 µg/l (Leung a kol. 2003). Zatímco koncentrace 10 µg Cd/l ještě nijak *L. stagnalis* neovlivňuje, rostoucí koncentrace (32 µl/l) způsobuje vyšší mortalitu, snížení fekundity a inhibuje růst a příjem potravy (Das a Khangarot 2011).

V přírodě je organický **dusík** přeměňován mikrobiální činností na amoniak, který je následně přeměňován na jeho deriváty. Díky urbanizaci a zemědělství se do vodního prostředí dostává velké množství anorganického dusíku, rozšířeného nejvíce v podobě nitrátu (NO<sub>3</sub><sup>-</sup>) a v menším měřítku v podobě amoniaku (NH<sub>4</sub><sup>+</sup>) a nitritu (NO<sub>2</sub><sup>-</sup>) (Camargo a Alonso 2006; Stanley a Maxted 2008). Zvyšující se koncentrace derivátů dusíku, především množství disociované formy amoniaku hraje výraznou roli v toxicitě vody (Soucek a Dickinson 2012). Během pokusu na senzitivitu plžů byli týden staří jedinci *L. stagnalis* vystaveni amoniaku o různé koncentraci. V porovnání s kontrolní skupinou, vykazovali tito plži při koncentraci 7,9 mg/l menší míru růstu, zatímco mortalita se neměnila. Dosud však nebyly provedeny výzkumy s vyšší koncentrací amoniaku nebo s dospělými jedinci (Besser a kol. 2016).

## 5.2. NUTRIČNÍ NÁROKY LYMNAEIDAE

V případě nutričních nároků se sladkovodní plži od svých suchozemských příbuzných liší především v poměru esenciálních prvků v potravě. Mezi ně patří uhlík, fosfor a vodík, což jsou základní stavební prvky každého organismu. Ovlivňují produkci, koloběh živin v přírodě a dynamiku potravních sítí (Elser a kol. 2000). Dle experimentálních pokusů víme, že C:N:P poměr má jistý vliv na míru růstu či reprodukční úspěch konzumenta (Sterner 1993). Nutriční kvalita potravy, tedy poměr elementárních prvků, v průběhu sezóny výrazně fluktuuje. V mnoha případech je však těžké odlišit efekt kvantity od kvality potravy na fitness daného jedince (Sterner and Schulz 1998).

Plži jsou schopni udržovat homeostázi těchto tří prvků po celý rok. Příkladem je rod *Radix* spásající perifyton. Dokáže kompenzovat nedostatek kvalitní potravy její kvantitou a udržet si stejný C:N:P poměr v měkkých tkáních (Calow 1970, citace dle Sgoog 1978). V případě sladkovodního ekosystému je primární produkce limitována fosforem, jehož množství se oproti dusíku během roku zásadně mění. Zatímco naměřené poměry C:P v perifytonu sezónně fluktovaly mezi hodnotami 300-1200, poměr C:N zůstával okolo 40 (Fink a Elert 2006). Na důležitosti fosforu přibývá s faktem, že rychleji rostoucí organismy mají větší množství RNA hojně obsahující fosfor, než pomalu rostoucí jedinci (Elser 2003). Výsledkem nedostatku na fosfor-bohaté potravě je redukce růstu či snížená reprodukční fitness na úkor udržení vnitřní homeostáze (Fink a Elert 2006; Sgoog 1978).

Změny nutričních hodnot potravy přímo korelují s její dostupností a díky tomu se během roku potravní specializace plžů mění. Z toho vyplývá, že ani v jednom případě se plž neživí pouze jedním druhem stravy (Brendelberger 1995). Potravní preference značně koreluje s množstvím dusíku a C:N poměrem. Příkladem jsou plži rodu *Radix* upřednostňující dubové listí s vysokým poměrem C:N (24) a 2% dusíku namísto bakterií obsahujících až 8% dusíku a C:N poměrem o hodnotě 5,7. Při výběru vhodné potravy je chování plžů podmíněno chemickými stimuly, jako jsou aminokyseliny, cukry a fenoly (Masterson a Fried 1992; Norton a kol. 1990). Jelikož výzkumy zdaleka neposkytují informace o přesných potravních preferencích, jako nejlepší metodou pro její zjištění se jeví rozbor natrávenin z trávicí soustavy plže (Sgoog 1978). Dalším možným východiskem by byly komplexnější pokusy na potravní specifitu, které však z důvodu změny prostředí nemusí plně odpovídat skutečnosti (Lach a kol. 2001). Vzhledem k sezónním změnám se Lymnaeidae živí nejčastěji zmíněným rostlinným perifytonem, řasami, detritem, opadem ze stromů v okolí vodních ploch a s tím spojenými houbami. Díky schopnosti trávit celulózu se mohou živit i namočeným papírem (Pfleger 1988).

## 6. CHOV PLŽŮ V LABORATORNÍCH PODMÍNKÁCH

Udržování populace šneků v laboratorních podmínkách sebou přináší spoustu výhod. Tyto výhody tkví především v možnosti pokusů ke zjištění kompatibility jednotlivých druhů plžů v rámci interakce schistoma-mezihostitelský plž a v neustálém přísunu nových jedinců. To vede k možnosti zachování životního cyklu schistosom v laboratoři, kdy jednotlivá stádia krevniček mohou sloužit k dalším pokusům. Důležitým aspektem při chovu plžů je udržování podmínek co nejvíce odpovídajících přirozenému prostředí. Jakákoliv změna v ekosystému může být následována fyziologickými a behaviorálními změnami. U plžů se například projevuje změnou v potravní specifitě, vyšší úmrtností, snížením fekundity atd. (Lach a kol. 2001).

### 6.1. SBĚR PLŽŮ

Při sběru plžů je vhodné řídit se základními pravidly jako je volba vhodné lokality, načasování atd. Plži se po většinu času zdržují v okolí vegetace zajišťující jim bohatý přísun potravy. Zároveň je místem kladení vajíček nebo jako je tomu u čeledi Lymnaeidae, slouží jako „žebřík“ při výstupu k vodní hladině (Scott 1999). Aktivita plžů během dne značně fluktuuje. K největšímu nárůstu aktivity dochází v průběhu ranních hodin (Agrawal 2012). Také populace lymnaeidních plžů vykazuje během roku lehké výkyvy. Na



jejich denzité má vliv hned několik faktorů, zejména parazitismus, dostupnost potravy, klimatické podmínky jako například teplota a světelný režim, a schopnost plžů na ně reagovat. Díky vysoké míře rozmnožování v jarním období dochází k nárůstu populace, která během léta jen mírně fluktuuje. S příchodem deštivého období koncem léta se začíná denzita opět zvyšovat. Kriticky se snižuje až v během zimního období kdy většina dospělců umírá z důvodu nízkých teplot (Pfleger 1988; Rosemond 1994; McCraw 1961). Nejlepší dobou pro sběr je tedy vlhké období koncem léta vyznačující se největší populační hustotou. V tomto období totiž dochází k současnému rozmnožování dvou generací – podzimní z minulého roku a jarní (Pfleger 1988). Pro sběr plžů nakažených krevničkami, je vhodné vybírat lokality, které jsou často navštěvované jejich definitivními hostiteli (Agrawal 2012). Samotný sběr je prováděn pomocí různých technik, například nejručnějšími sítěmi nebo ručně (Leighton a kol. 2000; Nakadera a kol. 2015; Byrne a kol. 2009). Co se týče vajíček, provádí se sběr celých kokonů společně s vegetací, na kterých byly nalezeny (Lach et al. 2001). Zamezí se tak jejich poškození. Velmi vhodné je při pohybu ve vodě, která by mohla obsahovat cercárie, užívat ochranné pomůcky jako například holínky, rukavice apod. (Ntonifor a Ajayi 2007).

## 6.2. CHOV PLŽŮ

**Voda**, její teplota a kvalita je zásadním faktorem při chovu plžů a laboratoře se v mnoha ohledech liší při její přípravě. Nevhodné vodní podmínky se u plžů projevují sníženým příjmem potravy a pohyblivostí, a také zvýšenou mortalitou. Nejvíce se pro chov využívá kohoutková voda nebo voda z rybníků, kde byli šneci sbíráni. Využíváním rybníční vody se lze vyhnout jakékoliv její předchozí úpravě a také lze zkrátit dobu aklimatizace plžů v laboratoři, která v některých případech může trvat i týdny (Shostak a Esch 2016; Aziz a Raut 1996) Voda z kohoutku obsahuje velké množství chlóru, a aby se jeho koncentrace omezila, nechává se voda odstát nebo je filtrována přes uhlíkový filtr (internetová stránka č. 3). Další alternativa kohoutkové vody je nazývána „aged tap water“. Jedná se o kohoutkovou vodu filtrovanou přes uhlíkový filtr a několik dní provzdušňovanou vzduchovacím filtrem (Cohen a kol. 1980). V malém měřítku je využívána komerčně dostupná balená „pramenitá“ voda, jejíž pořízení je však finančně nákladné a tudíž je pro dlouhodobý chov nevhodná (Lewis a kol. 1986). Některé laboratoře chovají plže v minerální vodě někdy nazývané jako „snail water“. Připravují ji smícháním destilované vody s chloridem vápenatým, pentahydrátem síranu hořečnatého, síranu vápenatého, roztoku hexahydrátu chloridu železitého a hydrogenuhličitanu sodného. Připravení této vody je časově náročnější a proto se také moc nevyužívá (Tucker a kol. 2013).

Indikátorem vody vhodné pro plže je koncentrace **vápníku**. Bylo prokázáno, že velikost, tloušťka ulity a fekundita plže *B. glabrata* stoupá s přibývajícím vápníkem ve vodě (Thomas a kol. 1974). Tuto informaci lze zobecnit na všechny plže, protože vápník je zásadním prvkem v jejich životě. Proto je velice důležité ho ve vhodných dávkách přidávat do chovné vody. Pro přípravu vody o vyšší koncentraci (standartní koncentrace 80 mg Ca<sup>2+</sup>/l) se do vody přidává ve vhodném poměru nejčastěji síran vápenatý nebo uhličitan vápenatý (Cohen a kol. 1980; Lewis a kol. 1986). Namísto chemicky připravovaných látek lze vodu obohacovat o vápník i rozdrčenými ulitami plžů nebo schránkami ústřic (McCeesh. 2014; Shartau a kol. 2010). Dalším přírodním zdrojem vápníku použitelným v akváriích je křída (Ulmer 1970). Při jeho používání úroveň vápníku v hemolymfě plžů *B. glabrata* se v porovnání s kontrolními skupinami rapidně zvýšila (Chernin 1963).

**Kvalita vody** je výrazným aspektem chovu plžů. Například znečištěná voda může u plžů oslabovat jejich imunitní systém (Skála a kol. 2013). Také bylo dokázáno, že trus šneků je zdrojem trávicích peptidáz (krypsinu), které se ve vodě mohou vyskytovat i při vysokých koncentracích (Klimpellová 2007). Z tohoto důvodu je velice důležité udržovat čistotu vody, která může být zajišťována několika způsoby. Jako nejjednodušší se zdá výměna vody. Frenkvence její výměny závisí především na množství nahromaděných odpadních produktů, které by mohly plžům škodit. Zatímco některé laboratoře se přiklánějí k nahrazení

celého objemu, některé ji vyměňují pouze po částech pro lepší aklimatizaci plžů (McCreesh 2014; internetová stránka č. 4). Zejména škodlivé jsou měkké tkáně mrtvých šneků sloužící jako substrát pro bakterie a protozoa. Mrtví plži by tak měli být pravidelně odstraňováni (Lewis a kol. 1986; McCreesh a kol. 2014). Pro dlouhodobější účinek výměny vody lze větší částice, jako jsou schránky nebo zbytky potravy odsávat sací hadicí. Koncentraci menších částic lze regulovat použitím akvarijních filtrů (McCreesh 2014; internetová stránka č. 4). S čistotou vody koresponduje hodnota pH, množství rozpuštěného kyslíku, amoniak a další toxické sloučeniny dusíku. Všechny tyto parametry vody mají vliv na imunitní systém plže a pravděpodobně by mohli mít vliv i na infekci schistosomami. Pravidelnou údržbou akvárií lze docílit vhodného pH pohybujícího se u lymnaeidních plžů okolo 7,7. K udržení parciálního tlaku kyslíku jsou nejvíce využívány vzduchovací kompresory (Ng a kol. 2011).

