

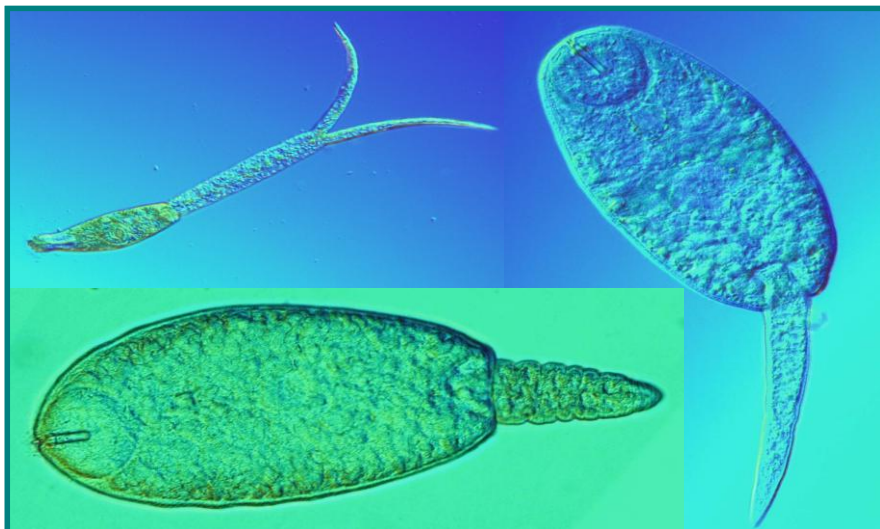
Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Přírodovědecká fakulta
Katedra parazitologie



Diplomová práce

**Životní strategie motolic (Digenea) se zaměřením na
vývojové stadium cercárie.**

Bc. Andrea Bednářová



**Školitel: RNDr. Anna Faltýnková, PhD.
České Budějovice, 2010**

Bednářová, A., 2010: Životní strategie motolic (Digenea) se zaměřením na vývojové stadium cercárie. [Life strategies of flukes (Digenea) with focus on the cercarial developmental stage. Mgr. Thesis, in Czech.] – 67 p., Faculty of Sciences, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace:

In the present study the production of cercariae (Digenea) in the first intermediate host was studied; three trematode model species (*Opisthioglyphe ranae*, *Plagiorchis elegans*, *Diplostomum pseudospathaceum*) were chosen. In the first part of the thesis differences in features of cercarial production and their size during the season were examined. The second part was focused on the influence of laboratory conditions on cercarial output. The production in the laboratory was compared with the production in natural conditions (in the pond).

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě – v úpravě vzniklé vypuštěním vyznačených částí archivovaných Přírodovědeckou fakultou – elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

Datum:

Podpis:

Poděkování

Na prvním místě bych chtěla poděkovat své školitelce Anně Faltýnkové za mnoho věcných rad a velmi cenných připomínek a také Tomáši Scholzovi a Anetě Kostadinové. Mirce Soldánové bych chtěla poděkovat za praktickou pomoc v terénu a pomoc při identifikaci materiálu. Martině Borovkové a Blance Škoříkové za pomoc v terénu. Mé velké díky patří také Milanu Říhovi za jeho cenné rady a pomoc při realizaci této diplomové práce. Své rodině chci poděkovat za jejich lásku a podporu při studiu, dodávali mi neocenitelnou inspiraci a odhodlání.

Obsah

1. ÚVOD	1
1.1. Obecný úvod	1
1.2. KAPITOLA 1. Sezónní rytmus ve vyplouvání cercárií z plovatky bahenní – sledování počtu a velikosti cercárií tří modelových druhů.....	3
1.3. KAPITOLA 2. Srovnání produkce cercárií <i>Diplostomum pseudospathaceum</i> z plovatky bahenní v přírodních a laboratorních podmínkách	7
2. CÍLE PRÁCE	10
3. MATERIÁL A METODIKA	11
3.1. Přehled lokalit	11
3.2. KAPITOLA 1. Sezónní rytmus ve vyplouvání cercárií z plovatky bahenní – sledování počtu a velikosti cercárií tří modelových druhů.....	12
3.2.1. Sběr a vyšetření měkkýšů.....	12
3.2.2. Vyplouvání cercárií z měkkýšů.....	13
3.2.3. Počítání a měření cercárií.....	13
3.2.4. Analýza dat.....	14
3.2.4.a. Počty cercárií.....	14
3.2.4.b. Velikost cercárií	14
3.3. KAPITOLA 2. Srovnání vyplouvání cercárií <i>Diplostomum pseudospathaceum</i> z plovatky bahenní v přírodních a laboratorních podmínkách	15
3.3.1. Terénní část (přirozené prostředí)	15
3.3.2. Laboratorní část.....	16
3.3.3 Analýza dat.....	17
4. VÝSLEDKY	18
4.1. KAPITOLA 1. Sezónní rytmus ve vyplouvání cercárií z plovatky bahenní – sledování počtu a velikosti cercárií tří modelových druhů.....	18
4.1.1. Velikost měkkýše a teplota vody	18
4.1.2. Sledování počtu cercárií během roku	18
4.1.3. Sledování velikosti cercárií během roku	19
4.2. KAPITOLA 2. Srovnání počtu vyplavaných cercárií <i>Diplostomum pseudospathaceum</i> z plovatky bahenní v přírodních a laboratorních podmínkách	20
5. DISKUZE	22
5.1. KAPITOLA 1. Sezónní rytmus ve vyplouvání cercárií z plovatky bahenní – sledování počtu a velikosti cercárií tří modelových druhů motolic	22
5.1.1. Sledování počtu cercárií během roku	22
5.1.2. Sledování velikosti cercárií během roku	24
5.2. KAPITOLA 2. Srovnání počtu vyplavaných cercárií <i>Diplostomum pseudospathaceum</i> z plovatky bahenní v přírodních a laboratorních podmínkách	25
6. ZÁVĚR	28
7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY	29
8. Přílohy	45
8.1. Tabulky.....	45
8.2. Obrázky	51

1.1. Obecný úvod

Motolice (Trematoda: Digenea) jsou významnou, výhradně parazitickou skupinou plathelminťů (Platyhelminthes: Neodermata). Díky svým komplexním životním cyklům a fyziologickým, morfologickým, biochemickým a ekologickým adaptacím patří mezi úspěšné cizopasníky širokého spektra hostitelů. Jsou proto také často využívány jako modelové organismy ke studiu životních strategií a evolučních trendů (Fried a Graczyk 1997; Galaktionov a Dobrovolskij 2003; Poulin 2007).

Zástupce motolic můžeme najít v nejrozličnějších ekosystémech a jejich rozšíření je téměř kosmopolitní (Yamaguti 1975; Kearns 1998; Galaktionov a Dobrovolskij 2003; Cribb a kol. 2003; Roberts a Janovy 2005). Role motolic při spoluvytváření ekosystémů byla v minulosti podceňována, dnes je však známo, že motolice jsou významnou součástí potravních řetězců, kde pouze pasivně nekolují, ale významnou měrou se podílejí na jejich délce, struktuře a na toku energie (Hechinger a Lafferty 2005; Hechinger a kol. 2006; Hudson a kol. 2006; Lafferty a kol. 2006; Kuris a kol. 2008; Lafferty a kol. 2008). Motolice jsou rovněž schopny způsobovat změny v morfologii, reprodukci, růstu a přežívání hostitelských organismů. Tato schopnost motolic je často vysvětlována jako strategie k usnadnění přenosu infekčních stádií do dalších hostitelů (Sousa 1983; Minchella a Scott 1991; Poulin 1995, 1996, 1999; Hudson a kol. 1998; Tompkins a kol. 2000, 2003; Mouritsen a Poulin 2002, 2005; Lafferty a kol. 2006, 2008; Miura a kol. 2006). Motolice tak mohou pozměněním fenotypu svých hostitelů vytvořit novou ekologickou niku nejen pro měkkýší hostitele (Miura a kol. 2006), ale také pro obojživelníky, ryby či ptáky (Mouritsen a Poulin 2003; Babirat a kol. 2004; Mouritsen a kol. 2005; Hechinger a kol. 2007; Lafferty a kol. 2008). Přítomnost a početnost určitého druhu organismu na daném území tak může být závislá na působení motolic (Lafferty 1999; Mouritsen a Poulin 2002; Hudson a kol. 2006; Hechinger a kol. 2007; Kuris a kol. 2008). Vliv parazitů na ekologii hostitelů je proto dnes široce akceptován a je považován za důležitý faktor, který ovlivňuje nejen strukturu populací hostitelů, ale i celých společenstev (Minchella a Scott 1991; Poulin 1998, 2006; Mouritsen a Poulin 2002, 2006; Pietroock a Marcogliese 2003; Thompson a kol. 2005; Hechinger a kol. 2006; Kuris a kol. 2008).

Motolice mohou tvořit podstatnou část biomasy v určitém ekosystému a mohou dokonce převyšovat biomasu vrcholových predátorů. Kuris a kol. (2008) zjistili, že biomasa

motolic na třech studovaných lokalitách v Kalifornii byla srovnatelná s biomasou přítomných ptáků, ryb, koryšů a mnohoštětinatců. Odhad roční produkce volně plovoucích stádií motolic, tedy cercárií, byl dokonce vyšší než biomasa všech ostatních parazitů a ptáků (Kuris a kol. 2008).

Nejcharakterističtějším biologickým rysem motolic jsou jejich složité vývojové cykly zahrnující několik ontogenetických stádií, která ke svému vývoji nejčastěji využívají dva až tři hostitele. Za klíčové organismy jsou považováni měkkýši (Mollusca), kteří slouží jako první mezihostitelé pro téměř všechny skupiny motolic; zároveň zde existuje poměrně úzká hostitelská specifita (Paine 1966; Esch a kol. 2001; Hechinger a Lafferty 2005). V těle měkkýšů dochází k asexuálnímu množení, při kterém se miracidium mění na mateřskou sporocystu, z mateřských sporocyst vzniká více generací dceřiných sporocyst nebo redií. Konečnými produkty vývoje v měkkýši jsou cercárie (Yamaguti 1975; Brooks a McLennan 1993; Kearn 1998; McCarthy a kol. 2002; Galaktionov a Dobrovolskij 2003; Roberts a Janovy 2005).