Vhodná **teplota** vody se u plžů druhově liší. Zatímco pro tropického plže rodu *Biomphalaria* se udržuje okolo 26°C, u čeledi Lymnaeidae se pohybuje okolo 21°C (Eveland a Haaseb 2011; Das a Khangarot 2011; Coeurdassier a kol 2004; Leung a kol. 2003). V místnostech, kde není snadné udržovat stálou teplotu vody lze použít například akvarijní ohřivače, nebo případně využít inkubátory (Eveland a Haaseb 2011).

Velmi důležité je udržování **světelných podmínek**. Bylo zjištěno, že sladkovodní plži potřebují alespoň 8 hodin světla pro rozmnožování (Webbe a James 1971). V laboratořích je nejvíce využívaným způsobem iluminace střídání 12-ti hodinového intervalu světla a tmy. Méně často je světelná fáze prodlužována na 14 nebo až 16 hodin (Eveland a Haaseb 2011; Coeurdassier 2004; Leung a kol. 2003). Velice jednoduchým způsobem osvětlení v laboratořích jsou žárovky o různé výkonnosti, které jsou často doplňovány o fluorescenční svítidla (Mangal a kol. 2010; Besser a kol. 2016). Některé laboratoře namísto umělého osvětlení upřednostňují přirozené světlo a ponechávají akvária za mírně tlumenými okny. Z hlediska prostoru je tato metoda méně využívaná. Navíc během zimního období by se světelná doba zkracovala a akvária by se musela pro plynulý chov dosvětlovat (Jokinen 1978).

K lepší **aklimatizaci** plžů jsou do akvárií přidávány další přírodní komponenty, jako jsou rostliny, substrát a ojedinele i ryby nebo vodní brouci. Substrát používají laboratoře jen výjimečně. Jsou však poznatky, které dokazují, že lymnaeidní plži potřebují částice písku ke správnému zpracování potravy v žaludku (Noland a kol. 1946). Vzhledem k údržbě chovných nádob by písek musel být pravidelně promýván nebo úplně nahrazen. Použití rostlin je výhodné v mnoha ohledech. Jsou přirozeným zdrojem potravy, okysličují vodu a navíc slouží jako místo kladení vajec, což usnadňuje práci s kokony (Aziz a Raut 1996). Některé laboratoře si usnadňují práci s vajíčky za pomoci kousků plastu (Shartau a kol. 2010). Kokony umístěné na stěnách akvárií by jinak obtížně získávali například pomocí skalpelu (Looker a Etges 1979). Sběr vajíček umožňuje oddělení životních stádií a kontrolu reprodukce, která slouží jako indikátor fitness plžů.

Esenciální látky plži přijímají z velké části z **potravy**. Bylo dokázáno, že plži čeledi Lymnaeidae nejsou striktně vázáni na jeden druh stravy. Co se týče potravy, vyskytující se přirozeně v přírodě, byl proveden jeden zásadní pokus, který potvrdil velký rozdíl v preferenci stravy mezi juvenilními stádii a dospělci. Nejlepšího růstu dospělců se u *Radix peregra* dosahovalo krměním směsí sinic. Stejných výsledků se dosahovalo například s rozsivkami, špenátem, sinicí *Rivularia* nebo řasou *Cladophora*. Jejich produkce vajíček se výrazně neměnila. Juvenilní stádia nejlépe prosperovala na potravě složené z rozsivek. Naopak nejméně se jim dařilo na čisté kultuře řasy *Cladophora* (Sgoog 1978). Doposud ale nebyla provedena komplexní studie, která by dokázala sjednotit poznatky o potravě využívané v laboratorních podmínkách pro plže čeledi Lymnaeidae a tak následující odstavec shrnuje nejčastěji používané krmiva pro tyto plže společně s krmnými směsmi pro plže *Biomphalaria glabrata*.

Pro optimální fitness plže by strava měla obsahovat různé druhy krmiva, tak aby pokrývala celou škálu nutričních podmínek. Ve většině laboratořích jsou plži krmeni pouze různými kultivary salátu, pravděpodobně pro jeho snadnou dostupnost i v zimním období (Knezevic a kol. 2011). Daleko větší produkce vajíček a nižší mortality plžů lze dosáhnout pestřejší stravou (Eveland a Ritchie 1972). Některé laboratoře se tak snaží potravu obohatit i o jiné komplementy, jako jsou například mrkev, sladké brambory a nejčastěji rybí pelety (Brendelberger 1995; Brix a kol. 2011; Ng a kol. 2011; Looker a Etges 1979). Poměrně malá část laboratoří úplně salát nahrazuje. Jako vhodná náhrada sloužila například vodní rostlina *Marsilia* sp., javorové a dubové listy v kombinaci s rybím žrádlem, pelety pro králíky, apod. (Fryer a kol., 1990; Boston a kol., 1994; Mangal a kol., 2010; Das a Khangarot 2010 a 2011). Ojediněle si laboratoře samy připravují daleko komplexnější krmné směsi. Příkladem je „Bemax diet“, jejíž příprava je poměrně složitá. Jedná se o směs tvořenou sušenými klíčky, sušeným mlékem, sušeným salátem, alginátem sodným a horkou destilovanou vodou, která se vlije do smaltované nádoby s přidáním 2% roztoku chloridu sodného. Výsledkem je gelovitá hmota, která se uchovává v mrazácích (Kirk a Lewis 1992). Obdobnou hmotu připravoval Agrawal (1983) pro plže *Biomphalaria glabrata* smícháním teplé vody, alginátu sodného, práškového mléka, sušeného špenátu a cereálií. Následně byla směs zpracována stejně jako „Bemax diet“. Pro *B. glabrata* byl míchán gel obsahující mouku z ječmene, pšeničné klíčky, destilovanou vodu, sypké krmivo pro rybičky, práškové mléko, alginát sodný a 2% roztok chloridu sodného (internetová stránka č. 5). Třikrát větší plži a sedmkrát větší produkce vajíček oproti kontrolní skupině byla pozorována při krmení *B. glabrata* směsí osetí s klíčky žita, sušeným mlékem a extrakty ze štítné a endokrinní žlázy (v poměru 4:2:2:1). Šestkrát větší produkce vajíček byla u plžů krmených salátem společně s masovou konzervou pro psy (Eveland a Haseeb 2011). Další krmná směs pro plže v laboratoři obsahovala prášek z garnátů, pšeničnou mouku, sušené mléko, uhličitán vápenatý a vařený žloutek (Devi a kol. 2008, citace dle Eveland a Haseeb 2011). Plži byli úspěšně chováni také směsí salátu, vařených klíčků a filtračního papíru (Crabb 1929, citace dle Norton a kol. 1946). Nevýhodu těchto směsí vidím především ve znečištění vody, kterou pravděpodobně při svém složení musí způsobovat. Některé laboratoře používaly speciální krmné plováky, které zajišťovaly menší rozpustnost připravené potravy (Norton a kol. 1946). Při podávání potravy je také důležité brát na vědomí její znečišťující účinky ve vodě. Například rozklad špenátu nebo zelí je spojován s vyšším množstvím oxidu siřičitého, který zvyšuje mortalitu plžů (Agrawal 2012).

Co se týče vhodných nádob, jejich velikost a podoba závisí na prostorových podmínkách a početnosti chovaných plžů. Bylo dokázáno, že s vyšší denzitou plžů se zvyšuje jejich mortalita a snižuje se fekundita (McCreesh a kol. 2014), což pravděpodobně souvisí s množstvím rozpuštěného kyslíku a odpadních látek (Coelho a kol. 1977). Za nejlepší alternativu se udává 50 ml vody na jednoho plže. Takový objem výrazně prodlužuje životnost plžů (Agrawal 2012). Nejčastěji využívanou nádobou jsou akvária, která jsou opatřena víkem, aby plži nemohli vylézat (Norton a kol. 1946). Pro snadnější přístup jsou preferována spíše nižší akvária s větší plochou hladiny pro difúzi kyslíku (Aziz a Raut 1996). Naopak na údržbu nenákladný je chov plžů ve venkovních rybníčcích. Ten na jednu stranu plžům zajišťuje přirozené podmínky, ale na druhou stranu ve venkovním chovu je riziko infekce jinými parazity (Agrawal 1999). Z hlediska dostupnosti plžů pro laboratorní účely během zimy se řadí mezi méně využívané formy chovu. Za účelem ušetření místa byly pro chov plžů v minulosti využívány i plastové sáčky, zavařovací sklenice nebo hliněné nádoby (Guttel a Ben-ami 2014; Cañete a kol. 2004; Mishra a Agrawal 1996).

## 7. ZMĚNY VE FYZIOLOGII A CHOVÁNÍ INFIKOVANÝCH PLŽŮ

Během růstu a vývoje parazita v mezihostitelském plži dochází k mnoha biologickým, morfologickým a behaviorálním změnám (Alberto-Silva a kol. 2015). Výsledky studií vlivu krevniček na plže založených na experimentálních infekcích ukazují, že míra těchto změn závisí na jednotlivých druzích plžů a jejich parazitů (Mauleman 1972; Fryer a kol. 1990), ale také na reprodukční vyspělosti plžů (Fryer a kol. 1990) či jejich velikosti v době nákazy (Zekhnini a kol. 1997). Neméně důležitá je pak lokalizace migrujícího parazita v jeho hostiteli, která koreluje s rozsáhlostí a závažností účinku na tkáň v jeho okolí (Faro et al. 2013).

### 7.1. ZMĚNY V REPRODUKCI

Lokalizace sekundárních sporocyst schistosom v hepatopankreatu byla popsána v roce 1949 Maem a Olivierem. Toto místo sporocysty obývají především z důvodu vysokého obsahu živin určených pro reprodukci mezihostitele (Pan 1963). Podle nynějších výzkumů víme, že migrace a vývoj schistosom negativně ovlivňuje fekunditu a fertilitu plže (Hurd 2001).

Proces, při kterém dochází ke změně reprodukčního fitness mezihostitele, způsobující částečnou nebo úplnou redukci – interrupci plodnosti plže, se nazývá **parazitální kastrace** (Faro a kol. 2013). Mechanismy kastrace jsou vysvětlovány jednak kompetičním chováním parazita a hostitele o živiny určené pro reprodukci, tedy působením na energetické zásoby dospělého plže (Baudoin 1975), jednak možností ovlivňovat některé fyziologické procesy v mezihostiteli (Giannelli a kol. 2016).

**Patologické účinky** na okolní tkáň způsobené schistosomami byly potvrzeny u plže *Biomphalaria pfeifferi* (Meuleman 1972). Stejně tak byla potvrzeny u *B. glabrata* morfologické a fyziologické změny. U těchto plžů byla například pozorována zhoršující se se atrofie epitelů trávicích žláz, mizení zárodečných buněk z ovotestis a snižující se hustota sekretorických buněk bílkových žláz. Menší hustota buněk bílkových žláz se odráží na množství zmíněného galaktogenu a tím na formaci vajíček a na životnosti embryí, která nemusí být schopná líhnouti (Faro a kol. 2013).

Pro skladování **energetických zásob**, plži využívají ve svém metabolismu dva polysacharidy, glykogen a galaktogen (Lustrino 2008). Galaktogen je součástí perivitelinu tekutiny vajíčka, sloužící jako zásobárna živin pro vyvíjející se embrya (Faro et al. 2013). U většiny plicnatých plžů je galaktogen produkován v bílkové žláze. Jedná se o exokrinní trubkovitou žlázu, která je součástí samičího rozmnožovacího ústrojí (Morishita a kol. 1998). Glykogen se nachází v mnoha tkáních. Slouží jako zdroj energie (Livingstone a Zwaan 1983) a zároveň je důležitou látkou v syntéze galaktogenu (Faro a kol. 2013).

Co se týče schistosom, potřebují pro svůj vývoj zejména arginin a glukózu. Jejich migrace a vývoj koresponduje s využíváním zásobních látek plže, což se u něj projevuje oscilacemi těchto látek a deprivací tělní homeostáze (Cheng a Lee 1971, citace dle Faro a kol. 2013). Koncentrace glukózy v hemolymfě musí být udržována, protože narušení vede k mobilizaci zásob z tkání do hemolymfy (Bezerra a kol. 1999). Dochází tak k poklesu množství živin jinak určených pro reprodukci tedy ke snížení fekundity plže (Hurd 2001). Produkce vajíček plže rodu *Bulinus* nakaženého *S. haematobium* se výrazně lišila od kontrolní skupiny. V porovnání s prvním týdnem, kdy množství vajíček nakažených jedinců kleslo až o 50%, naopak se jejich produkce zvyšovala v následujících týdnech (Faro a kol. 2013).

Při infekci ptačími schistosomami se na poklesu reprodukčního fitness mezihostitelských plžů podílí neuroendokrinní systém. Při reakci na infekci krevničkou se v neuroendokrinním systému produkují látky peptidového charakteru. Příkladem je produkce schistosominu ovlivňujícího metabolismus a reprodukci (Horák a Kolářová 2005). Pravděpodobně je produkován hemocyty a buňkami pojivové tkáně v okolí centrální nervové soustavy. Jeho přítomnost v hemolymfě nakaženého plže koresponduje s přítomností vyvíjejících se larvárních stádií schistosom (Schallig a kol. 1991). U lymnaeidních plžů je ovipozice

kontrolována několika gonadotropními neuropeptidy syntetizovanými v neuroendokrinních kaudodorsálních buňkách. Takovým případem je calfluxin (CaFl) a hormon kaudodorsálních buněk (CDCs). Schistosomin blokuje receptory bílkovinné žlázy pro hormon calfluxin a receptory obojetné žlázy pro hormon kaudodorsálních buněk (Hordijk a kol. 1991). Blokadí těchto hormonů dochází k ovlivnění ovipozice plže (de Jong-Brink a kol. 1995). Schistosomin schopný ovlivňovat i další buňky neuroendokrinního systému, tzv. „light green“ buňky odpovídající za regulaci růstu (de Jong-Brink a kol. 2001). Vlivem na tyto buňky přispívá schistosomin k nadměrnému růstu nakažených pžů. Dle experimentů lze však prokázat, že k produkci schistosominu dochází i u jiných plžů jako například *Biomphalaria glabrata* a také, že je v hemolymfě přítomný i při jiných stresových situacích, nejen při infekci schistosomami (Zhang a kol. 2009).

## 7.2. RŮST

Infekce plže krevničkami se projevuje nejen na jeho reprodukci, ale i jeho na schopnosti růstu (Hurd 2001). Ve srovnání s kontrolními skupinami se u nakažených plžů vyskytuje nadměrný růst, tzv. gigantismus (Lafferty a Kuris 2009; Faro a kol. 2013). Gigantismus byl prokázán například při interakci *Trichobilharzia szidati-Lymnaea stagnalis* (Schalling a kol. 2001). Je však i několik případů dokumentujících naopak inhibici růstu (Meier-Brook 1981, citace dle Faro a kol. 2013). Redukci růstu potvrdil Fryer (1990) při pokusech vlivu *Schistosoma haematobium* na *Bulinus spp.*. Pozoroval pouze sníženou schopnost růstu v raných týdnech po infekci.

Růst plžů je ovlivněn načasováním infekce vzhledem k věku či reprodukční vyspělosti (Meier-Brook 1981, citace dle Fryer 1990). Nákaza mladších jedinců *Biomphalaria glabrata* se projevovala rychlejším růstem oproti kontrolním skupinám. Naopak při infekci starších jedinců docházelo k jeho zpomalení (Sorensen a Minchella 2001). Velikost v době infekce koreluje se schopností plže přežít (Zekhnini a kol. 1997). Nakažení velkých a starých dospělců se jeví jako nevýhodné, protože krevničky nejsou schopné dokončit svůj vývoj. Velmi těžké je však rozeznat od sebe efekt parazita na velikost plže a efekt velikosti plže na parazita (Sousa a Gleason. 1989). Na změnách růstu se podílí i výše zmiňovaný schistosomin (de Jong-Brink a kol. 2001).

## 7.3. BEHAVIORÁLNÍ ZMĚNY

Krevničky u svého meziphostitele mohou vyvolávat mnoho behaviorálních změn korespondujících s morfologickými či fyziologickými změnami. Mezi výsledky takových vlivů na hostitele řadíme například agregaci a s tím spojené omezení pohybu, zmenšení příjmu potravy, zvýšení úmrtnosti plžů nebo změny v preferované teplotě (Mauleman 1971; Poulin 1995; Zbikowska 2004).

**Pohyb** plžů závisí na mnoha faktorech. Hlavními stimuly jsou především světlo, hloubka vody a moluskocidní látky (Sarquis a kol. 1998). Dalším důležitým jevem ovlivňujícím změny pohybu je nákaza plže schistosomami (Alberto-Silva a kol. 2015). Důsledkem zpomaleného pohybu nakažených plžů je pravděpodobně narušení jejich metabolismu. Oproti kontrolním skupinám se infikovaní plži pohybují daleko pomaleji a s více přestávkami (El-Ansary a Al-Daihan 2006). U plžů *B. glabrata* nakažených *S. mansoni* bylo prokázáno, že jedinci s ovlivněnou mobilitou mají tendenci ke shlukování, kdy neinfikovaní plži jsou přitahováni k těmto skupinkám (Sire a kol. 1999). Zatím však není úplně jasné, co přesně plže atrahuje. Předpokládá se, že shlukování umožňuje efektivnější přenos parazita na definitivního hostitele (Boissier a kol. 2003).

U nakažených plžů existuje korelace mezi jejich schopností přežít, počtem uvolněných cercárií a **teplotou**, které jsou vystaveni (Ginetsinkaya 1988; Studer a Poulin 2014). Nakažení plži vykazují různé vzorce chování při vyhledávání míst o různé teplotě. S největší pravděpodobností larvální stádia schistosom vyvíjející se uvnitř plže mohou tuto preferenci měnit (Zbikowska 2004). Na jednu stranu infikovaní plži vyhledávají teplejší místa, kde tepla využívají pro zahřívání těla. Zvýšená tělní teplota funguje jako

sebeobranná reakce na infekci (Hart 2010). Toto chování označované pod pojmem behaviorální horečka bylo prokázáno u mnoha různých organismů od bezobratlých až po plazy (Watson a kol. 1993; Bernheim a Kluger 1976). Se zvyšující se tělní teplotou však souvisí i vyšší produkce cercárií, což vede k vyšší úmrtnosti plžů (Studer a Poulin 2014; Zbikowska 2004; Faro a kol., 2013). Na druhou stranu, někteří nakažení plži vyhledávají místa s nižší teplotou, která jim produlžuje životnost. Produkce cercárií je u těchto plžů sice pomalejší, ale zato dlouhodobější (Studer a Poulin 2014).

Mezi méně prozkoumané a zmiňované změny patří zmenšený příjem potravy (Mauleman 1971), který by s největší pravděpodobností mohl vycházet ze ztěžující se atrofie epithelia trávicí soustavy (Faro a kol. 2013).



## 8. ZÁVĚR

Tato práce shrnuje dosavadní znalosti o plžích čeledi Lymnaeidae, zejména o jejich ekologických a nutričních nárocích a chovu v laboratořích. Zabývá se jimi hlavně z toho důvodu, že zástupci čeledi Lymnaeidae slouží jako mezihostitelé mnoha parazitům. Podle některých údajů hrají významnou roli ve vývojovém cyklu přinejmenším 71 druhů motolic. Jednou z těchto čeledí motolic jsou schistosomy, jejichž zástupci jsou řazeni k významným patogenům u člověka. Jako mezihostitelé slouží lymnaeidní plži zástupcům rodů *Schistosoma*, *Heterobilharzia*, *Schistosomatium* a *Trichobilharzia*. Mezi lymnaeidními plži je však velký rozdíl v jejich náchylnosti být mezihostitelským plžem. Například pouze někteří jedinci *Radix lagotis* jsou schopni přenášet *Trichobilharzia regenti* a zbytek vykazuje vůči nákaze rezistenci.

Diverzita čeledi Lymnaeidae je odhadována přibližně od 100 do 250 existujících druhů. V průběhu 20. století vzniklo několik prací zabývajících se jejich systematikou. Druhovú determinace byla prováděna například dle konchologických parametrů, dle anatomie a morfologie rozmnožovací soustavy nebo podle zbarvení pláště. Systematika založená na těchto parametrech je velice nepřesná, protože se výrazně mění v průběhu ontogenetického vývoje. Tyto parametry také závisí na prostředí ve kterém se plž pohybuje. Poslední data založená na molekulární analýze doložila existenci 3 hlavních kmenů. Některé populace, které původně patřily do různých druhů, nově spadají pod stejné skupiny. Populace tvořící dříve jeden druh, jsou nově rozděleny. Nicméně mnoho otázek o jejich taxonomii zůstává stále neobjasněno.

V porovnání s jinými mezihostitelskými plži schistosom (např. rod *Biomphalaria*) se nárokům plžů čeledi Lymnaeidae věnuje pouze malá pozornost. Většina dosavadních informací o vhodném chovu je převzata od starších autorů. Jejich názory na chov se výrazně liší. Pro navození vhodných podmínek jsou využívány mnohé metody nejen v úpravě vody, ale i v přípravě potravy. Naopak se laboratoře shodují na nutnosti udržovat vhodný objem a čistotu vody, a světelné podmínky. Dosavadní metody chovu bohužel nebyly nijak porovnávány ani ověřovány a některé zástupce těchto plžů se nyní nedaří dlouhodobě chovat v laboratorních podmínkách. Je tedy nutné dále hledat a studovat nové možnosti, které by vedly k novým poznatkům.

Nejdůležitějším faktorem pro tyto plže je voda. Na plže zde působí mnoho fyzikálně-chemických faktorů. Lymnaeidae jsou velice sensitivní na množství rozpuštěných látek ve vodě. Negativně působí na homeostázi plže těžké kovy jako jsou kadmium a měď v koncentracích vyšších než 10 µg Cd/l respektive 8 µg Cu/l. Na rozdíl od jiných plžů, jsou plovatkovití řazeni k méně sensitivním plžům na deriváty amoniaku, protože dokázali přežít i při 7,9 mg/l. Co se týče nutričních nároků, esenciálními prvky jsou uhlík, fosfor a vodík. V průběhu roku tyto prvky značně v potravě fluktuují a plži jsou schopni udržovat jejich koncentraci stále stejnou. Nedostatek kvalitní potravy nahrazují její kvantitou.

Dalším faktorem, který hraje významnou roli v životě plžů je parazitismus schistosomami. Schistosomy při svém vývoji působí na okolní tkáň, spotřebovávají energetické zásoby plžů a narušují homeostázi. Některé jsou také schopné ovlivňovat jejich endokrinní systém. Následně dochází ke změnám v morfologii, fyziologii ale i v chování. Častým výsledkem je parazitální kastrace, změna v růstu a redukce příjmu potravy. Bylo také zjištěno že schistosomy jsou schopny ovlivňovat preference plžů vůči okolní teplotě. Sekundárně také u plžů způsobují změny v pohyblivosti.