Velmi důležitým článkem v životních cyklech všech motolic je vývojové stádium cercárie, které slouží k vyhledání vhodných (mezi)hostitelů a k šíření na nová území. Život cercárií ve vnějším prostředí je časově omezený glykogenovými zásobami (okolo 24-48 h), ale v tomto krátkém období jsou cercárie velmi aktivní a intenzivně se pohybují (Haas 1992, 2003; Combes a kol. 1994, 2002; McCarthy 1999, 2002; Toledo a kol. 1999). Protože cercárie pronikají do širokého spektra hostitelů (bezobratlí, obratlovci), došlo u nich k vývoji mnoha různých strategií a adaptací, které vznikaly nezávisle na druhové příbuznosti a slouží jim především k úspěšnému nalezení a následnému proniknutí do dalších hostitelů (Combes a kol. 1994; Haas 1994, 2003; Pechnik a Fried 1995; Galaktionov a Dobrovolskij 2003; Haas 2003). Vzhledem k malým rozměrům cercárií vůči jejich hostitelům, kteří jsou často velmi pohybliví, orientují se cercárie většiny druhů v prostoru a čase nezávisle na přítomnosti hostitele (Combes a kol. 1994).

První zásadní adaptací je vyhledávání prostoru, ve kterém se nejpravděpodobněji vyskytuje daný hostitel. Stimuly sloužící pro cercárie jako vodítka jsou zejména gravitace, směr a intenzita světelného záření, teplota, či proud vody. Cercárie jsou tak schopny se v závislosti na své geotaxi a fototaxi koncentrovat u dna, ve vodním sloupci, či u hladiny (Saladin 1982; Uglem a Prior 1983; Haas a kol. 1992, 2000; Haas 1994, 2003; Combes a kol. 1994; Santos a kol. 2007).

Druhou adaptací je správné načasování vyplouvání cercárií. Protože je infekceschopnost cercárií omezena na krátký časový úsek, dochází k jejich koncentraci

v době, kdy je nejvyšší pravděpodobnost setkání s hostitelem. Řídicím podnětem je v tomto případě fotoperioda. Různé druhy cercárií tak vyplouvají z měkkýšů ve specifickou denní dobu, která je synchronizována s aktivitou dalších hostitelů (Théron 1984; Shostak a Esch 1990a,b; Combes a kol. 1994, 2002; Théron a Combes 1995).

Chování cercárií závislé přímo na přítomnosti hostitele, tzn. orientace pomocí gradientu hostitelských stimulů (aminokyseliny, peptidy, amoniak), je možné pouze na krátké vzdálenosti. Je proto využíváno druhy, které infikují málo pohyblivé hostitele (Feiler a Haas 1988a,b; Combes a kol. 1994; Haas a Van de Roemer 1997; Haas a kol. 2002; Haas 2003). Další strategií cercárií založenou na přítomnosti hostitele je napodobování potravy daného hostitele (prey-mimetism); některé druhy cercárií jsou schopny svým pohybem napodobovat například larvy vodního hmyzu (Austin a kol. 1972; Shiff a kol. 1972; Haas 1976; Haas a Schmitt 1982a,b; Granzer a Haas 1986; Haas a kol. 1994, 1997, 1990, 2002, 2003; Combes a kol. 1994).

Vyplování cercárií je významně ovlivněno i teplotou. Bylo zjištěno, že motolice citlivě reagují na malé teplotní změny ve vnějším prostředí a mohly by tak sloužit jako vhodný nástroj k odhadu dopadu klimatických změn na ekosystémy (Poulin 2006; Poulin a Mouritsen 2006). Rychle se množící studie zabývající se klimatickými změnami upozorňují na to, že teplota je faktor řídicí mnoho ekologických procesů a také ovlivňuje distribuci a šíření parazitů na nová území (Yilma a Malone 1998; Bossaert a kol. 1999; Marcogliese 2001; Harvell a kol. 2002; Mouritsen a Poulin 2002; Moodley a kol. 2003; Lafferty a kol. 2004; Poulin 2006; Poulin a Mouritsen 2006).

1.2. KAPITOLA 1. Sezónní rytmus ve vyplování cercárií z plovatky bahenní – sledování počtu a velikosti cercárií tří modelových druhů

Produkce cercárií v rediích či sporocystách v měkkýši je rozhodující ve fázi nepohlavního množení v životním cyklu motolic. Dostatek infekčních stadií (cercárií) zajišťuje efektivní přenos na další hostitele a úspěšné šíření parazitů v prostředí (Taskinen 1998; Galaktinov a Dobrovolskij 2003; Poulin 2006).

Produkce cercárií byla nejčastěji studována u medicínsky a veterinárně významných druhů motolic (Berquist 2002; McKerrow a Salter 2002). Nejvíce údajů proto nalézáme u zástupců rodu *Schistosoma* (Barbosa a kol. 1954; Ash 1972; Becker 1980; Théron 1984; Fryer a Probert 1988; Moukrim a kol. 1995) a u motolic *Fasciola hepatica* a *Fascioloides magna* (Dreyfuss a Rondelaud 1994; Vignoles a kol. 2006; Rondelaud a kol. 2007).

Nicméně můžeme nalézt i studie týkající se jiných druhů cercárií. Například zákonitosti mechanismu přenosu a infekivity u cercárií rodu *Diplostomum* jsou předmětem studií ve Finsku (Valtonen a Gibson 1997; Valtonen a kol. 1997, 2003; Karvonen a kol. 2003, 2004, 2006). Na druhou stranu jen ojediněle nalézáme práce týkající se studia produkce infekčních stádií u motolic, druhů jako jsou *Plagiorchis elegans* nebo *Opisthioglyphe ranae* (Lowenberger a Rau 1994; Zakikhani a Rau 1998), a to i přesto, že se v oblasti střední Evropy běžně vyskytují (Zbikowska a Zbikowski 2005; Faltýnková a kol. 2007).

Produkce cercárií hraje významnou roli ve strategii motolic. Důležitým aspektem ve strategii motolic je pak přítomnost infekčních stádií – cercárií ve správný čas na správném místě. Produkce cercárií z měkkýšů je však ovlivněna komplexem abiotických a biotických faktorů. Mezi ty nejdůležitější patří fotoperioda, světelné záření a s ním úzce související teplota, velikost a fyziologické dispozice hostitele, pH vody a řada dalších faktorů; významný vliv na produkci cercárií u mořských druhů mají například salinita, změny vodní hladiny mezi přílivem a odlivem (Shostak a Esch 1990; Jokela a Lively 1995; Lo a Lee 1996; Briers 2003; Karvonen a kol. 2003, 2004, 2006; Koprivnikar a Poulin 2006a,b; Poulin 2006).

Vliv teploty na produkci cercárií je poměrně dobře zdokumentovaný (Evans 1982, 1985; Evans a Gordon 1983; McCarthy 1990; Meyrowitsch a kol. 1991; Shostak 1993; Pechenik a Fried 1995). U většiny druhů motolic můžeme pozorovat zvýšení produkce jako odpověď na zvyšující se okolní teplotu (Lo a Lee 1996; Lyholt a Buchmann 1996; Mouritsen 2002; Poulin 2006). Ovšem bylo také zjištěno, že může docházet ke snížení počtu vyprodukovaných cercárií a to tehdy, když vyšší okolní teplota přesáhne určité optimum (Thielges a Rick 2006; Koprivnikar a Poulin 2009a,b).

Významným aspektem při studiu působení teploty na produkci cercárií je skutečnost, že vyšší teploty neovlivňují pouze zvýšení nebo snížení produkce cercárií, ale že teplota má vliv i na stupeň a rychlost vývoje motolic uvnitř měkkýšů (Ataev 1991; Mouritsen 2002; Poulin 2006; Thielges a Rick 2006).

Denní rytmus ve vyplouvání cercárií byl studován několika autory a je rozpoznáván jako adaptivní mechanismus ke zvýšení pravděpodobnosti přenosu motolic do dalších hostitelů (Jourdane a Théron 1987; Shostak a Esch 1990; Anderson 1993; Umadevi a Madhavi 1997; Toledo a kol. 1999). Různé druhy cercárií tak vykazují různé vysoké počty vyprodukovaných jedinců v konkrétním čase během dne. Například u cercárií schistosom byla zjištěna dvě maxima ve vyplouvání, která odpovídala době nejpravděpodobnějšího setkání s potencionálním hostitelem. První maximum bylo kolem jedenácté hodiny, což je optimální čas pro nákazu lidí, a dále pak vyplouvalo zvýšené množství cercárií pozdě

odpoledne, což je vhodné pro infekci krys (Théron a Combes 1995). Podobné výsledky u různých druhů motolic (např. z čeledi echinostomatidae, či heterophyidae) byly zjištěny i jinými autory (Asch 1972; Théron 1984; Raymond a Probert 1987; Shostak a Esch 1990a,b; Combes a kol. 1994; Umadevi a Madhavi 1997; Toledo a kol. 1999).

V podmínkách mírného pásma bychom u motolic mohli očekávat i sezónní rytmus ve vyplouvání cercárií. Je v zájmu motolice, aby nejvíce cercárií vyplouvalo v dobu, kdy bude nejvyšší pravděpodobnost setkání s dalším hostitelem, jeho výskyt ovšem může být omezen i na určité období v roce, například v reprodukčním období určitých hostitelů. Proto bychom mohli očekávat, že v některých částech roku bude množství vyplavaných cercárií vyšší.

Sezónní rytmus v prevalenci nákazy motolicemi, tedy období, kdy dochází k infekci motolicemi a v kterém období během roku je nakaženo nejvíce hostitelů, byl studován např. těmito autory: Janssen a Bock (1990), Rondelaud a kol. (2004), Karvonen a kol. (2006), Thieltges a Rick (2006). Ovšem informace o tom, jak intenzivní je produkce cercárií během roku a zda dochází ke kolísání v počtu uvolněných cercárií během ročního období, prakticky chybějí s výjimkou ojedinělých studií (Taskinen 1998; Fingerhut a kol. 2003). Taskinen (1998) se zabýval studiem intenzity produkce v různých ročních období a během dne u cercárií motolice *Rhipidocotyle fennica*, která jako svého mezihostitele využívá mlže. Ovšem v této práci nebyla produkce během ročních období měřena soustavně každý měsíc po celý rok. Budeme-li znát informace o tom, kolik cercárií je vyprodukováno během jednotlivých ročních období, mohou být tyto údaje užitečnými při prognózách změn ve výskytu parazitů včetně rozšiřování infekčních stádií motolic na nová území i při malém zvýšení okolní teploty vlivem globálního oteplování (Poulin a Mouritsen 2006). Dále by nám tyto výsledky mohly poskytnout užitečné informace o životních strategiích různých druhů motolic. Problémem však zůstává, že studium intenzity produkce cercárií v závislosti na ročním období bylo dosud zkoumáno omezeně a chybí tak dostatečný počet studií týkající se této problematiky.