Detailní studium nároků plžů Lymnaeidae by v budoucnu mohlo vést kromě k ucelení dosavadních poznatků o těchto plžích i k lepší úspěšnosti v udržování jejich populace v laboratořích. Tyto informace by mohly výrazně přispět k zachování životních cyklů některých schistosom v laboratorních podmínkách.

Získané poznatky bych ráda využila při magisterské práci, při které bych chtěla rozpracovávat nastíněnou problematiku chovu v laboratorních podmínkách. Experimentální část by byla zaměřena především na chov plže *Radix auricularia*, mezipřenosného plže *Trichobilharzia franki*.



## 9. REFERENCE

- AGRAWAL M. C. (1981)** Recovery of worms from mice infected with cercariae of *Schistosoma spindale* and *S. incognitum* by different routes. *The Indian Journal of Animal Sciences* 5, 227-228
- AGRAWAL M. C. (1983)** First report on „Zoonotic potentials, zooprophyllaxis, serodiagnosis and quick identification of cercariae of some mammalian schistosomes of Indian origin“. *Indian Council of Medical Research*, New Delhi
- AGRAWAL M. C. (1999)** New methods of maintenance of freshwater snails for schistosome infections in the laboratory. *The Indian Journal of Animal Sciences* 69, 301-303
- AGRAWAL M. C. (2012)** Schistosomes and Schistosomiasis in South Asia: Technologies Developed 313-336, ISBN: 978-81-322-0538-8
- AGRAWAL M. C., SHAH H. L. (1989)** A review on *Schistosoma incognitum* Chandler, 1926. *Helminthological Abstract* 58, 239-251
- ALBERTO-SILVA A. C., SANTOS E. G. N., SANTOS C. P., MELLO-SILVA C. C. (2015)** Changes in the locomotory and reproductive behavior of *Biomphalaria glabrata* infected with *Schistosoma mansoni*. *Experimental Parasitology* 153, 68–74
- ALEXANDER J. E., AUDESIR T. E., AUDESIR G. J., MAY B. (1985)** How-To- Do- It Classical Conditioning in the Pond Snail. *University of California Press on Behalf of the National Association of Biology Teachers* 47 (5), 295–298
- AL-YAQUOB A. J. (2011)** Effect of salinity and pH on hatchability and survival of the snails *Lymnaea auricularia*. *Marsh Bullentin* 6 (1), 62–72
- ASHTON P. D., HARROP R., SHAH B., WILSON R. A. (2001)** The schistosome egg: development and secretions. *Parasitology* 122 (3), 329-338
- ATTWOOD S. W., IBARAKI M., SAITOH Y., NIHEI N. (2015)** Comparative Phylogenetic Studies on *Schistosoma japonicum* and Its Snail Intermediate Host *Oncomelania hupensis* : Origins , Dispersal and Coevolution. *Neglected Tropical Diseases*, 1–28
- \*AUGUSTINE D. L., WELLER T. H. (1949)** Experimental studies on the specificity of skin tests for the diagnosis of schistosomiasis. *The Journal of Parasitology* 35 (5), 461–466
- AZIZ A., RAUT S. K. (1996)** Thermal Effect on the Life-cycle Parameters of the Medically Important Freshwater Snail Species *Lymnaea (Radix) luteola (Lamarck)*. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz* 91 (květen 1991), 119–128
- \*BAKER, F. C. (1911)** The Lymnaidae of North and Middle America, Recent and Fossil. *Chicago Academy of Sciences Special Publication* 3
- BARGUES M. D., VIGO M., HORAK P., DVORAK J., PATZNER R. A., POINTIER, J. P., BAUDOIN M. (1975)** Host Castration as a Parasitic Strategy. *The Journal of Parasitology* 29 (2), 335-352
- BARGUES M. D., VIGO M., HORAK P., DVORAK J., PATZNER R. A., POINTIER J. P., a kol. (1993)** Understanding water hardness. *World aquaculture* 24 (1), 18
- BELTRAN S., BOISSIER J. (2008)** Schistosome monogamy: who, how, and why ? *Trends in Parasitology*, 24 (červenec), 386–391
- BERAN L. (1998)** Vodní měkkýši ČR. ZO ČSOP, Vlašim, ISBN:80-902469-4-X
- BERNHEIM H. A., a KLUGER M. J. (1976)** Fever and antypyresis in the lizard *Dipsosaurus dorsalis*. *American Journal of Physiology* 231, 198-203
- BESSER J. M., DORMAN R. A., HARDESTY D. L., INGERSOLL CH. G. (2016)** Survival and Growth of Freshwater Pulmonate and Nonpulmonate Snails in 28-Day Exposures to Copper, Ammonia, and Pentachlorophenol. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 70 (2), 321-331
- BEZERRA J. C. B., KEMPER A., BECKER W. (1999)** Prolife of organic acid concentrations in the digestive with *Schistosoma mansoni* in under estivation. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 94, 779–784
- BIXLER M., LERNER J. P., IVANCHENKO M., McCORMICK R. S., BARNES D. W., BAYNE CH. J. (2001)** Axenic Culture of *Schistosoma mansoni*, Sporocysts in Low O<sub>2</sub> Environments. *Journal of Parasitology* 87 (5), 1167-1168
- \*BLAIR D, DAVIS G. M., WU B. (2001)** Evolutionary relationships between trematodes and snails emphasizing schistosomes and paragonimids. *Parasitology* 123, 229–243
- BOISSIER J., RIVERA E. R., MONET H. (2003)** Altered Behavior of the Snail *Biomphalaria glabrata* as a Result of Infection with *Schistosoma mansoni*. *The Journal of Parasitology* 89 (3), 429–433

- BOON-NIERMEIJER E. K., VAN DE SCHEUR H. (1984)** Thermosensitivity During Embryonic Development of *Lymnaea stagnalis* (Mollusca). *Journal of Thermal Biology* 9 (4), 265–269
- \***BORGMANN U., KRAMAR O., LOVERIDGE C. (1978)** Rates of mortality, growth, and biomass production of *Lymnaea palustris* during chronic exposure to lead. *Journal of the Fisheries Research Board of Canada* 35, 1109–1115
- BOSTON C. J., LAYMAN L. R., FRIED B., SHERMA J. (1994)** Calcium content of planorbid snails maintained in artificial spring water on leaf lettuce with and without chalk. *Veliger* 37, 121–123
- BRANT S. V., LOKER E. S. (2013)** Discovery-based studies of schistosome diversity stimulate new hypotheses about parasite biology. *Trends in Parasitology* 29 (9), 449–459
- BRANT S. V., MORGAN J. A. T., MKOJI G. M., SNYDER S. D., LOKER E. S. (2006)** An Approach to Revealing Blood Fluke Life Cycles, Taxonomy, and Diversity : Provision of Key Reference Data including DNA Sequence from Single Life Cycle Stages. *The Journal of Parasitology* 92 (1), 77–88
- BRANT S. V., COHEN A. N., JAMES D., HUI L., HOM A., LOKER E. S. (2010)** Cercarial Dermatitis Transmitted by Exotic Marine Snail. *Emerging Infectious Diseases* 16 (9), 1357–1365
- BRENDELBERGER H. (1995)** Dietary preference of three freshwater gastropods for eight natural foods of different energetic content. *Malacologia* 36 (duben), 147–153
- BRIX K. V., ESBAUGH A. J., GROSELL M. (2011)** Comparative Biochemistry and Physiology: The toxicity and physiological effects of copper on the freshwater pulmonate snail, *Lymnaea stagnalis*. *Comparative Biochemistry and Physiology, část C* 154 (3), 261–267
- BRIX K. V., ESBAUGH A. J., MUNLEY K. M., GROSELL M. (2012)** Investigations into the mechanism of lead toxicity to the freshwater pulmonate snail, *Lymnaea stagnalis*. *Aquatic Toxicology* 106-107, 147–156
- BROWN D. S. (1978)** Pulmonate molluscs as intermediate hosts for digenetic trematodes: Pulmonates (editoři Fretter V. a Peake J.), Academic Press, Londýn, 287- 333, ISBN: 0122675029
- BUKOWSKI S. J., AUDL J. R. (2014)** The effects of calcium in mediating the inducible morphological defenses of a freshwater snail, *Physa acuta*. *Aquatic Ecology* 48, 85–90
- BYRNE A. R., RUNDLE S. D., SMIRTHWAITE J. J., SPICER J. I. (2009)** Embryonic rotational behaviour in the pond snail *Lymnaea stagnalis*: influences of environmental oxygen and development stage. *Zoology* 112, 471-477
- CAMARGO J. A., ALONSO A. (2006)** Ecological and toxicological effects of inorganic nitrogen pollution in aquatic ecosystems: a global assessment. *Environment International* 32, 831–849
- CAÑATE R., YONG M., SÁNCHEZ J., WONG L., GUTIÉRREZ A. (2004)** Population Dynamics of Intermediate Snail Hosts of *Fasciola hepatica* and Some Environmental Factors in San Juan y Martínez Municipality.. *Memórias de Instituto de Oswaldo Cruz* 99 (3), 257-262
- CALOW P. (1970)** Studies in the natural diet of *Lymnaea peregra obtusa* (Kobelt) and its possible ecological implications. *The scientific journal of the Malacological Society of London.* 39, 203-215
- \***CLEGG J. A., SMITHERS S. R. (1968)** Death of schistosome cercariae during penetration of the skin. II. Penetration of mammalian skin by *Schistosoma mansoni*. *Parasitology* 58, 111–128
- COEURDASSIER M., DE VAUFLEURY A., SCHEIFLER R., MORHAIN E., BADOT P. M. (2004)** Effects of Cadmium on the Survival of Three Life-Stages of the Freshwater Pulmonate *Lymnaea stagnalis* (Mollusca: Gastropoda). *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 72, 1083-1090
- \***COMBES C. (1990)** Where do human schistosomes come from? An evolutionary approach. *Trends in Ecology & Evolution* 5, 334-337
- CORREA A. C., ESCOBAR J. S., DURAND P., RENAUD F. O., DAVID P., JARNE P., POINTIER J. P., HURTREZ-BOUSSÈS S. (2010)** "Bridging gaps in the molecular phylogeny of the Lymnaeidae (Gastropoda: Pulmonata), vectors of Fascioliasis". *Evolutionary Biology* 10: 381
- CORREA A. C., ESCOBAR J. S., NOYA O., VELÁSQUEZ L. E., GONZÁLEZ-RAMÍREZ C., HURTREZ-BOUSSÈS S., POINTIER J. P. (2011)** Morphological and molecular characterization of NEotropical Lymnaeidae (Gastropoda: Lymnaeidae), vectors of fasciolosis. *Journal of Molecular Epidemiology and Evolutionary Genetics in Infectious Diseases* 11 (8), 1978-1988
- COHEN L. M., NEIMARK H., EVELAND L. K. (1980)** *Schistosoma mansoni*: Response of cercariae to a thermal gradient. *The Journal of Parasitology* 66, 363-364
- \***CRABB E. D. (1929)** Growth of a pond snail, *Lymnaea stagnalis* appressa, as indicated by increase in shell-size. *The Biological Bulletin* 56, 41-63