Dalším faktorem, kterým se zabývalo jen velmi málo studií, je velikost cercárií. Vztahu mezi velikostí cercárií a jejich počtem bylo zatím věnováno velice málo pozornosti (Poulin 2006). Nicméně u cercárií z čeledi Schistosomatidae byla nalezena pozitivní korelace mezi délkou cercárií a jejich počtem (Loker 1983). McCarthy a kol. (2002) zjišťovali rozdílné strategie vyplouvání ve vztahu k dalšímu mezihostiteli u dvou druhů motolic čeledi Microphallidae a zabývali se i velikostí cercárií. U cercárií *Maritrema arenaria* tuto autoři pozorovali periodické vyplouvání velkého počtu malých cercárií. Naproti tomu cercárie druhu *Microphallus similis* vyplouvaly bez jakéhokoli náznaku časové synchronizace, byly o 15% větší než předchozí druh, ale jejich průměrné množství vyprodukované během 24 h bylo

dvakrát menší než u druhu *M. arenaria*. U cercárií *M. similis* byly dále zjištěny dobré plavecké schopnosti a jejich pohyb byl reakcí na světelnou intenzitu a změny v turbulenci vody, zatímco cercárie *M. arenaria* zůstávaly rozptýleny ve vodním sloupci. Tyto odlišnosti jsou vysvětlovány jako adaptace na výskyt a typ druhého hostitele. *M. similis* využívá pohyblivé a ne lehce lokalizovatelné mezihostitele, kterými jsou krabi. Zatímco *M. arenaria* má relativně lehce lokalizovatelné hostitele, jimiž jsou přisedlé druhy vilejšů. Dosud však nebyly publikovány výsledky pokusů týkajících se velikosti cercárií ve vztahu k sezóně.

Pro realizaci předkládané studie byla jako modelový druh měkkýše zvolena plovatka bahenní *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758). Je jedním z nejrozšířenějších vodních plžů střední Evropy (Jackiewicz 2000; Glöer 2002) a zároveň je nejhojnějším druhem na lokalitách, kde byla tato studie prováděna. Další výhodou je, že druhové spektrum motolic v plovatce bahenní je dobře prozkoumané a cercárie jsou snadno identifikovatelné (Našincová 1992; Faltýnková; 2002, 2005; Faltýnková a Haas 2006; Faltýnková a kol. 2007).

Jako modelové druhy motolic byly vybrány *Opisthioglyphe ranae* (Frölich, 1791), *Plagiorchis elegans* (Rudolphi, 1802) (oba druhy z čeledi Plagiorchiidae) a *Diplostomum pseudospathaceum* Niewiadomska, 1984 (čeleď Diplostomidae). Důvodem je to, že se na zkoumaných lokalitách vyskytují v nejhojnějším počtu. Každý z těchto druhů má odlišný průběh životního cyklu a lze tedy porovnat, zda se liší strategie vyplouvání cercárií v závislosti na typu dalšího mezihostitele. Tyto tři druhy motolic spojuje skutečnost, že jako prvního mezihostitele využívají v našich podmínkách nejčastěji plovatku bahenní.

Opisthioglyphe ranae je v našich podmínkách poměrně běžným parazitem obojživelníků. Jako druhé mezihostitele může tento druh motolice využívat měkkýše, nebo pulce, mladé skokany a larvy čolků. Definitivními hostiteli jsou obojživelníci, nejčastější zástupci rodů *Rana*, *Pelophylax*, *Bombina*, *Triturus* (Yamaguti 1971, 1975; Našincová 1992; Sitko a kol. 2006).

Plagiorchis elegans využívá jako druhé mezihostitele především larvy vodního hmyzu (v našich podmínkách nejčastěji larvy komárů druhu *Culex molestus*) a také měkkýše (*L. stagnalis*, *Galba palustris*). Jako definitivní hostitelé v případě druhu *P. elegans* jsou uváděni někteří savci (hmyzožravci) nebo ptáci (Lowenberger a Rau 1994). Dále můžeme v literatuře nalézt informace, že v případě tohoto druhu motolice byly úspěšné zkrmovací pokusy u kuřat a myši (Yamaguti 1971, 1975; Našincová 1992; Sitko a kol. 2006).

Rod *Diplostomum* je rovněž charakteristickým tříhostitelským vývojovým cyklem, kdy prvním mezihostitelem nejčastěji bývá, jak již bylo zmíněno, plovatka bahenní (*L. stagnalis*). Cercárie pak pronikají přes žábry a pokožku do ryb (např.: *Abramis brama*, *Cyprinus carpio*

Gobio gobio, *Rutilus rutilus*). Uvnitř ryb migrují a pronikají do očí, kde se mění v metacerkárie. Metacerkárie způsobují zhoršené vidění, což může vyústit až ke vzniku šedého zákalu u nakažených ryb. Obecně se předpokládá, že u těchto ryb pak dochází ke snížení ostražitosti vůči predátorům, ryby plavou více při hladině, hůře žerou a málo přibírají na váze, což je významné i z hlediska ekonomického. Zvyšuje se tak pravděpodobnost predace těchto ryb definitivními hostiteli tohoto rodu motolic, čímž jsou rybožraví ptáci (nejčastěji rackové) (Yamaguti 1971, 1975; Chappell a kol. 1994; McKeown a Irwin 1997; Seppälä a kol. 2008).

1.3. KAPITOLA 2. Srovnání produkce cercárií *Diplostomum pseudospathaceum* z plovatky bahenní v přírodních a laboratorních podmínkách

Vliv na vývoj motolic uvnitř měkkýše má celá řada biotických a abiotických faktorů, avšak nejvýznamnější roli hraje teplota. Řada studií prokázala, že produkce cercárií v měkkýších velmi citlivě reaguje na změny okolní teploty (Evans 1985; Shostak a Esch 1990a,b; Pechenik a Fried 1995; Lyholt a Buchmann 1996; Fried a kol. 1998; McCarthy 1999; Mouritsen 2002; Poulin 2006; Poulin a Mouritsen 2006).

V několika pracích také můžeme najít zmínku o tom, jak výsledky studií týkajících se produkce cercárií může ovlivnit i mechanická stimulace měkkýšů při převozu do laboratoře (Erasmus 1972; Anderson a kol. 1976; Bassard a kol. 1981; Taskinen 1998).

Existují dva způsoby, které si autor při studiu produkce cercárií může zvolit. Prvním z nich je možnost nakazit měkkýše určitým druhem motolice laboratorně, a pak sledovat vyplouvání a chování cercárií za laboratorních podmínek (Watertor 1968; Lowenberger a Rau 1993; Dreyfuss a kol. 1994; Abrous a kol. 1999; Vignoles a kol. 2006). Dalším způsobem je naopak použití měkkýšů přirozeně infikovaných, přivezených do laboratoře přímo ze studované lokality (Shoastak a Esch 1990; McCarthy 1998; McCarthy a kol. 2002; Karvonen a kol. 2003, 2004, 2006; Zbikowska a Zbikowski 2005). Následující postup je pak stejný pro oba dva způsoby. Měkkýši jsou rozděleni do nádobek s malým množstvím vody a stimuluje se vyplouvání cercárií světlem a teplem stolní lampy („vyplouvací metoda“ – Našincová 1992). Tato metoda je společně s pitvou měkkýšů plně dostačující pro získání přehledu o výskytu cercárií na studovaných lokalitách.

Pro přesnější ekologická sledování je ovšem její použitelnost sporná. Převoz měkkýšů, manipulace s nimi a jejich následné umístění do malého množství vody spolu s intenzivním světlem představují stresové faktory, které mohou narušit vnitřní rovnováhu jak hostitele, tak motolic. Tyto podmínky mají pravděpodobně vliv na hromadné vyplouvání cercárií, což je žádoucí pro získání materiálu k identifikaci. S největší pravděpodobností ale může docházet ke zkreslení rytmu vyplouvání motolic a jen těžko lze při takovémto postupu odhadnout reálné množství vyplavaných cercárií v určitém časovém úseku (Erasmus 1972; Anderson a kol. 1976; Bassard a kol. 1981; Taskinen 1998).

Měkkýše je proto pro další ekologické studie zpravidla nutno ponechat několik dní v laboratoři, aby došlo k jejich aklimatizaci. Existuje ale i další možnost a tou je sledovat vyplouvání cercárií přímo na studované lokalitě, čímž se tak vyhneme i případnému ovlivnění produkce cercárií z měkkýšů při převozu do laboratoře. Existuje několik prací, které se zabývaly studiem motolic a jejich vývojových stádií v terénních podmínkách (Coy a kol. 1981; McKindsey a McLaughlin 1995; Lysne a kol. 1998; Taskinen 1998; Sorensen a Minchella 2001). Nicméně v žádné z těchto studií nenalezneme konkrétní počty vyprodukovaných cercárií v laboratorních podmínkách srovnávané s počty cercárií uvolněných v přirozeném prostředí. Taskinen (1998) sice zjišťoval produkci cercárií v mlžích, které mezi jednotlivými pokusy ponechával v přírodě, ovšem pro samotné zjištění množství vyprodukovaných cercárií měkkýše přemísťoval do laboratoře.

Ve studii zpracované autory Fingerhut a kol. (2003) můžeme poprvé najít informace o reálném množství cercárií vyplavaných přímo na studované lokalitě, a to na Carpinterijském slánisku v Kalifornii. Tato skupina autorů využila přístroj, tzv. sběrač, který nasával cercárie od určitých skupin měkkýšů. Každá skupina obsahovala 200 jedinců měkkýšů druhu *Cerithidea californica*. Sběrač nasával různé druhy cercárií. Fingerhut a kol. (2003) sice ve svém pokusu zjistili, že produkce cercárií v laboratorních podmínkách byla 10–100 krát vyšší než produkce cercárií přímo na studované lokalitě (v terénních podmínkách), srovnání počtu cercárií vyprodukovaných v terénních a laboratorních podmínkách však prováděli v různém období během roku. Pozorování v terénu totiž prováděli v jarním období (od března do dubna) a pokusy v laboratoři pak v letním období (od června do září).

Obecně převládá názor, že produkce cercárií v laboratorních podmínkách je vyšší než v přirozeném prostředí (Thompson 1997; Taskinen 1998; Fingerhut a kol. 2003). Pro plánování laboratorních pokusů do budoucna je tedy důležité posouzení vlivu teplotních změn a manipulace s měkkýši na výši produkce cercárií a jejich vyplouvání. Jedinou možností je srovnání vyplouvání cercárií z měkkýšů v přirozeném prostředí a v laboratoři. Dosud však

neexistuje kvantifikované srovnání mezi vyprodukovaným množstvím cercárií z měkkýšů v jejich původním biotopu a množstvím cercárií uvolněných z mezipřenositelů v laboratoři ve stejném časovém úseku, tak aby toto srovnání bylo relevantní pro další studie a prognózy.

Pro realizaci tohoto pokusu byl zvolen druh motolice *Diplostomum pseudospathaceum*, viz 1. Úvod - kapitola 1.2., str. 6). Motolice rodu *Diplostomum* (Nordmann, 1832) patří mezi poměrně běžné parazity v podmínkách střední a severní Evropy. Například ve sladkých a brakických vodních systémech Finska patří zástupci tohoto rodu mezi nejrozšířenější motolice (Valtonen a Gibson 1997; Valtonen a kol. 1997, 2003) a působí zde ekonomické ztráty v chovech ryb (Karvonen a kol. 2003, 2004, 2006). *Diplostomum pseudospathaceum* je nejrozšířenějším druhem motolice i v našich podmínkách, a to hlavně díky skutečnosti, že zde existuje velké množství vodních ploch sloužících k chovu ryb. Získat informace týkající se infekčních stádií tohoto druhu motolice by pak mohlo být velmi významné i z epidemiologického hlediska.

2. CÍLE PRÁCE

Cílem této magisterské práce bylo studium životních strategií vývojových stádií motolic se zaměřením na produkci cercárií.

V první kapitole bylo cílem získat odpovědi na následující otázky:

Dochází během roku ke změnám v produkci cercárií z měkkýšů?

Dochází během dne ke kolísání v počtu uvolněných cercárií?

Dochází během roku ke změnám ve velikosti cercárií?

Druhá kapitola se týkala srovnání produkce v přirozených podmínkách oproti laboratorním a měla za cíl zodpovědět následující otázku:

Je počet cercárií motolice *Diplostomum pseudospathaceum* uvolněných z plovatky bahenní v přirozených podmínkách odlišný od počtu cercárií uvolněných za laboratorních podmínek?

3. MATERIÁL A METODIKA

3.1. Přehled lokalit

Pro odběr měkkýšů byly zvoleny dvě lokality, které jsou od sebe vzdálené přibližně 17 km a nacházejí se v jedné klimatické oblasti jižních Čech (obr. 1). A právě z tohoto důvodu byly obě tyto lokality pro následné analýzy vztáhnuty do jedné oblasti. Obě lokality spadají do geomorfologické oblasti Třeboňské pánve. Tato oblast vyniká bohatostí mokřadní a vodní vegetace. Nachází se zde rozsáhlé rybníční soustavy, které slouží především k chovu ryb. Se zakládáním těchto rybníků se v jižních Čechách začalo již ve 13. století a největšího rozmachu dosáhla výstavba rybníků v 16. století (Andreska 1987, Šusta 1997). Třeboňsko je i mezinárodně významným územím z hlediska ornitologického. Síť velkých vodních ploch představuje důležitou tahovou zastávku při migracích ptáků mezi severní a jižní Evropou a je důležitým hnízdicím centrem vodního ptactva (Ševčík 2006, Koblasa 2007). Nadmořská výška území se pohybuje od 421 do 550 m n. m. Území Třeboňské pánve patří do mírně teplé a mírně vlhké oblasti s mírnou zimou. Průměrná roční teplota se pohybuje okolo 8°C; průměrné roční srážky dosahují 650 mm (Ševčík 2006).

První studovanou oblastí bylo Třeboňsko, kde byly vybrány tři rybníky: Vlkov: 49°08'54"N, 14°43'50"E; rozloha 41 ha; Hluboký u Hamru: 49°09'44"N, 14°46'00"E; 4 ha; Hluboký Sax: 49°09'39"N, 14°46'18"E; 7 ha. Rybník Vlkov je od rybníků Hluboký Sax a Hluboký u Hamru vzdálen zhruba 2,5 km. Rybníky Hluboký u Hamru a Hluboký Sax jsou od sebe vzdáleny přibližně 350 m (obr. 2).

Druhou oblastí bylo Jindřichohradecko, kde se nacházejí tři studované rybníky: Zavadil: 49°04'34"N, 14°55'54"E; rozloha 1,4 ha; Velký Dvorecký: 49°04'39"N, 14°56'07"E; 3,7 ha; Bartoňovský: 49°07'19"N, 14°54'55"E; 1,3 ha. Rybník Zavadil je od Velkého Dvoreckého vzdálený přibližně 400 m a rybník Bartoňovský je od rybníků Zavadil a Velkého Dvoreckého vzdálený přibližně 5 km. Rybník Velký Dvorecký je s rybníkem Zavadil spojený (obr. 3).

Na každém rybníku byly vytyčeny transekty s rozměry upravenými podle podmínek dané lokality; pouze na těchto místech byli sbíráni měkkýši, aby jednotlivé sběry byly mezi sebou srovnatelné. Na rybníku Vlkov byl vytyčen transekt, který byl dlouhý 46 m, široký 1,5 m a hloubka vody byla 0,5 m. Na dalších rybnících byly stanoveny transekty následujících

rozměru: Hluboký Sax: 40 m × 4,7 m × 1 m; Hluboký u Hamru: 28,8 m × 8 m × 1 m; Zavadil: 28,6 m × 1,5 m × 0,5 m; Velký Dvorecký: 48,2 m × 1,5 m × 0,5 m; Bartoňovský: 48,3 m × 1,5 m × 0,5 m.

Břehy všech rybníků byly porostlé makrofyty s převahou *Typha latifolia* a *Phragmites australis*. Všechny tyto rybníky jsou využívány pro intenzivní chov ryb, především kapra obecného (*Cyprinus carpio*). Na rybnících byly v době sběru pozorovány tyto druhy ptáků: labuť obecná (*Cygnus olor*), kachna divoká (*Anas platyrhynchos*) a volavka popelavá (*Ardea cinerea*). Ve všech rybnících se v hojném množství vyskytovali následující obojživelníci: skokan hnědý (*Rana temporaria*), skokan zelený (*Pelophylax esculentus*), ropucha obecná (*Bufo bufo*) a kuňka ohnivá (*Bombina bombina*).

3.2. KAPITOLA 1. Sezónní rytmus ve vyplouvání cercárií z plovatky bahenní – sledování počtu a velikosti cercárií tří modelových druhů

3.2.1. Sběr a vyšetření měkkýšů

Odběry plovatky bahenní, *Lymnaea stagnalis* (Linnaeus, 1758) (obr. 4) byly prováděny ve čtrnáctidenních intervalech od ledna do prosince roku 2007; při každém odběru byla přibližně uprostřed transektu měřena teplota vody (obr. 5). Měkkýši byli sbíráni ručně nebo pomocí cedníku z vodních rostlin, kamenů a dna rybníků. Při jednotlivých odchycích byli přednostně sbíráni zhruba stejně velcí jedinci, aby byl minimalizován vliv velikosti měkkýšů na množství vyplavaných cercárií (viz tab. 1–3). Poté byli plžů v plastových nádobách přepraveni do laboratoře a po jednom jedinci umístěni do skleněných kádinek nebo plastových kelímků s odstátou vodou.

U každého měkkýše byla posuvným měřítkem zjištěna délka a šířka ulity. Pro následné testy byl použit objem měkkýšů (viz níže). Objem byl spočten podle vzorce pro jehlan:

$$V = 1/12 \cdot \pi \cdot d^2 \cdot v$$

kde d odpovídá šířce ulity měkkýše a za v byla dosazena délka ulity měkkýše. Výsledek pak byl vydělen 1000 pro přepočet kubických milimetrů na mililitr.

3.2.2. Vyplouvání cercárií z měkkýšů

V laboratoři byli měkkýši ponecháni pod světlem stolní lampy po dobu několika hodin (zhruba 5 h) a vlivem světla a tepla bylo navozeno vyplouvání cercárií. Cercárie uvolněné z měkkýšů byly identifikovány pomocí klíčů a morfologických popisů v pracích Našincové (1992) a Faltýnkové a kol. (2007). K samotnému pokusu pak byly vybrány plovatky nakažené motolicemi *Plagiorchis elegans* (Rudolphi, 1802), *Opisthioglyphe ranae* (Frölich, 1791) a *Diplostomum pseudospathaceum* (Niewiadomska, 1984).

Pro každý druh motolice byli při každém pokusu vybráni tři přibližně stejně velcí jedinci nakažených měkkýšů, tzn. dohromady devět plovatek. Následující den bylo u těchto měkkýšů sledováno vyplouvání cercárií (viz níže).

3.2.3. Počítání a měření cercárií

Následný pokus se odehrával v místnosti s konstantní teplotou (16°C), kde byli vybraní měkkýši ponecháni jednotlivě v kádinkách s čistou vodou přes noc (zhruba 10 h). Vyplouvání cercárií bylo monitorováno následující den v tříhodinových intervalech od 7 h do 22 h (celkem 15 hodin, 5 pozorování). Každé tři hodiny (poprvé v 7 h) byli měkkýši z kádinky vyjmuti a přemístěni do nové kádinky, obsahující čistou odstátou vodu o stejné teplotě a stejném objemu.

Z každé kádinky obsahující suspenzi vyplavaných cercárií bylo po promíchání přeneseno 10 × 1 ml vzorků do Petriho misek, do nichž bylo přidáno několik kapek 4% formalínu (4% vodný roztok formaldehydu) pro fixaci cercárií. Každá z Petriho misek byla prohlížena pod binokulárním mikroskopem a bylo spočítáno množství cercárií. To bylo následně přepočítáno na celkový objem vody v kádince.

Cercárie získané po prvních třech hodinách vyplouvání byly fixovány 4% horkým formalínem. Fixace horkým formalínem byla zvolena z toho důvodu, aby fixace proběhla co nejrychleji a došlo tak k co nejmenšímu poškození cercárií. Celkem 10 cercárií od každého druhu ze všech sledovaných plovatek (celkem 90 cercárií) bylo proměřeno pomocí počítačového programu Quick Photo Pro, případně pomocí okulárového mikrometru. U cercárií byly měřeny následující tělesné rozměry: délka a šířka těla, délka a šířka ocásku, délka a šířka ústní přísavky, délka a šířka břišní přísavky, v případě furkocercárií délka a šířka furky (obr. 6, 7).

3.2.4. Analýza dat

3.2.4.a. Počty cercárií

Nejprve byl proveden přepočít vyprodukovaných cercárií na objem měkkýše (tzn. počet cercárií byl vydělen objemem příslušného měkkýše), aby byl vyloučen vliv velikosti hostitele na počet cercárií (Graham 2003; Koprivnikar a Poulin 2009). Tyto hodnoty byly před provedením statistických testů (viz. níže) logaritmicky transformovány, aby bylo zachováno kritérium normality dat. Nebyl dělán rozdíl mezi měkkýši odebranými ze dvou studovaných lokalit, protože tyto lokality byly vztáhnuty do jedné oblasti.