- DALESMAN S., THOMAS A., RUNDLE S. D. (2015)** Local adaptation and embryonic plasticity affect antipredator traits in hatching pond snails. *Freshwater Biology* 60 (4), 663-672
- DALLINGER R., BERGER B., HUNZIKER P., KÄGI J. H. R. (1997)** Metallothionein in snail Cd and Cu metabolism. *Nature* 388, 237-238
- DAS S., KHANGAROT B. S. (2011)** Bioaccumulation of copper and toxic effects on feeding, growth, fecundity and development of pond snail *Lymnaea luteola*. *Journal of Hazardous Materials* 185 (1), 295-305
- DA'DARA A. A., DE LAFORCADE A. M., SKELLY P. J. (2016)** The impact of schistosomes and schistosomiasis on murine blood coagulation and fibrinolysis as determined by thromboelastography (TEG). *Journal of Thrombosis and Trombolysis* 41, 671-677
- DEGAL M. A., UPATHAM S. E., KRUATRACHUE M., VIYANINT V. (1986)** Effects of some physico-chemical factors on the hatching of egg masses and on the survival of juvenile and adult snails of *Bulinus (Physopsis) abyssinicus*. *Journal of the Science Society in Thailand* 12, 23-30
- DE JONG-BRINK M., HOEK R. M., SMIT A. B., BERGAMIN-SASSEN M. J. M., LAGEWEG W. (1995)** Schistosoma parasites evoke stress response in their snail host by a cytokinelike factor interferony with neuro-endocrine mechanisms. *Netherlands Journal of Zoology* 45, 113-116
- DE JONG-BRINK M., BERGAMIN-SASSEN M., SOLIS S. M. (2001)** Multiple strategies of schistosomes to meet their requirements in the intermediate snail host. *Parasitology* 123, 129-141
- \*DEVI P., ISLAM S., DAS M. (2008)** Ecology and biology of aquatic snails and their control: I. Comparative biology and development of five freshwater snails from Assam. *Journal of veterinary* 22, 9-12
- DEVKOTA R., BRANT S. V., THAPA S., LOKER E. S. (2014)** Two avian schistosome cercariae from Nepal, including a *Macrobilharzia* -like species from *Indoplanorbis exustus*. *Parasitology International* 63 (2), 374-380
- DE WITH N. D., a SMINIA T. (1980)** The effects of the nutritional state and the external calcium concentration on the ionic composition of the hemolymph and the calcium cells in the pulmonate freshwater snail *Lymnaea stagnalis*. *Proceeding of the Koninklijke Nederlandse Akademie von Wetenschappen* 83, 217-227
- DI AW O. T., SEYE M., SARR Y. (1989)** Resistance to drought of mollusks of the genus *Bulinus*, vectors of human and animal trematode infections in Senegal. II. Study under natural conditions in the North-Sudan area. Ecology and resistance to drought of *Bulinus umbilicatus* and *B. senegalensis*. *Revue d'élevage et de médecine vétérinaire des pays tropicaux* 42 (2), 177-87
- DI TORO D. M., ALLEN, H. E., BERGMAN, H. L., MEYER, J. S., PAQUIN, P. R. SANTORE, R. C., (2001)** Biotic ligand model of the acute toxicity of metals. I. Technical basis. *Environmental Toxicology and Chemistry* 20 (10), 2378-2396
- EBRAHIMPOUR M., ALIPOUR H., RAKHSHAH S. (2010)** Influence of water hardness on acute toxicity of copper and zinc on fish. *Toxicology and Industrial Health* 26 (6), 361-365
- EL-ANSARY A., AL-DAIHAN S. (2006)** Important aspects of *Biomphalaria* snail-schistosome interactions as targets for antischistosome drug. *Medical Science Monitor* 12 (12), 282-293
- ELSER J. J. (2003)** Biological stoichiometry: a theoretical framework connecting ecosystem ecology, evolution, and biochemistry for application in astrobiology. *International Journal of Astrobiology* 3, 185-193
- ELSER J. J., FAGAN W.F., DENNO R. F., DOBBERFUHL D. R., FOLARIN A., HUBERTY A. (2000)** Nutritional constraints in terrestrial and freshwater food webs. *Nature* 408, 578-580
- \*ERASMUS D. A. (1972)** The Biology of Trematodes., Edward, Arnold, London, 312 stran, ISBN-10: 0844800619
- ERASMUS D.A. (1987)** The adult schistosome: structure and reproductive biology. The biology of Schistosoma, from Genes to Latrines, (editoři Rollinson D. a Simpson A.J.G), *Academic Press*, Londýn, 51-82  
ISBN-10: 0125936923
- ESTES S., ZHONG L. R., ARTINIAN L., REHDER V. (2015)** Regulation of electrical activity and neuronal excitability in *Helisoma Trivolvis* by Carbon monoxide. *Neuroscience* 311, 453-463
- ETGES F. J., CARTER O. S., WEBBE G. (1975)** Behavioral and developmental physiology of schistosome larvae as related to their molluscan hosts. *Annals of the New York Academy of Science* 266, 480-496
- EVELAND L. K., HASEEB M. A. (2011)** Laboratory Rearing of *Biomphalaria glabrata* Snails and Maintenance of Larval Schistosomes In Vivo and In Vitro *Biomphalaria* Snails and Larval Trematodes., editoři R. Toledo a B. Fried, Springer New York, New York, 33-55
- EVELAND L. K., RITCHIE L. S. (1972)** Infectivity of cercariae of *Schistosoma mansoni* from snails on inadequate diets. *Parasitology* 64, 441-444

- FALTÝNKOVÁ A. (2005)** Larval trematodes (Digenea) in molluscs from small water bodies near České Budějovice, Czech republic. *Acta Parasitologica* 50(1), 49-55
- FALTÝNKOVÁ A., SURES B., KOSTADINOVÁ A. (2016)** Biodiversity of trematodes in their intermediate mollusc and fish hosts in the freshwater ecosystems of Europe. *Systematic Parasitology* 93, 283–293
- FARO J. M., PERAZZINI M., CORRÊA, R., MELLOS-SILVA, C. C., PINHEIRO J., MARIA E., MALDONADO A. (2013)** Biological , biochemical and histopathological features related to parasitic castration of *Biomphalaria glabrata* infected by *Schistosoma mansoni*. *Experimental Parasitology* 134 (2), 228–234
- FINK P., VON ELERT E. (2006)** Physiological responses to stoichiometric constraints : nutrient limitation and compensatory feeding in a freshwater snail. *Oikos* 3 (květen), 484–494
- FLOWERS J. R., HAMMERBERG B., WOOD S. L., MALARKEY D. E., VAN DAM G. J., LEVY M. G., MCLAWHORN L. D (2002)** *Heterobilharzia americana* infection in a dog, *Journal of the American Veterinary Medical Association* 220 (2), 193-196
- FRYER S. E., OSWALD R. C., PROBERT A. J., RUNHAM N. W. (1990)** The Effect of *Schistosoma haematobium* Infection on the Growth and Fecundity of Three Sympatric Species of *Bulinid* Snails. *The Journal of Parasitology*, 76 (4), 557–563
- \*GHANDOUR A. M., WEBBE G. (1976)** A comparative study of the death of *Schistosomula* of *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni* in the skin of mice and hamster. *Journal of Helminthol* 50, 39–43
- GIANNELLI A., CANTACESSI C., COLELLA V., DANTAS-TORRES F., OTRANDO D. (2016)** Gastropod-Borne Helminths : A Look at the Snail – Parasite Interplay. *Trends in Parasitology* 32 (3), 255–264
- GINETSINSKAYA T. A. (1988)** Trematodes, their Life Cycles, Biology and Evolution., Amerind Publishing Co. Pvt. Ltd., New Delhi, 528 stran, ISBN-10: 812050075X
- GLÖER P., MEIER-BROOK C. (1998)** Süßwassermollusken. Bestimmungsschlüssel für die Bundesrepublik Deutschland, 12th Edition. Deutscher Jugendbund für Naturbeobachtung, Hamburg, 136 stran, ISBN: 978-3-923376-02-5
- GOLDBERG J. I., DORAN S. A., SHARTAU, R. B., PON J. R., ALI D. W., TAM R., KUANG S. (2008)** Intergrative biology of an embryonic respiratory behaviour in pond snails: the 'embryo stir-bar hypothesis' . *Journal of Experimental Biology* 211, 179-1736
- GOMOT A. (1998)** Toxic effect of cadmium on reproduction, development and hatching in the freshwater snail *Lymnaea stagnalis* for water quality monitoring. *Ecotoxicology Environmental Safety Journal Impact Factor* 41, 288–297
- GRABE K., HAAS W. (2004b)** Navigation within host tissues : cercariae orientate towards dark after penetration. *Parasitology Research* 93, 111–113
- 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
- CRABTREE J. E., WILSON R. A. (1980)** *Schistosoma mansoni*: a scanning electron microscope study of the developing schistosomulum. *Parasitology* 81, 553-564
- GRAHAM A. L. (2003)** Effects Of Snail Size And Age On The Prevalence And Intensity Of Avian Schistosome Infection : Relating Laboratory To Field Studies. *The Journal of Parasitology* 89 (3), 458–463
- GREER G. J., OW-YANG C. K., YONG H. S. (1988)** *Schistosoma malayensis* n. sp.: a *Schistosoma japonicum*-complex schistosome from Peninsular Malaysia. *The Journal of Parasitology* 74 (3), 471-80
- GROSELL M., BRIX K. V. (2009)** High net calcium uptake explains the hypersensitivity of the freshwater pulmonate snail, *Lymnaea stagnalis*, to chronic lead exposure. *Aquatic Toxicology* 91, 302–311
- GUTTEL Y., BEN-AMI F. (2014)** The maintenance of hybrids by parasitism in a freshwater snail. *International Journal for Parasitology* 44 (13), 1001–1008
- HAAS W. (2003)** Parasitic worms : strategies of host finding , recognition and invasion. *Zoology* 106, 349–364.
- HAAS, W. GRABE. K. (2004)** Navigation within host tissues : cercariae orientate towards dark after penetration. *Parasitology Research* 93 (2), 111–113
- HAAS W., HAEBERLEIN S. (2009)** Penetration of cercariae into the living human skin : *Schistosoma mansoni* vs. *Trichobilharzia szidati*, *Parasitology research* 105, 1061–1066
- 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., KALBE M., KÖMER M. (1995)** Snail-host-finding by Miracidia and Cercariae: Chemical Host Cues. *Parasitology Today* 11 (12), 468-472
- HART B. L., MOORE J. (2010)** Beyond fever: comparative perspectives on sickness behaviour. Encyclopedia of Animal Behaviour, (editoři Breed M. D. a Moore J.), Academic Press, Londýn, 205 – 210, ISBN: 9780080453378
- \*HE Y. X. (1988)** Death of newly transformed schistosomula during penetration of *Schistosoma japonicum* cercariae into different host skin. *Acta Zoologica Sinica Journal Impact Factor* 34, 265–270
- HE Y., CHEN L., RAMASWAMY K. (2003)** *Schistosoma mansoni*, *S. haematobium*, and *S. japonicum*: early events associated with penetration and migration of schistosomula through human skin. *Experimental Parasitology* 102, 99-108
- HE Y., SALAFSKY B., RAMASWAMY K. (2005)** Comparison of skin invasion among three major species of *Schistosoma*. *Trends in Parasitology* 21 (5), 19–21
- HERMANN P. M., BULLOCH A. G. M. (1998)** Developmental plasticity of respiratory behaviour in *Lymnaea*. *Behavioural Neuroscience* 112, 656 – 667
- HORÁK P., BLÁŽOVÁ K. (2005)** *Trichobilharzia regenti*: The developmental differences in natural and abnormal hosts. *Parasitology International* 54, 167–172
- HORÁK P., HRÁDKOVÁ K. (2002)** Neurotropic behaviour of *Trichobilharzia regenti* in ducks and mice. *Journal of Helminthology* 76, 137–141
- HORÁK P., KOLÁŘOVÁ L. (2001)** Bird schistosomes : do they die in mammalian skin ? *Trends in Parasitology* 17 (2), 66–69
- HORÁK P., KOLÁŘOVÁ L. (2005)** Molluscan and vertebrate immune responses to bird schistosomes. *Parasite Immunology*, 27 (duben), 247–255
- HORÁK P., KOLÁŘOVÁ L., DVOŘÁK J. (1998)** *Trichobilharzia regenti* n. sp. (*Schistosomatidae*, *Bilharziellinae*), a new nasal schistosome from Europe. *Parasite* 5 (4), 349–357
- HORÁK P., DVOŘÁK J., KOLÁŘOVÁ L., TREFIL L. (1999)** *Trichobilharzia regenti*, a pathogen of the avian and mammalian central nervous system. *Parasitology* 119, 577-581
- HORÁK P., KOLÁŘOVÁ L., ADEMA C. M. (2002)** Biology of the *Schistosome* Genus *Trichobilharzia*. *Advances in Parasitology* 52, 154-233
- HORÁK P., LICHTENBERGEROVÁ L., LASSMANN H., JONES M. K., KOLÁR L. (2011)** Experimental Parasitology *Trichobilharzia regenti*: Host immune response in the pathogenesis of neuroinfection in mice. *Experimental Parasitology* 28, 328–335
- HORÁK P., MIKEŠ L., LICHTENBERGOVÁ L., SKÁLA V., SOLDÁNOVÁ M., BRANT V. (2015)** Avian Schistosomes and Outbreaks of Cercarial Dermatitis. *Clinical Microbiology Reviews* 28 (1), 165–190
- HORDIJK P. L., SCHALLIG H. D. F. H., EBBERINK R. H. M., DE JONG-BRINK M., JOOSSE J. (1991)** Primary structure and origin of schistosomin, an anti-gonadotropic neuropeptide of the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Biochemical Journal* 279, 837-842
- HOVERMAN J. T., COTHRAN R., RELYEA R. A. (2014)** Generalist versus specialist strategies of plasticity : snail responses to predators with different foraging modes. *Freshwater Biology* 59, 1101–1112
- HRÁDKOVÁ K., HORÁK P. (2002)** Neurotropic behaviour of *Trichobilharzia regenti* in duck and mice. *Journal of Helminthology* 76 (2), 137-141
- HUBENDICK B. (1951)** "Recent Lymnaeidae, their variation, morphology, taxonomy, nomenclature and distribution". *Kungl Svenska Vetenskapsakademiens Handlingar* 3, 1-223
- HUFFMAN J. E., FRIED B. (2008)** Parasitic Diseases of Wild Birds. Schistosomes, (editoři Atkinson C.T., Thomas N. J a Hunter D. B.), Markono Print Media Pte Ltd, Singapore, 592 stran, ISBN-13:978-0-8138-2081-1
- HUŇOVÁ K., KAŠNÝ M., HAMPL V., LEONTOVYČ R., KUBEŇA A., MIKEŠ L., HORÁK P. (2012)** *Radix* spp.: Identification of trematode intermediate hosts in the Czech Republic. *Acta Parasitologica* 57(3), 273-284
- HURD, H. (2001)** Host fecundity reduction: a strategy for damage limitation, *Trends in parasitology* 17 (8), 363–368
- HURLEY M., HEARNDEN M. N., BLAIR D., KAY B. I. (1994)** Larval trematodes in fresh-water snails at the Ross river reservoir, northern Australia, with emphasis on *Trichobilharzia* sp(p), causative agents of swimmers itch. *Australian Journal of Marine and Freshwater research* 45(4), 563-567
- CHANOVÁ M., HORÁK P. (2007)** Terminal phase of bird schistosomiasis caused by *Trichobilharzia regenti* (*Schistosomatidae*) in ducks (*Anas platyrhynchos* f. *domestica*). *Folia parasitologica* 54 (2), 105 - 107
- CHENG T. C., A LEE F. O. (1971)** Glucose levels in the mollusc *Biomphalaria glabrata* infected with *Schistosoma mansoni*. *Journal Invertebrate Pathology* 18, 395-399