Jednocestným ANOVA testem bylo hodnoceno, zda dochází ke změnám v objemu měkkýšů mezi jednotlivými ročními obdobími. Dále byl pomocí lineární regrese testován vztah mezi teplotou vody v terénu, během jednotlivých odběrů a množstvím vyprodukovaných cercárií (standardizovaných na objem měkkýše), a to jednotlivě pro každý druh.

Produkce byla stanovována u každého jedince plovatky pětkrát během 24 hodin, proto pro testování rozdílu v produkci byla použita metoda ANOVA Repeated Measures. Pomocí této metody bylo testováno, zda jsou rozdíly v počtu uvolněných cercárií mezi jednotlivými druhy motolic, zda dochází ke změnám v počtu uvolněných cercárií během dne a zda dochází ke kolísání v počtu uvolněných cercárií během roku. V tomto testu byly tři faktory: druh, roční období a interval odběru.

Všechny testy byly provedeny v programu Statistica (StatSoft, Inc. 2005, version 7.1.).

3.2.4.b. Velikost cercárií

Následující mnohorozměrné testy byly prováděny samostatně pro každý druh motolice. Byl porovnáván rozdíl ve velikosti cercárií během celého roku, který byl rozdělen na jaro (březen, duben, květen), léto (červen, červenec, srpen), podzim (září, říjen) a zimu (listopad, prosinec, leden, únor). Toto rozdělení bylo provedeno v závislosti na teplotě vody. Dále byl u každého druhu motolice sledován vliv hostitele na velikost cercárií, tj. zda existují rozdíly ve velikosti cercárií vyloučených z jednotlivých plovatek. Pro samotnou analýzu byla použita CVA (Canonical Variate Analysis), což je typ kanonické korespondenční analýzy (Canonical Correspondence Analysis, CCA) a používá označené skupiny jako “species data”, vysvětlující proměnné jako “environmental data”. Nejdříve byly testovány efekty všech

proměnných a potom byly pomocí funkce forward selection vybrány nejlepší skupiny vysvětlujících proměnných, čímž se eliminovaly nadbytečné proměnné. Statistická signifikance nalezených rozdílů byla testována neparametrickým permutačním Monte Carlo testem (MCPT; 999 permutací pro analýzu). Pro zjištění, která z použitých proměnných (roční období, hostitel) lépe vysvětluje variabilitu v datech (tzn. má větší vliv na velikost cercárií), byla provedena analýza hlavních komponent (PCA, Principal Component Analysis). Všechny monohorozměrné analýzy byly provedeny v programu Canoco pro Windows, verze 4.0 (Ter Braak a Šmilauer 1998).

3.3. KAPITOLA 2. Srovnání vyplouvání cercárií *Diplostomum pseudospathaceum* z plovatky bahenní v přírodních a laboratorních podmínkách

Pro realizaci tohoto pokusu byla vybrána lokalita Vlkov (viz výše). Plovatky byly sbírány každý měsíc v období od června do října roku 2008. Jako modelový druh byla zvolena motolice *Diplostomum pseudospathaceum* (Niewiadomska, 1984).

Tento pokus byl rozdělen do dvou částí – části terénní, kdy cercárie byly odebrány přímo na zkoumané lokalitě, a části laboratorní.

3.3.1. Terénní část (přirozené prostředí)

Při tomto pokusu bylo využito toho, že na stejné lokalitě byl prováděn zpětný odchyt (Mark Recapture) plovatek Mgr. M. Soldánovou, spočívající v odchycení měkkýšů, zjištění nákazy motolicemi, označení a vypuštění (Besbeas a kol. 2002). Byli proto přednostně sbíráni měkkýši označení číslem, u nichž byl znám stav jejich nakažení.

Sesbírání měkkýšů byli rozděleni do dvou skupin. První skupina měkkýšů byla ihned převezena do laboratoře, kde byl proveden další pokus (viz níže). Druhá skupina měkkýšů (označená písmenem A₁) zůstala na dané lokalitě a byla ihned využita k pokusu v rybníku. K realizaci této části pokusu bylo vybráno 20 měkkýšů, aby bylo zajištěno, že alespoň 10 z nich bude mít zjevnou (patentní) nákazu požadovaným druhem motolice.

Každý z vybraných měkkýšů byl umístěn do plastového válce naplněného rybníční vodou o objemu 800 ml. Každý válec byl poté zakryt monofilem, aby se vyloučil vliv povětrnostních podmínek a případných predátorů. Válce byly připevněny ke speciálním

konstrukcím (obr. 8). Konstrukce byly umístěny přímo do rybníku do takové hloubky, aby hladina nádoby dosahovala stejné výšky jako hladina rybníku. Umístění konstrukce v rybníku bylo vybíráno tak, aby konstrukce nebyla na přímém slunečním světle a nacházela se zhruba v místech, kde byli měkkýši odchyceni. Konstrukce s měkkýši byly ponechány v rybníku 24 h.

Po 24 h byly konstrukce z rybníku vyjmuty. Polovina objemu z každého válce byla odebrána pro spočtení množství vyplavaných cercárií (obr. 9). Obsah válce byl před odebráním důkladně promíchán, aby bylo zajištěno rovnoměrné rozmístění cercárií. Suspenze vody a cercárií byla ihned převezena do laboratoře. Počet cercárií byl spočten v laboratoři, a to způsobem, který je popsán v následující kapitole.

Teplota vody v rybníce a teplota vzduchu byla zaznamenána při každém pokusu, a to přibližně ve stejnou denní dobu (tab. 4).

3.3.2. Laboratorní část

Měkkýši, kteří byli převezeni do laboratoře ihned po odchytu, byli individuálně umístěni do kádinek s odstátou vodou (přibližně 200 ml) a byli rozděleni do dvou skupin. Každá skupina byla složená z 10 až 20 jedinců (ze stejného důvodu, jako v případě terénního pokusu). První skupina měkkýšů (označená písmenem B₁) byla vystavena světlu stolní lampy. Druhá skupina (označená písmenem B₂) byla ponechána v přirozených světelných podmínkách blízko oken. Tento pokus se odehrával ve stejném čase jako pokus v terénu.

Po 24 h byli měkkýši vyšetřeni na přítomnost motolic. U plovatek nakažených druhem *Diplostomum pseudospathaceum* bylo spočítáno množství vyplavaných cercárií. Množství bylo počítáno následujícím způsobem: z kádinky byly nejprve vyjmuti měkkýši, poté byly cercárie rozptýleny ve vodním sloupci jemným promícháním a z každé kádinky bylo odebráno deset vzorků (každý o objemu 1 ml). Do každého vzorku bylo přidáno několik kapek formalínu (4 %) pro fixaci cercárií. V těchto vzorcích byly spočteny všechny cercárie pod binokulární lupou. V dalším kroku byl pomocí odměrného válce určen objem vody v kádince. Tento objem byl poté vztažen na počet cercárií spočtených v 10ml a výsledná hodnota vyjadřovala celkový počet cercárií na měkkýše a den (24 h).

Následující den byl proveden další pokus. Měkkýši, kteří byli použiti v terénním pokusu (skupina A₁), byli po jeho ukončení okamžitě převezeni do laboratoře (od této chvíle skupina označená jako A₂). Zde byli jednotlivě umístěni do kádinek s odstátou vodou a

vyplouvání cercárií bylo pozorováno za přirozených světelných podmínek během 24 h (stejně jako skupina B₂).

Teplota vody v jednotlivých kádinkách a teplota vzduchu v laboratoři byla měřena na začátku všech prováděných pokusů, a to v přibližně stejnou denní dobu (viz tab. 4).

Údaje o velikostech měkkýšů a počtu vyprodukovaných cercárií ve všech skupinách jsou uvedeny v tabulce 5.

3.3.3 Analýza dat

Zjišťována byla odlišnost v počtu vyprodukovaných cercárií mezi jednotlivými skupinami měkkýšů. Před samotnými analýzami byla provedena logaritmická transformace počtu vyprodukovaných cercárií přepočteného na objem měkkýšů.

Rozdíly mezi skupinami A₁ a A₂ byly testovány pomocí metody ANOVA repeated measurements. Faktory byly skupina (A₁, A₂) a období sběru měkkýšů. Skupiny A₁, B₁ a B₂ byly testovány pomocí dvoucestné ANOVy. Faktory byly skupina (A₁, B₁, B₂) a období sběru měkkýšů. U těchto skupin bylo vynecháno období (červen), pro které chyběla data u skupiny B₂. Pro porovnání skupin A₂, B₁ a B₂ byla rovněž použita dvoucestná ANOVA. Faktory byly opět skupina (A₂, B₁, B₂) a období sběru měkkýšů.

Pro skupiny A₁ a A₂ byla provedena analýza odděleně, protože v těchto skupinách byli použiti stejní měkkýši, nejednalo se o nezávislá pozorování. Dalším důvodem byl fakt, že data pro skupinu B₂ (měkkýši v laboratoři při přirozené světelné periodě) chyběla v prvním studovaném období (30. 6. 2008), protože v tomto čase nebylo nalezeno dostatečné množství měkkýšů infikovaných motolicí *D. pseudospathaceum*.

Nulová hypotéza ve všech případech zněla, že není rozdíl v počtu vyprodukovaných cercárií mezi jednotlivými skupinami. Hranice pro zamítnutí nulové hypotézy byla stanovena na $p > 0,05$. V případě zamítnutí nulové hypotézy byly rozdíly mezi jednotlivými skupinami testovány pomocí Tukeyho HSD testu.

4.1. KAPITOLA 1. Sezónní rytmus ve vyplouvání cercárií z plovatky bahenní – sledování počtu a velikosti cercárií tří modelových druhů

Během tohoto pokusu bylo provedeno 25 odběrů měkkýšů z terénu. Celkem bylo vyšetřeno a změřeno 52 měkkýšů produkujících cercárie druhu *Plagiorchis elegans*, 34 měkkýšů nakažených motolicí *Opisthioglyphe ranae* a 33 měkkýšů infikovaných motolicí *Diplostomum pseudospathaceum*. Byly měřeny morfologické parametry 460 jedinců cercárií druhu *P. elegans*, 310 jedinců cercárií *O. ranae* a 280 jedinců cercárií *D. pseudospathaceum*.

4.1.1. Velikost měkkýše a teplota vody

Nejprve bylo testováno, jak se mění objem měkkýšů během ročních období. Bylo prokázáno, že se objemy měkkýšů odchycených během jednotlivých odběrů lišily ($F_3=5,6267$; $p=0,00127$). V zimě a na podzim byly odchyceny větší jedinci než na jaře a v létě (obr. 10).

Dále byl zjišťován vztah mezi teplotou vody během jednotlivých odběrů a množstvím vyprodukovaných cercárií. Cercárie druhu *P. elegans* vykazovaly signifikantně záporný trend, kdy se zvyšující se teplotou klesalo jejich množství ($F_{1, 46}=21,11407$; $p=0,000034$; $R^2=0,2997$; obr. 11). Naproti tomu u cercárií *O. ranae* byla zjištěna pozitivní korelace mezi množstvím vyplavaných cercárií a zvyšující se teplotou ($F_{1, 32}=14,95493$; $p=0,000508$; $R^2=0,2972$; obr. 12). U druhu *D. pseudospathaceum* byla rovněž zjištěna pozitivní korelace mezi množstvím vyplavaných cercárií a zvyšující se teplotou, která ovšem nebyla statisticky signifikantní ($F_{1, 31}=1,9467$; $p=0,1728$; $R^2=0,0287$; obr. 13).

4.1.2. Sledování počtu cercárií během roku

Byl nalezen signifikantní rozdíl mezi celkovým počtem uvolněných cercárií u všech tří modelových druhů motolic ($F_2=2,6395$; $p=0,07618$; $df=2$). Nejvíce jedinců cercárií během celého průběhu pokusu bylo zjištěno u *D. pseudospathaceum* a nejméně u *O. ranae* (obr. 14).

Dále bylo zjištěno, že dochází ke změnám v počtu vyprodukovaných cercárií během jednotlivých ročních období ($F_3 = 2,8118$; $p = 0,04302$; obr. 15). Průběh produkce cercárií (počítáno pro všechny druhy společně) byl následující (obr. 15): od jara docházelo postupně ke zvyšování v množství cercárií, na podzim dosahovalo množství cercárií nejvyšších hodnot a s klesající teplotou v zimním období došlo k poklesu v množství vyplavaných cercárií. Byl proveden Tukey HSD test (tab. 6), který potvrzuje, že signifikantně nejvyšší množství cercárií bylo vyprodukováno na podzim.

Když však byl zjišťován vliv ročního období na jednotlivé druhy motolic (obr. 16), byla zjištěna odlišnost u cercárií *P. elegans*. Na jaře, v létě a na podzim byl průběh produkce u všech tří druhů motolic velmi podobný. V zimě došlo k poklesu u motolic *O. ranae* a *D. pseudospathaceum*, avšak u motolice *P. elegans* došlo k významnému nárůstu v počtu vyplavaných cercárií ($F_6 = 3,0302$; $p = 0,00902$).

Ač byl nalezen signifikantní rozdíl v celkovém počtu uvolněných cercárií v průběhu jednotlivých měřených intervalů během dne ($F = 17,358$; $p < 0,001$), tento trend se signifikantně projevil pouze u druhu *P. elegans*, kde byl nalezen signifikantní rozdíl v počtu uvolněných cercárií mezi prvním a všemi ostatními měřenými intervaly (obr. 17; $F_{12} = 5,5335$; $p = 0,02079$). U druhů *O. ranae* a *D. pseudospathaceum* nebyl pozorován signifikantní rozdíl v množství vyprodukovaných cercárií během jednotlivých intervalů.

4.1.3. Sledování velikosti cercárií během roku

Bylo zjištěno, že během roku dochází ke změnám ve velikosti cercárií u všech sledovaných druhů (tab. 7–9). Pomocí funkce forward selection byly vybrány rozměry cercárií, které vysvětlovaly nejvíce variability (tab. 7–9).

U *O. ranae* se jednalo o šířku těla, šířku ústní přísavky, šířku ocásku a délku břišní přísavky, které byly největší na jaře. Délka ocásku se zvětšovala i na podzim (obr. 18, tab. 7).

U *D. pseudospathaceum* bylo zjištěno, že délka i šířka těla a šířka ústní přísavky byly největší na jaře. Délka ocásku byla největší na podzim. Délka ústní přísavky rostla spíše v zimě (obr. 19, tab. 8).

U *P. elegans* byly nalezeny největší cercárie také na jaře, kdy nejvíce vzrostly následující rozměry: šířka ocásku, šířka břišní přísavky, délka i šířka těla. V létě rostla délka břišní přísavky a délka ocásku (obr. 20, tab. 9).

Dále bylo zjištěno, že na rozměry cercárií má rovněž signifikantní vliv hostitel (tzn. jednotliví měkkýši, ze kterých cercárie vyplouvaly) (tab. 10).

Pro srovnání vlivu sledovaných faktorů (roční období/hostitel) na rozměry cercárií bylo zjišťováno, nakolik dané faktory vysvětlují variability. U všech třech druhů bylo prokázáno, že nejvíce variability vysvětluje roční období (tab. 11).

4.2. KAPITOLA 2. Srovnání počtu vyplavaných cercárií *Diplostomum pseudospathaceum* z plovatky bahenní v přírodních a laboratorních podmínkách

Byl zjištěn signifikantní rozdíl mezi množstvím cercárií vyprodukovaných v přirozeném prostředí (rybník – skupina A_1) a množstvím cercárií vyprodukovaných stejnými jedinci měkkýšů v laboratorních podmínkách (skupina A_2 – obr. 21). V přirozeném prostředí byla produkce signifikantně nižší než za laboratorních podmínek ($F_3= 103,69$; $p<0,001$).

Porovnání produkce mezi jednotlivými odběry ukázalo podobný trend u obou skupin (obr. 22). Produkce byla u skupiny A_1 i A_2 vysoká v červnu a červenci, pak došlo k výraznému poklesu v září a produkce pak dále klesala i v říjnu ($F_3= 16,865$; $p< 0,001$). Skupiny se mezi sebou signifikantně lišily v červnu a září, v červenci a říjnu byla odlišnost těsně nesignifikantní (tab. 12).

Byl nalezen signifikantní rozdíl v produkci mezi skupinou A_1 a skupinami měkkýšů produkujících za laboratorních podmínek (B_1 , skupina vystavena světlu stolní lampy a B_2 , skupina při přirozené světelné periodě) ($F= 16,953$; $p< 0,001$; tab. 13) Nejnižší produkce cercárií byla zjištěna u měkkýšů v přirozeném prostředí (A_1), signifikantně nejvyšší byla produkce u skupiny B_2 (obr. 23).

Při podrobnější analýze produkce cercárií mezi skupinami A_1 , B_1 a B_2 pro jednotlivá sledovaná období bylo zjištěno, že množství vyplavaných cercárií skupiny A_1 se signifikantně lišilo od skupin B_1 a B_2 pouze v jednom období, a to v září. V červenci a říjnu byla produkce u všech tří skupin podobná (obr. 24). Produkce cercárií u všech skupin vykazovala klesající trend v čase; u skupiny A_1 bylo klesání mnohem strmější, v září a říjnu byla produkce téměř nulová (obr. 24).

Byly nalezeny signifikantní rozdíly mezi skupinami měkkýšů produkujících cercárie v laboratorních podmínkách ($F= 15,230$; $p< 0,001$; obr. 25). U skupiny měkkýšů vystavených

světlu stolní lampy (B_1) byla zjištěna signifikantně nejnižší produkce cerkáří. Mezi skupinami B_2 a A_2 (měkkýši produkující v laboratoři při přirozeném osvětlení) nebyl nalezen signifikantní rozdíl (tab. 14).

5.1. KAPITOLA 1. Sezónní rytmus ve vyplouvání cercárií z plovatky bahenní – sledování počtu a velikosti cercárií tří modelových druhů motolic

5.1.1. Sledování počtu cercárií během roku

Od ledna do prosince roku 2007 bylo sledováno, zda existují rozdíly ve vyplouvání cercárií z plovatky bahenní během roku. Byly zjištěny rozdíly mezi množstvím vyplavaných cercárií u jednotlivých druhů motolic. Nejvíce jedinců cercárií během celého pokusu bylo zjištěno u *D. pseudospathaceum* a nejméně u *O. ranae*. Cercárie těchto druhů se liší svojí velikostí a tvarem těla (průměrné hodnoty délky × šířky těla v μm : *O. ranae* 297 × 123; > *P. elegans* 195 × 94 > *D. pseudospathaceum* 184 × 50; Našincová 1992). Jednou z teorií, by mohla být možnost, že se jedná o kompromis mezi množstvím vyprodukovaných cercárií a jejich velikostí. Produkce cercárií druhu *O. ranae*, které jsou ze sledovaných cercárií největší, bude vzhledem k jejich velikosti pravděpodobně nákladnější, a tak budou produkovány v menším množství než menší *D. pseudospathaceum*. Zjištěné výsledky by rovněž mohly souviset s aktivitou a typem druhých mezipřehoditelů. Ryby, mezipřehoditelé motolic *D. pseudospathaceum*, jsou během dne často rozptýleny ve větším prostoru dané lokality (Helfman 1986), setkání cercárií s dobře pohyblivými rybami tak může být poněkud obtížnější. Proto je možné předpokládat, že musí být zajištěna přítomnost dostatečného množství cercárií ve větším prostoru vodní nádrže. Motolice rodu *Diplostomum* jsou rovněž považovány za cercárie s velmi dobrými plaveckými schopnostmi (Haas 2000, 2003; Karvonen a kol. 2003) umožňující jim se udržet ve vodním sloupci. Cercárie *O. ranae* pronikají do pulců žab, kteří bývají spíše na mělčinách, v menším prostoru a ve větší blízkosti měkkýšů, jsou proto v prostoru určité lokality jednodušeji lokalizovatelní (Stebbins a Cohen 1997). Podobné vztahy mezi velikostí a pohyblivostí cercárií a typem dalšího mezipřehoditele uvádí McCarthy a kol. (2002).