- CHERNIN E. (1963)** Observations on hearts explanted in vitro [sic] from the snail *Australorbis glabratus*. *The Journal of Parasitology* 49, 353–364
- CHIPPAUX P., SELLIN B. (1999)** The Oral Route as a Potential Way of Transmission of *Schistosoma bovis* in Goats. *The Journal of Parasitology* 85 (3), 464–467
- ILANGO VAN C. (2014)** Occurrence of *Schistosoma nasale* infection in bullocks of Puducherry. *Journal of Parasitic Diseases* 38 (duben-červen), 238–240
- ITO J. (1960)**. Studies on the morphology and life cycle of *Pseudobilharziella corvi* Yamaguti, 1941 (Trematoda: Schistosomatidae). *Japanese journal of medical science & biology* 13, 53–58.
- JACKIEWICZ M. (1993)** Die Mantelpigmentation als Diagnosemerkmal bei Schlammschnecken (Gastropoda, Pulmonata: Lymnaeidae). *Malakologische Abhandlungen Staatliches Museum für Tierkunde Dresden* 16, 165–172
- JACKIEWICZ M. (1998)** The penis as a valuable diagnostic feature in lower taxonomic units of the family Lymnaeidae (Gastropoda, Pulmonata) *Malakologische Abhandlungen Staatliches Museum für Tierkunde Dresden* 13, 24–26
- JACKIEWICZ M. (1998)**. European species of the family Lymnaeidae (Gastropoda : Pulmonata : Basommatophora ), *Szamarzewskiego* 89/91, 60–569
- JACKIEWICZ M., MEIER-BROOK C., MAS-COMA S. (2001)** European Lymnaeidae (Mollusca: Gastropoda), intermediate hosts of trematodiasis, based on nuclear ribosomal DNA ITS-2 sequences. *Infection, Genetics and Evolution* 1 (2), 85–107
- JOKINEN H. E. (1978)** The aestivation Pattern of a Population of *Lymnaea elodes* (Say) (Gastropoda: Lymnaeidae) *The American Midland Naturalist* 100 (1), 43 – 53
- JONES K. E., PATEL N. G., LEVY M. A., STOREYGARD A., BALK D., GITTLEMAN J. L. (2008)** Global trends in emerging infectious diseases. *Nature* 451, 990–994
- JUŘIČKOVÁ L., HORSÁK M., BERAN L., DVOŘÁK L. (2010)** Check-list of the molluscs (Mollusca) of the Czech Republic. *Acta Societatis Zoologicae Bohemicae* 65, 25–40.
- KAJAK, Z. (1998)** Hydrobiologia – limnologia. Ekosystem wód śródladowych, Wydawnictwo Naukowe PWN, Warszawa, Poland, 326 stran, ISBN: 83-01-12537-3
- 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
- KHANGAROT B. S., DAAS S. (2010)** Effects of copper on the egg development and hatching of freshwater pulmonate snail *Lymnaea luteola*. *Journal of hazardous materials* 179 (1-3), 665–675
- KIRK R. S., LEWIS J. W. (1992)** The laboratory maintenance of *Sanguinicola-inermis* Plehn, 1905 (*Digenea, Sanguinicolidae*). *Parasitology* 104 (1), 121–127
- KLIMPELLOVÁ M.**, Serinové proteázy cercárií ptačí schistosomy *Trichobilharzia regenti* a jejího mezihostitele, plže *Radix peregra*., Pardubice, 2007, Diplomová práce, Univerzita Pardubice, Fakulta chemicko-technologická, Katedra biologických a biochemických věd
- KNEZEVIC B., DALESMAN S., KARNIK V., BYZITTER J., LUKOWIAK K. (2011)** Low external environmental calcium levels prevent forgetting in *Lymnaea*. *Journal of Experimental Biology* 214, 2118–2124
- KOLÁŘOVÁ L. (2007)** Schistosomes causing cercarial dermatitis: a mini-review of current trends in systematics and of host specificity and pathogenicity. *Folia Parasitologica* 54 (2), 81–87
- KOLÁŘOVÁ L., HORÁK P. (2000)** Survival of bird schistosomes in mammalian lungs. *International Journal for Parasitology* 30, 65–68
- KOLÁŘOVÁ L., SKÍRNISSON K., FERTÉ H., JOUET D. (2013)** Parasitology International *Trichobilharzia mergi* sp. nov. (Trematoda : Digenea : Schistosomatidae), a visceral schistosome of *Mergus serrator* (Aves: Anatidae). *Parasitology International* 62, 300–308
- KRUGLOV N. D. (2005)** Lymnaeid snails of Europe and Northern Asia. Smolensk State Pedagogical University Press, Smolensk, 1-508
- LAFFERTY K. D., KURIS A. M. (2009)** Parasitic castration : the evolution and ecology of body snatchers. *Trends in Parasitology* 25(září), 564–572

- LACH L., BRITTON D. K., RUNDELL R. J., COWIE R. H. (2001)** Food preference and reproductive plasticity in an invasive freshwater snail. *Biological Invasions* 2, 279–288
- LATCHUMIKANTHAN A., POTHAPPAN P., ILAYABHARATHI D., DAS S. S., KUMAR D., LAWSON J. R., WILSON R. A. (1980)** The survival of the cercariae of *Schistosoma mansoni* in relation to water temperature and glycogen utilization. *Parasitology* 81, 337–348
- LEIGH H. W. (1953)** *Cercaria huttoni* a Dermatitis-Producing Schistosome Larva from the Marine Snail, *Haminoea antillarum guadalupensis* Sowerby, *The Journal of Parasitology* 39 (6), 625-629
- LEIGH H. LEIGH H. W. (1955)** The Morphology of *Gigantobilharzia huttoni* an Avian Schistosome with Marine Dermatitis-Producing Larvae, *The Journal of Parasitology* 41 (3), 262-269
- LEIGHTON B. J., ZERVOS S., WEBSTER J. M. (2000)** Ecological factors in schistosome transmission, and an environmentally benign method for controlling snails in recreational lake with a record of schistosome dermatitis. *Parasitology International* 49, 9-17
- LEUNG K. M. Y., IBRAHIM H., DEWHURST R. E., MORLEY N. J., CRANE M., LEWIS, J. W. (2003)** Concentrations of Metallothionein-Like Proteins and Heavy Metals in the Freshwater Snail *Lymnaea stagnalis* Exposed to Different Levels of Waterborne Cadmium. *Bulletin of Environmental Contamination and Toxicology* 71(5), 1084-90
- LEWIS F. A., STIREWALT M. A., SOUZA C. P. (1986)** Large-scale laboratory maintenance of *Schistosoma mansoni*, with observations on three schistosome/snail host combinations. *Journal of Parasitology* 72, 813-829
- LICHTENBERGOVÁ L., HORÁK P. (2012)** Pathogenicity of *Trichobilharzia* spp. for Vertebrates, 2012
- LIVINGSTONE D. R., ZWAAN A. (1983)** Carbohydrate metabolism of Gastropods. Mollusca: Metabolic Biochemistry and Molecular Biomechanics, editor Hochachka P.W., Academic Press, Londýn 177 – 242
- LOOKER D. L., ETGES F. J. (1979)** Effect of *Schistosoma mansoni* Infection on Fecundity and Perivitelline Fluid Composition in *Biomphalaria glabrata*. *The Journal of Parasitology* 65 (6), 880-885
- LOCKYER A. E., OLSON P. D., ØSTERGAARD P., ROLLINSON D., JOHNSTON D. A. (2003)** The phylogeny of the Schistosomatidae based on three genes with emphasis on the interrelationships of *Schistosoma* Weinland *Parasitology* 216, 203-224
- LOKER E. S. (1979)** Effect of *Schistosomatium douthitti* on the growth, survival, and reproduction of *Lymnaea catascopium*. *The Journal of Invertebrate Pathology* 34, 138-144
- LOKER E. S. (1983)** A comparative study of the life-histories of mammalian schistosomes. *Parasitology* 87 (2), 343–369
- LOKER E. S., BRANT S. V. (2006)** Diversification, dioecy and dimorphism in schistosomes. *Trends in Parasitology*, 22 (11), 10–12
- LUSTRINO D., TUNHOLI-ALVES V. M., TUNHOLI V. M., BESSA E. C. A., PINHEIRO J. (2008)** *Allamanda catártica* I. (Apocynacea) seeds induces changes on carbohydrate deposits of *Bradybaena similares* (Férussac, 1821), (Mollusca, Bradybaenidae). *Rev. Bras. Zootecias* 10, 23–27.
- LV C., HONG Y., FU Z., LU K., CAO X., WANG T., et al. (2016)** Evaluation of recombinant multi-epitope proteins for diagnosis of goat schistosomiasis by enzyme-linked immunosorbent assay, *Parasites & Vectors* 9(135), 1–11
- MALEK E. A. (1967)** Experimental infection of several Lymnaeid snails with *Heterobilharzia americana*. *The Journal of Parasitology* 53 (4) 700-721
- MALEK E. A., CHENG T. C. (1974)** Medical and economic malakology, Academic Press, New York, 1974 stran + příloha, ISBN: O-12-466150-5
- MANDAHL-BARTH G. D. (1962)** Key to the Identification of East and Central African Freshwater Snails of Medical and Veterinary Importance. *Bulletion of the World Health Organization* 27, 135–150
- MANGAL T. D., PATERSON S., FENTON A. (2010)** Effects of Snail Density on Growth, Reproduction and Survival of *Biomphalaria alexandrina* Exposed to *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology Research* 2010, 1-7
- 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.
- MARKETON J. I. W., GLASER R. (2008)** Stress hormones and immune function. *Cellular Immunology* 252, 16-26
- MARXEN J. C., BECKER W. (2000)** Calcium binding constituents of the organic shell matrix from the freshwater snail *Biomphalaria glabrata*. *Comparative Biochemistry an Physiology B* 12, 235-242
- MASTERSON C., FRIED B. (1992)** Chemoattraction And Dietary Preferences of *Biomphalana Glabrata* (Gastropoda : Planorbidae ) For Leaf Lettuce , Tetramin And Hen’S Egg Yolk. *Comparative Biochemistry an Physiology* 103 (3), 597–599