Dále bylo zjištěno, že dochází ke změnám v množství vyprodukovaných cercárií během jednotlivých ročních období. Na jaře bylo množství vyprodukovaných cercárií nízké, ale postupně během léta docházelo ke zvýšení a na podzim dosahovala produkce cercárií nejvyšších hodnot, v zimě pak došlo k poklesu. Taskinen a kol. (1998), kteří získali podobné

výsledky, zjistili, že produkce cercárií *Rhipidocotyle fennica* byla nízká na jaře (uvádí v květnu) a pak vzrůstala během léta (od června do července). Nejintenzivnější produkci zaznamenali na sklonku léta (v průběhu srpna), která po několika prvních dnech v září začala s přicházející zimou postupně klesat. Prevalence nákazy motolicemi v podmínkách mírného pásma u plovatky bahenní má velmi podobný průběh jako námi zjištěné údaje o intenzitě produkce cercárií (Probert 1966; Zdun 1959; Bertman 1980; Väyrynen a kol. 2000; Loy a Haas 2001; Karvonen a kol. 2006; Zbikowska 2007; Zbikowska a kol. 2006). Například Bertman (1980) zjistila, že nejnižší prevalence nákazy motolicemi u plovatky bahenní byla na jaře (59%), dále procento nakažených plovatek vzrůstalo a svého maxima dosáhlo v pozdním srpnu (81,1%), pak postupně klesalo na podzim (68,9%). Väyrynen a kol. (2000) zjistili, že nákaza xifidiocercáriemi (*P. elegans*) a furkocercáriemi (*D. spathaceum*) se ve dvou finských jezerech zvyšovala od jara a maximálních hodnot dosáhla v září.

Vyplouvání cercárií by však kromě sezónních změn mohlo být ovlivněno i velikostí měkkýšů. I přesto, že během jednotlivých odběrů z terénu byli sbíráni pokud možno stejně velcí měkkýši, jejich velikost během ročního období kolísala (obr. 10). Výsledky ukazují, že nejvíce cercárií vyplavalo na podzim, což by mohlo být ovlivněno i skutečností, že měkkýši s velkým objemem byli nalezeni také na podzim. Poulin (2006) ve své studii zjistil, že velikost měkkýše má vliv na množství cercárií vyprodukovaných během 24 h (tzn., že z větších měkkýšů bylo vyprodukováno více cercárií). Tento jev je také podrobně zdokumentován u čeledi Schistosomatidae (Loker 1983), kde byla zjištěna pozitivní korelace mezi velikostí měkkýše a celkovou dobou produkce cercárií. U motolice *Diplostomum spathaceum* bylo rovněž zjištěno, že počet cercárií vyplouvajících z měkkýše je silně ovlivněn jeho velikostí (Karvonen a kol. 2003, 2004, 2006). Tuto závislost pozorovaly i jiné skupiny autorů, například Brown a kol. (1988); Jokela a Lively (1995a,b); Briers (2003).

Když byl zjišťován vliv ročního období na jednotlivé druhy motolic, byla zaznamenána odlišnost ve vyplouvání cercárií *P. elegans*. Na jaře, v létě a na podzim byl průběh produkce u všech tří druhů motolic velmi podobný. V zimě došlo k poklesu u motolic *O. ranae* a *D. pseudospathaceum*. Avšak u *P. elegans* došlo k nárůstu v počtu vyplavaných cercárií. Jedno z možných vysvětlení by mohlo být, že infekce motolicemi v měkkýších přetrvává i přes zimu a s klesající teplotou sice dojde k pozastavení či potlačení produkce cercárií, ovšem akumulace rédií či sporocyst pokračuje i za snížených teplot (Schell 1962; Mindel 1963; Watertor 1968; Brassard a kol. 1982, Galaktinov a Dobrovolskij 2003; Poulin 2006). Protože v laboratoři byla produkce měřena pokaždé při 17°C a v terénu byla teplota v zimě mnohem nižší (okolo 2°C a méně), mohlo tak v krátké době dojít k intenzivnímu

vyplouvání cercárií; rovněž manipulace s měkkými mohla mít vliv na produkci cercárií. Ale toto vysvětlení je možné vztáhnout na všechny tři druhy, protože u všech bylo zaznamenáno vyplouvání cercárií v laboratoři v zimním období (produkce cercárií ustává, když teplota okolí klesne přibližně pod 10°C; Crews a Esch 1986; Ataev 1991; Lyholt a Buchman 1996). V tomto případě by bylo nutné provádět pokus přímo na dané lokalitě, aby se předešlo vlivu zvolené metody (viz kapitola 2). Pomocí regrese však bylo zjištěno, že množství vyplavaných cercárií *P. elegans* bylo negativně korelováno s teplotou. Signifikantně vyšší množství cercárií *P. elegans* v zimě by mohlo souviset s tím, že tento druh je buď adaptován na nižší teploty (v přirozeném prostředí dochází k větší akumulaci sporocyst se zárodky cercárií připravených k vyplutí) nebo pouze citlivěji reaguje na teplotní změny. Byly by však nutné další pokusy pro podložení takovéhoto tvrzení.

Motolice *O. ranae* a *D. pseudospathaceum* po celý rok vykazovaly podobný průběh v produkci cercárií během dne. U obou druhů jejich přítomnost během dne výrazně nekolísala, což by mohlo souviset s aktivitou dalších mezipřenositelů. Ovšem u druhu *P. elegans* bylo prokázáno, že signifikantně největší množství cercárií vyplouvalo v prvním měřeném intervalu, postupně klesalo během dne, a v posledním intervalu (22 h) opět stoupalo. Tento trend by mohl být vysvětlen tím, že cercárie *P. elegans* vyplouvají v noci (Genov a Samnaliev 1984; Webber a kol. 1986; Lowenberger a Rau 1994; Zakikhani a Rau 1999). Vysoká produkce během prvního intervalu (7 h – 10 h) a vzestup při posledním měření (19h – 22h) by mohly být součástí nočního maxima; avšak produkce cercárií byla měřena jen během dne (viz Materiál a metodika, str. 13).

5.1.2. Sledování velikosti cercárií během roku

Výsledky v této studii prokázaly, že dochází ke změnám ve velikosti cercárií všech tří studovaných druhů motolic v průběhu roku. U všech tří druhů bylo zjištěno, že cercárie byly největší na jaře. V případě *P. elegans* rostlo i několik morfologických parametřů v letním období. Jednotlivé morfologické parametry cercárií se u každého druhu lišily, ovšem „šířka těla“ rostla na jaře u všech třech druhů. Dále se shoduje *O. ranae* a *D. pseudospathaceum* ve vzrůstu „šířky ústní přísavky“ (na jaře). „Délka i šířka těla“ rostly na jaře jak u *D. pseudospathaceum*, tak *P. elegans*. Jedna z možných úvah je, že na jaře, kdy vyplouvání cercárií (a i jejich tvorba) není tak intenzivní, jsou energetické zásoby hostitele pro motolice ještě v nadbytku. Avšak v létě, kdy je produkce cercárií maximální, velmi pravděpodobně

postupně dochází k optimalizaci velikosti cercárií a jejich počtu, protože jsou hostitelské zdroje čerpány intenzivněji. Na podzim jsou hostitelské zdroje pravděpodobně vyčerpané a je možné očekávat, že hostitel i parazit se budou spíše připravovat na zimu. Jedná se však pouze o spekulaci a byly by nutné další testy, aby se tato teorie potvrdila, či vyvrátila.

Dále by mohly být zajímavé údaje o tom, v kterém období roste délka ocásku u jednotlivých druhů. Jednou z úvah by totiž mohlo být, že délka ocásku souvisí s pohybem a pohyb cercárií je hlavním prostředkem k dosažení dalšího mezihostitele. Mohla by se tak optimalizovat i velikost pohybového orgánu cercárií v závislosti na přítomnosti dalších mezihostitelů, aby pro cercárie bylo snažší dalších hostitelů dosáhnout. V této práci bylo zjištěno, že délka ocásku rostla shodně na podzim u druhů *O. ranae* a *D. pseudospathaceum*. U druhu *P. elegans* rostla délka ocásku v létě.

Z provedených analýz bylo také zjištěno, že na velikost cercárií má vliv i individuální hostitel. Můžeme najít studie, které se zabývají ovlivněním produkce cercárií například vzhledem k tomu, jak byl měkkýš hostitel vyživován a jaké měl dostupné potravní zdroje (Rondelaud a kol. 2002). Na velikost cercárií by tak mohla mít vliv i fyziologická kondice jednotlivých individuí měkkýšů, z kterých jsou produkovány, případně i stáří konkrétních měkkýšů hostitelů. Zatím však podobné studie, které by se zabývaly ovlivněním velikosti cercárií ve vztahu k fyziologickým dispozicím hostitele, nebyly prováděny.

Mnoho autorů, např. Poulin (2006) nebo Mas-Coma a kol. (2009) se však ve svých pracích zmiňuje o tom, že velikost cercárií je důležitou komponentou, která by měla být ve studiích o produkci cercárií zohledněna.

5.2. KAPITOLA 2. Srovnání počtu vyplavaných cercárií *Diplostomum pseudospathaceum* z plovatky bahenní v přírodních a laboratorních podmínkách

Tato práce navazuje na předchozí problematiku vlivu laboratorních podmínek a manipulace s měkkýši na vyplouvání cercárií. Cílem bylo srovnat množství vyprodukovaných cercárií v laboratorních podmínkách s množstvím vyprodukovaných cercárií v přirozeném prostředí.

Výsledky předkládané studie ukazují, že množství cercárií vyprodukovaných v laboratorních podmínkách (A_2) bylo signifikantně vyšší než množství cercárií vyprodukovaných stejnými jedinci měkkýšů v přirozeném prostředí (A_1). I u skupin

testovaných ve stejném čase bylo zjištěno, že produkce v laboratorních podmínkách (skupiny B₁, B₂) dosahovala vyšších hodnot než v rybníku (A₁). I přesto, že v tomto případě nebyl rozdíl mezi jednotlivými skupinami měkkýšů ve všech sledovaných měsících tak výrazný.

O předpokladu, že v laboratorních podmínkách je vyprodukováno vyšší množství cercárií, než jaké vyplave v přirozeném prostředí, se ve svých pracích zmiňují například Thompson (1997) nebo Taskinen (1998). Zvýšení v množství cercárií vyplavaných v laboratorních podmínkách může být způsobeno několika faktory. Kupříkladu v pracích autorů Erasmus (1972) a Anderson a kol. (1976) je diskutováno o tom, že mechanická stimulace měkkýšů při převozu z terénu do laboratoře může způsobit zvýšení jejich aktivity a vyvolat tak produkci mnohem většího množství cercárií, než by bylo obvyklé. Jokela a kol. (1999); Karvonen a kol. (2004) ve svých pracích zvažují, že laboratorní podmínky mohou přivodit stresové podmínky působící na intenzitu produkce cercárií a také na zvýšení mortality u měkkýších hostitelů. Výsledky této studie, proto velice dobře korespondují s těmito pracemi. Proto by pozorování prováděné v laboratoři mělo být nejlépe podpořeno sledováním a pokusy provedenými v přirozeném prostředí (Karvonen a kol. 2004; Poulin 2006).