- MAULEMAN E. A. (1971)** Host-parasite interrelationships between the freshwater pulmonate *Biomphalaria pfeifferi* and the trematode *Schistosoma mansoni*. *Netherlands Journal of Zoology* 22, 355-427
- MAZURAN N., HRSÁK V., TOMIĆ M., PÁPES D. (1999)** Effects of CaCl<sub>2</sub> and CaBr<sub>2</sub> on the fecundity of *Planorbium corneum* L. *Chemosphere* 38, 2345-2355
- McCRAW B. M. (1961)** Life history and Growth of the Snail, *Lymnaea humilis* Say. *Transactions of the American Microscopical Society* 80 (1), 16-27
- McCREESH N., BOOTH M. (2014)** The effect of simulating different intermediate host snail species on the link between water temperature and schistosomiasis risk. *PLOS ONE* 9(7), 1-7
- McMAHON J. E. (1976)** Circadian rhythm in *Schistosoma haematobium* egg excretion. *International Journal for Parasitology* 6, 373-377
- \*MEIER, M., AND C. MEIER-BROOK (1981)** *Schistosoma mansoni*: Effect on growth, fertility, and development of distal male organs in *Biomphalaria glabrata* exposed to miracidia at different ages. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 66, 121-131
- MELLINK J. J., VAN DEN BOVENKAMP W. (1985)** In vitro culture of intramulluscan stages of the avian schistosome *Trichobilharzia ocellata*. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 71 (3) 337-351
- \*METZ H. (1973)** Final report on the influence of salinity and crowding on the bilharzia vector snails *Biomphalaria pfeifferi* and *Physopsis africanus*. Confidential report CSIR/NIWR 27th steering committee meeting: Marine disposal of effluents. *Progress Report* 26
- MEULEMAN E. A. (1972)** Host-parasite interrelationships between the freshwater pulmonate *Biomphalaria pfeifferi* and the trematode *Schistosoma mansoni*. *Netherlands Journal of Zoology* 22, 355-427
- MEULEMAN E. A., HUYER A. R., LUUB T. W. J. (1984)** Injection of *Lymnaea stagnalis* with miracidia of *Trichobilharzia ocellata*. *Zeitschrift Für Parasitenkunde* 70 (2), 275–278
- MEULEMAN E. A., HUYER A. R., & MOOIJ J. H. (1984)** Maintenance of the life cycle of *Trichobilharzia ocellata* via the duck *Anas platyrhynchos* and the pond snail *Lymnaea stagnalis*. *Netherlands Journal of Zoology* 34 (3), 414 – 417
- MISHRA A., AGRAWAL M.C. (1996)** Factors influencing maintenance of *Indoplanorbis exustus* in the laboratory. *The Indian Journal of Animal Sciences* 66, 346-347
- MONÉ H., FOURNIER A. (1994)** Effects of snail-conditioned water on survival and host-searching behaviour of schistosome miracidia. *Animal Behaviour* 48(1), 1-8
- MORISHITA F., MUKAI S. T., SALEUDDIN A. S. (1998)** Release of proteins and polysaccharides from the albumen gland of the freshwater snail *Helisoma duryi*: effect of cAMP and brain extracts. *Journal of Comparative Physiology* 182 (6), 817–825.
- MORLEY N. J., MORLEY N. J. (2012)** Thermodynamics of miracidial survival and metabolism. *Parasitology* 139(12), 1640-1651
- MOUAHID A., THÉRON A (1987)** *Schistosoma bovis*: Variability of cercarial production as related to the snail hosts: *Bulinus truncatus*, *B. wrighti* and *Planorbium metidjensis*. *International Journal for Parasitology* 17 (8), 1431-1434
- MUÑOZ-ANTOLI C., MARÍN A., TOLEDO R., ESTEBAN J. G. (2007)** Effect of *Echinostoma friedi* (Trematoda: Echinostomatidae) experimental infection on the longevity, growth and fecundity of juvenile *Radix peregra* (Gastropoda: Lymnaeidae) and *Biomphalaria glabrata* (Gastropoda: Planorbidae) snails. *Parasitology Research* 101, 1663-1670
- NAKADERA Y., SWART E. M., MAAS J. P. A., MONTAGNE-WAJER K., TER MAAT A., KOENE J. M. (2015)** Effects of age, size, and mating history on sex role decision of a simultaneous hermaphrodite. *Behavioral Ecology*, 1-10
- NAŠINCOVÁ V.,** Vývojová stádia motolic v našich vodních plžích a vývojové cykly vybraných druhů čeledi Ophalometridae a Echinostomatidae., České Budějovice, 1992, Kandidátská disertační práce, Parazitologický ústav Československé akademie věd, 268 stran + obrazová příloha
- NG T. Y., PAIS N. M., WOOD C. M. (2011)** Ecotoxicology and Environmental Safety Mechanisms of waterborne Cu toxicity to the pond snail *Lymnaea stagnalis* : Physiology and Cu bioavailability. *Ecotoxicology and Environmental Safety* 74 (6), 1471–1479
- NOLAND L. E., CARRIKER M. R. (1946)** Observations on the biology of the snail *Lymnaea stagnalis appressa* during twenty generations in laboratory culture. *The University of Notre Dame* 36, 467-493.



- NORTON T. A., HAWKINS S. J., MANLY N. L., WILLIAMS G. A., WATSON D. C. (1990)** Scraping a living : a review of littorinid grazing. *Hydrobiologia* 193, 117-138
- NTONIFOR H. N., AJAYI J. A. (2007)** Studies on the ecology and distribution of some medically important freshwater snail species in Bauchi State, Nigeria. *International Journal of Biological and Chemical Sciences* 1(2), 121-127
- OLIVEIRA-FILHO E. C., CAIXETA N. R., SIMPLÍCIO N. C. S., SOUSA S. R., ARAGÃO T. P., MUNIZ D. H. F. (2013)** Implications of water hardness in ecotoxicological assessments for water quality regulatory purposes: a case study with the aquatic snail *Biomphalaria glabrata*. *Brazilian Journal of Biology* 74(1), 175-180
- OLIVIER L. (1949)** *Schistosoma dermatitis*, a sensitization phenomenon. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 49, 290-302
- \*OLIVIER L. (1953)** Observations on the migrations of avian schistosomes in mammals previously unexposed to cercariae. *The Journal of Parasitology* 39, 237-243
- OLIVIER L., MAO C. P. (1949)** The early larval stages of *Schistosoma mansoni* Sambon, 1907 in the snail host, *Australorbis glabratus* (Say, 1818). *The Journal of Parasitology* 35, 267-275
- PAN C-T. (1963)** Generalized and focal tissue responses in the snail *Australorbis glabratus*, infected with *Schistosoma mansoni*. *Annals of the New York Academy of Science* 113, 475-485
- PARAENSE W. L., CORREA L. R. (1989)** A potential vector of *Schistosoma mansoni* in Uruguay. *Memórias de Instituto de Oswaldo Cruz* 83(3), 281-288
- PFENNINGER M., CORDELLIER M., STREIT B. (2006)** Comparing the efficacy of morphologic and DNA based taxonomy in the freshwater gastropod genus *Radix* (Basommatophora, Pulmonata). *BMC Evolutionary Biology* 6, 100
- PFLEGER, V. (1988)** Měkkýši., Artia, Praha, 192 stran, ISBN: 37-003-88
- PIECHOCKI A. (1979)** Mollusca: Gastropoda, Państwowe wydawnictwo naukowe, Polsko, 187 stran, ISBN : 8301011432
- PONDER W. F., LINDBERG D. R. (1997)** Towards a phylogeny of gastropod molluscs: an analysis using morphological characters. *Zoological Journal of the Linnean Society* 119, 83-265
- POULIN R. (1995)** “Adaptive“ Changes in the Behaviour of Parasitized Animals: A critical Review. *Nederlandse Akademie von Wetenschappen C* 83, 217-227
- RAUT S. K. (1996)** Thermal effect on the life cycle parameters of the medically important freshwater snail species *Lymnaea (Radix) lutolea* (Lamarck). *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* 9 1(1), 119-128
- RAYMOND K. M., PROBERT A. J. (1987)** The effect of light and darkness on the production of cercariae of *Schistosoma haematobium* from *Bulinus globosus*. *Journal of Helminthology* 61 (4), 291-296
- ROBERT M., KEVIN V. (2006)** Chronic toxicity of lead to three freshwater invertebrates-branchionus. *Environmental Toxicology and Chemistry* 25 (1), 97-104
- ROLLINSON D., SIMPSON A. J. G. (1987)** The biology of *Schistosoma*, from Genes to Latrines Academic Press, Londýn, 51-82, ISBN:0-12-593692-3
- ROSEMOND A. D. (1994)** Multiple Factors Limit Seasonal Variation in Periphyton in Forest Stream. *Journal of the North American Benthological Society* 12(3), 333-344
- RUDOLFOVÁ J., HAMPL V., BAYSSADE-DUFOUR C., LOCKYER A. E., LETTLEWOOD T. J. (2005)** Validity reassessment of *Trichobilharzia* species using *Lymnaea stagnalis* as the intermediate host. *Parasitology Research* 95, 79-89
- RUDOLFOVÁ J., HAMPL V., SKÍRNISSON K. (2006)** from *Cygnus cygnus* ( L. ) ( Anatidae ). *Parasitology International* 55, 179-186
- RUTHERFORD J. C., KEFFORD B. J. (2005)** Effects of salinity on stream ecosystems : improving models for macroinvertebrates. *CSIRO Land and Water Technical Report* 22/05, 1-76
- SARQUIS O., PIERI O. S., CUNHA R. A., JURBERG P. (1998)** The Kinetic Behaviour of *Biomphalaria straminea* in Laboratory Conditions, Effect of Bayluscide WP 70 , *Memórias de Instituto Oswaldo Cruz* 93, 239-241
- SCHALLIG H. D., HORDIJK P. L., OOSTHOEK P. W., DE JONG-BRINK M. (1991)** Schistosomin, a peptide present in the haemolymph of *Lymnaea stagnalis* infected with *Trichobilharzia ocellata*, is produced only in the snail's central nervous system. *Parasitology Research* 77, 152-156
- SCHALLING H. D., SASSEN M. J. M., DE JONG-BRINK (1992)** In vitro release of the anti-gonadotropic hormone schistosomin, from the central nervous system of *Lymnaea stagnalis* is induced with a methanolic extract of cercariae of *Trichobilharzia ocellata*. *Parasitology* 104, 309 -314

- SCOTT M. MA. (1999)** Freshwater Snails ( Mollusca : Gastropoda ) of Maine. *Northeastern Naturalist* 6 (1), 39–88
- SGOOG G. (1978)** Nordic Society Oikos Influence of Natural Food Items on Growth and Egg Production in Brackish Water Populations of *Lymnaea Peregra* and *Theodoxus fluviatilis* (Mollusca) *Oikos* 31(3), 340–348.
- SHAMES N., AGRAWAL M.C., RAO K.N.P. (2000)** Chemotherapeutic efficacy of praziquantel and closantel in experimental porcine schistosomiasis. *The Indian Journal of Animal Sciences* 70, 797-800
- SHARTAU R.B., HARRIS S., BOYCHUK E. C., GOLDBERG J. I. (2010)** Rotational behaviour of encapsulated pond snail embryos in diverse natural environments. *The Journal of Experimental Biology* 213, 2086-2093
- SHIFF C. J. (1974)** Seasonal Factors Influencing the Location of *Bulinus* ( *Physopsis* ) *globosus* by Miracidia of *Schistosoma haematobium* in Nature. *The Journal of Parasitology* 60 (4), 578–583
- SHOSTAK A.P., ESCH G. (1990)** Photocycle-Dependent Emergence by Cercariae of *Halipegus occidualis* from *Helisoma anceps*, with Special Reference to Cercarial Emergence Patterns as Adaptations for Transmission. *The Journal of Parasitology* 76 (6), 790-795
- SHRISTAVA M.K., AGRAWAL M.C. (1999)** Doubtful efficacy of lithium antimony thiomalate (anthiomaline) in schistosomiasis. *Journal Parasitology* 13, 67-68
- SINGH O., AGRAWAL R.A. (1981)** Toxicity of certain pesticides to two economic species of snail in northern India. *Journal of Economic Entomology* 74, 568-571.
- SIRE C., DURAND P., POINTIER J. P., THÉRON A. (1999)** Genetic Diversity and Recruitment Pattern of *Schistosoma mansoni* in a *Biomphalaria glabrata* Snail Population : A Field Study Using Random-Amplified Polymorphic. *The Journal of Parasitology* 85 (3), 436–441
- SKÁLA V., JINDROVÁ Z., WALKER A. J., HORÁK P. (2013)** Nitric oxide production by haemocytes of two lymnaeid snail, *Lymnaea stagnalis* and *Radix lagotis*: the effect of various treatments, trematode infection and water conditions. *Molluscan Forum* 2013, 15
- SKÍRNISSON K., KOLÁŘOVÁ L. (2008)** Diversity of bird schistosomes in anseriform birds in Iceland based on egg measurements and egg morphology. *Parasitology Research* 103 (1), 43-50
- SOLDÁNOVÁ M., SELBACH C., SURES B. (2016)** The Early Worm Catches the Bird ? Productivity and Patterns of *Trichobilharzia szidati* Cercarial Emission from *Lymnaea stagnalis*, *PLOS ONE* 11(2), 21 stran
- SOPOTT-EHLERS B., HAAS W., EHLERS U. (2003)** Ultrastructure of pig- mented and unpigmented photoreceptors in cercariae of *Trichobilharzia ocellata* (Plathelminthes, Trematoda, Schisto- somatidae): evidence for the evolution of parasitism in Neodermata. *The Parasitology Research* 91, 109–116
- SORENSEN R. E., MINCHELLA D. J. (2001)** Snail-trematode life history interactions : past trends and future directions. *Parasitology* 123, 3–18.
- SOUCEK D.J., DICKINSON A. (2012)** Acute Toxicity of Nitrate and Nitrite to Sensitive Freshwater Insects, Mollusks, and a Crustacean. *Archives of Environmental Contamination and Toxicology* 62, 233-242
- SOUSA W. P., GLEASON M. (1989)** Does parasitism compromise host survival under extreme environmental conditions? The case for *Cerithidea californica* (Gastropoda: Prosobranchia), *Oecologia* 80, 456-464
- STANLEY E. H., MAXTED J. T. (2008)** Changes in the dissolved nitrogen pool across land cover gradients in Wisconsin streams. *Ecological Applications* 18,1579–1590
- STEINAUER M. L., BONNER K. M., SCIENCES B., MEDICINE V. (2012)** Host Susceptibility Is Altered by Light Intensity After Exposure to Parasites, *The Journal of Parasitology* 98 (5), 1052-1054
- STERNER, R. W. (1993)** Daphnia growth on varying quality of scenedesmus: mineral limitation of zooplankton. *Ecology* 74(8), 2351-2360
- STERNER R. W., SCHULZ K. L. (1998)** Zooplankton nutrition: Recent progress and a reality check. *Aquatic Ecology* 32, 261–279
- STOIBER T., CROTEAU M. N., ROMER I., TEJAMAYA M., LEAD J. R., LUOMA S. N. (2015)** Influence of hardness on the bioavailability of silver to a freshwater snail after waterborne exposure to silver nitrate and silver nanoparticles. *Nanotoxicology* 9 (7), 918-927
- STRONG E. E., GARGOMINY O., PONDER W. F., BOUCHET P. H. (2008)** Global diversity of gastropods (Gastropoda; Mollusca) in freshwater. *Hydrobiologia* 595, 149- 166.
- STUDER A., POULIN R. (2014)** Analysis of trait mean and variability versus temperature in trematode cercariae : is there scope for adaptation to global warming ? *International Journal for Parasitology* 44 (6), 403–413
- SUKHDEO M. V. K., SUKHDEO S. C. (2004)** Trematode behaviours and the perceptual worlds of parasites1. *Canadian Journal of Zoology* 82 (2), 292 – 315

- TAYLOR A. E. R., MULLER R. (1979)** Pathogenic processes in parasitic infections., Symposia of the British Society for Parasitology, Blackwell Scientific Publications, Oxford, 107 stran, ISBN-10: 0632002670
- \***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 (5), 652-655
- THÉRON A., JOURDAN J. (1987)** Larvar development: Eggs to cercarie. The Biology of Schistosomes., (editoři Rollinson D. a Simpson J.G.), Academic Press, Londýn, 83-113, ISBN-10: 0125936923
- THOMAS J. D., LOUGH A., ARAM R. H. (1974)** The effects of calcium in the external environment on the growth and natality rates of *Biomphalaria glabrata* (Say). *Journal of Animal Ecology* 43, 839-860
- TUCKER M. S., KARUNARATNE L. B., LEWIS F. A., FREITAS T. C., LIANG Y. S. (2013)** *Schistosomiasis*. *Current Protocols in Immunology* 103 (1), 19.1.15 - 19.1.58
- ULMER M. J. (1970)** Notes on rearing of snails in the laboratory. Experiments and techniques in parasitology., (editoři MacInnis A.J. a Voge M., W.H. Freeman), San Francisco, 143-144, ISBN-13: 9780716706687
- VINARSKI M. V. (2013)** One, two, or several? How many lymnaeid genera are there? *Ruthenica* 23 (1), 41-58
- WALKER A. J. (2011)** The Biology of Schistosome Life Stages. *Parasites & Vectors*, 1
- WALTER H. J. (1968)** Evolution, taxonomic revolution, and zoogeography of the *Lymnaeidae*. *Annual Reports of Americal malacologist Union* 35, 18-20
- WATSON D. W., MULLENS B. A., PETERSEN J. J. (1993)** Behavioral fever response of *Musca domestica* (Diptera: Muscidae) to infection by *Entomophthora muscae* (Zygomycetes: Entomophthorales) *Journal of Invertebrate Pathology* 61, 10-16
- WEBBE G., JAMES C. (1971)** The importation and maintenance of schistosomes of human and veterinary importance. In: Isolation and Maintenance of Parasites in vivo. *Symposium of the British Society for Parasitology* 20, 77-107
- \***WEDEPOHL K.H. (1970)** Handbook of Geochemistry Vol II/2IV, Springer-Verlag, Berlin, Německo, 2311 stran ISBN: 978-3-642-46302-0
- WILSON R. A. (1987)** Cercarie to Liver Worms: Development and Migration in the Mammalian Host. The biology of *Schistosoma*, from Genes to Latrines. (editoři Rollinson D. a Simpson A.J.G.), Academic Press, Londýn, 51-8 ISBN-10: 0125936923
- WULLSCHLEGER E. B., JOKELA J. (2002)** Morphological plasticity and divergence in life-history traits between two closely related freshwater snails, *Lymnaea ovata* and *Lymnaea peregra*. *Journal of Molluscan Studies* 68, 1-5
- XIA M. Y., JOURDANE J. (1991)** Penetration and migration route of *Schistosoma japonicum* miracidia in the snail *Oncomelania hupensis*. *Parasitology* 103, 77-83
- YOUNG J. O. (1975)** A laboratory study, using <sup>45</sup>Ca tracer, on the source of calcium during growth in two freshwater species of gastropoda. *Proceedings of the Malacological Society* 41, 439 - 445
- YU Y., NI X., HUANG J., ZHU Y., QI Y. (2016)** Taurine drinking ameliorates hepatic granuloma and fibrosis in mice infected with *Schistosoma japonicum*. *International Journal for Parasitology: Drugs and Drug Resistance* 6 (1), 35-43
- ZBIKOWSKA E. (2004)** Does behavioural fever occur in snails parasited with trematode larvae? *Journal of Thermal Biology* 29, 675-679
- ZEKHNINI A., YACOUBI B., MOUKRIM A., RONDELAUD D. (1997)** *Schistosoma haematobium*: comparative studies on prevalence and cercarial shedding according to the shell diameter of *Planorbis metidjensis* at miracidial exposure. *Parasitology Research* 83, str 303-305
- ZHANG S., NIAN H., WANG B., LOKER E. S., ADEMA C. M. (2009)** Schistosomin from the snail *Biomphalaria glabrata*: Expression studies suggest no involvement in trematode-mediated castration. *Molecular & Biochemical Parasitology* 165, 79-86
- ZINCHENKO T. D., GOLOVATYUK L. V. (2013)**. Salinity Tolerance of Macroinvertebrates in Stream Waters (Review). *Arid Ecosystems* 3 (3), 113-121.
- ZSOMBOK, A., SCHROFNER S., HERMANN A., KERSCHBAUM H. H. (2000)**. Nitric oxide increases excitability by depressing a calcium activated potassium current in snail neurons. *Neuroscience Letters* 295, 85-88

\* sekundární citace

## **10. INTERNETOVÉ ZDROJE**

- 1) <http://www.pvk.cz/vse-o-vode/pitna-voda/vlastnosti-vody/tvrdost-vody/>
- 2) <http://www.afbr-bri.com/schistosomiasis/standard-operating-procedures/preparation-of-suitable-water-for-snails/>
- 3) <http://www.afbr-bri.com/schistosomiasis/standard-operating-procedures/changing-containers-of-snails/>
- 4) <http://www.afbr-bri.com/schistosomiasis/standard-operating-procedures/gel-snail-food-preparation/>