Další jev, který byl odhalen, byla skutečnost, že rytmus ve vyplouvání cercárií během jednotlivých měsíců měl stejný trend jak v terénních podmínkách, tak v laboratoři. V červnu postupně docházelo ke zvýšení v množství vyprodukovaných cercárií u obou skupin (A₁-terén; A₂ – laboratoř), v červenci dosahovala produkce cercárií hodnot nejvyšších a postupně klesala od září a v říjnu (směrem k zimnímu období) bylo množství vyprodukovaných cercárií nejnižší. To znamená, že trend sezónního rytmu ve vyplouvání cercárií je pravděpodobně zachován i při laboratorních podmínkách.

Dále bylo zjišťováno, zda je rozdíl mezi množstvím vyprodukovaných cercárií u skupin měkkýšů, kteří produkovali pouze v laboratorních podmínkách (B₁, B₂, A₂). U skupiny měkkýšů vystavených světlu stolní lampy (B₁) bylo totiž zjištěno, že dochází k produkci signifikantně menšího množství cercárií ve srovnání se skupinami měkkýšů, kteří produkovali cercárie při přirozené světelné periodě. To by mohlo znamenat, že množství jedinců cercárií *D. pseudospathaceum* z plovatky bahenní může být negativně ovlivněno zvýšenou světelnou stimulací. Toto zjištění je ve shodě s některými předchozími studii např. autorů Sous (1992) a Lyholt a Buchmann (1996), kteří získali podobné výsledky u druhu *D. spathaceum*. Karvonen a kol. (2004) ovšem zjistili, že produkce cercárií tohoto druhu motolice klesá v noci a je naopak vysoká přes den, což souvisí s tím, že další mezihostitelé (ryby) jsou aktivní hlavně během dne, a je tak pravděpodobně snažší jejich nákaza (Helfman 1986; Wootton

1990; Wieser 1991). Lyholt a Buchmann (1996) uvažují o tom, že přítomnost ryb není závislá na měnící se světelné intenzitě, jejich přítomnost nijak zvlášť v průběhu dne nekolísá, a proto ani motolice rodu *Diplostomum* nemusí optimalizovat čas vyplouvání podle světelné intenzity, která se mění během dne. Jak dokazují také výsledky z předchozí kapitoly, u *D. pseudospathaceum* nedochází během dne ani ke kolísání v množství vyplavaných cercárií.

Cílem této magisterské práce bylo studium životních strategií vývojových stádií motolic, se zaměřením se na charakteristiky cercárií, jako je jejich vyprodukované množství a velikost ve vztahu k měnícímu se ročnímu období. Výsledky této studie prokazují, že jak množství vyprodukovaných cercárií, tak jejich velikost se během ročního období mění. Nicméně biologické charakteristiky v procesu produkce cercárií se pravděpodobně budou lišit mezi jednotlivými taxony motolic a každý druh bude zřejmě reagovat více či méně odlišným způsobem. Proces produkce cercárií bude ovlivněn i jinými faktory, které v různé souvislosti a spolupráci mezi sebou samými budou hrát roli, v tom kolik a jak velké cercárie budou vyprodukovány z měkkýšů za určitou časovou jednotku. Ovšem údaje poskytující relevantní informace o vlastnostech produkce cercárií jsou velmi významné, a to jak z hlediska biologického, tak především epidemiologického. Vzhledem ke zjištěným výsledkům by do budoucna bylo vhodné zohlednit i období, ve kterém je měření produkce prováděno, aby se vliv ročního období na množství vyprodukovaných cercárií optimalizoval. Také by bylo velmi zajímavé obohatit tyto pokusy o další, které by mohly s větší jistotou odůvodnit získané výsledky a otestovat předložené úvahy.

V další kapitole bylo cílem kvantifikovat množství vyprodukovaných cercárií přímo na studované lokalitě a porovnat je s množstvím cercárií vyprodukovaných v laboratoři. Získat spolehlivé údaje o změnách produkce cercárií vyžaduje komplexní zohlednění veškerých vnějších vlivů. Doposud byly pokusy ohledně produkce cercárií prováděny především za laboratorních podmínek. A to i přesto, že ne vždy jsou výsledky laboratorních studií jednoduše extrapolovatelné na přírodní populace. Výsledky této studie dokazují, že množství cercárií vyplavaných v laboratorních podmínkách je odlišné od množství cercárií, které ve skutečnosti vyplouvá (a to i ze stejných individuů měkkýšů) v přirozeném prostředí. Je proto velmi důležité při různých výpočtech a predikcích o tom, jak rychle by se mohli infekční onemocnění motolicemi šířit na nová území, například vlivem globálního oteplování, brát v potaz skutečnost, že výsledky naměřené v laboratorních podmínkách mohou být odlišné od dějů probíhajících v přirozeném prostředí. Metodika použitá v této studii by proto mohla sloužit jako nový nástroj pro studium produkce cercárií v přirozených podmínkách, přímo na studovaných lokalitách. Mohla by se tak zvýšit úroveň výsledků týkajících se počtu vyprodukovaných cercárií různých druhů motolic.

7. SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY

- Abrous, M., Rondelaud, D., Dreyfuss, G. 1999. Influence of low temperatures on the cercarial shedding of *Paramphistomum daubneyi* from the snail *Lymnaea truncatula*. *Parasite* 6:85-88.
- Anderson, P., A., Nowosielski, J., W., Croll, N., A. 1976. The emergence of cercariae of *Trichobilharzia ocellata* and its relationship to the activity of its snail host *Lymnaea stagnalis*. *Canadian Journal of Zoology* 54: 1481-1487.
- Anderson, R.M., Whitfield, P.J. 1975. Survival characteristics of the free-living cercarial population of the ectoparasitic digenean *Transversotrema patialensis* (Soparker, 1924). *Parasitology* 70: 295-310.
- Anderson, R.M., Whitfield, P.J, Mills, C.A. 1977. An experimental study of the population dynamics of an ectoparasitic digenean *Transversotrema patialense*: the cercarial and adult stages. *Journal of Animal Ecology* 46: 555-580.
- Anderson, R.M. 1993. Platyhelminthes – Trematoda. *In: Reproductive Biology of Invertebrates*, Adiyodi, K.G. a Adiyodi, R.G. (editoři). John Wiley & Sons, Chichester, U.K., pp 144-195.
- Andreska, J. (1987). *Rybářství A jeho tradice*. Státní zemědělské nakladatelství, Praha.
- Ash, H.L. 1972. Rhythmic emergence of *Schistosoma mansoni* cercariae from *Biomphalaria glabrata*: control by illumination. *Experimental Parasitology* 31: 350-355.
- Ataev, G.L. 1991. Temperature influence on the development and biology of rediae and cercariae of *Philophthalmus rhionica* (Trematoda). *Parazitologiya* 25: 349-359 (in Russian).
- Austin, F.G., Stirewalt, M.A., Danzinger, R.E. 1972. *Schistosoma mansoni*: stimulatory effect of rat skin lipid fractions on cercarial penetration behavior. *Experimental Parasitology* 31: 221-224.
- Babirat, C., Mouritsen, K., N., Poulin, R. 2004. Equal partnership: two trematode species, not one, manipulate the burrowing behaviour of the New Zealand cockle, *Austrovenus stutchburyi*. *Journal of Helminthology* 78: 195-199.
- Barbosa, F.S., Coelho, M.V., Dobbin, J.E. 1954. Vector characters of host of *Schistosoma mansoni* in northeastern Brazil. II. Duration of infection and elimination of cercariae in *Australorbis glabratus*. *Publicações Avulsas Instituto Aggeu Magalhães* 3: 79-92.

- Bassard, P., Curtis, M., A., Rau, M., E. 1982. Seasonality of *Diplostomum spathaceum* (Trematoda: Strigeidae) transmission to brook trout (*Salvelinus fontinalis*) in northern Quebec, Canada. *Canadian Journal of Zoology* 60: 2258-2263.
- Becker, V. 1980. Metabolic interrelationship of parasitic trematodes and molluscs, especially *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria glabrata*. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 63: 101-111.
- Bergquist, N., R. 2002. Schistosomiasis: from risk assessment to control. *Trends Parasitol* 18: 309-314.
- Bertman, M. 1980. Sezonowa dynamika zarazenia generacjami przywyr (Trematoda) blotniarki (*Lymnaea stagnalis*(L.)) w stawach rybnych na terenie rezerwatu "Stawy Milickie". *Wiad Parazytol* 26: 23-29.
- Besbeas, P; Freeman, S. N., Morgan, B. J. T., Catchpole, E. A. (2002). "Integrating mark recapture-recovery and census data to estimate animal abundance and demographi parameters.". *Biometrics* 58 (3): 540-547.
- Bossaert, K., Lonneux, J.F., Losson, B., Peeters, J. 1999. Fasciolosis incidence forecast in Belgium by means of climatic data. *Annales de Médecine Vétérinaire* 143: 201-211.
- Briers, R.A. 2003. Range limits and parasite prevalence in a freshwater snail. *Proceedings of the Royal Society of London B, Biological Sciences* 270: 178-180.
- Brooks, D.R., McLennan, D.A. 1993. *Parascript: Parasites and the Language of Evolution*. Smithsonian Institution Press, Washington, D.C., U.S.A., 429 pp.
- Brown, K.M., Leathers, B.K., Minchella, D.J. 1988. Trematode prevalence and the population dynamics of freshwater pond snails. *American Midland Naturalist* 120: 289-301.
- Chappel, L., H., Hardie, L., J., Secombes, C., J. 1994. Diplostomiasis: the disease and host parasite interactions. In: Pike, A., W., Lewis, J., W. (eds) *Parasitic diseases of fish*. Samara, Dydef, 59-86 pp.
- Combes, C. 1991. Ethological aspects of parasite transmission. *American Naturalist* 138: 866-880.
- Combes, C., Fournier, A., Moné, H., Théron, A. 1994. Behaviours in trematode cercariae that enhance parasite transmission: patterns and processes. *Parasitology* 109: 3-13.
- Combes, C., Théron, A. 2000. Metazoan parasites and resource heterogeneity: constraints and benefits. *International Journal for Parasitology* 30: 299-304.
- Combes, C. 2001. *Parasitism. The Ecology and Evolution of Intimate Interactions*. University of Chicago Press, Chicago, U.S.A., 728 pp.

- Combes, C., Bartoli, P., Théron, A. 2002. Trematode transmission Strategies. *In: The Behavioural Ecology of Parasites* (Lewis, E.E., Cambel, J.F., Sukhdeo, M.V.K., eds.). Oxford University Press, U.K., pp. 1-12.
- Coy, K., B., Blankespoor, H., D., Ulmer, M., J. 1981. Recruitment of digenetic trematodes using caged snails. *Journal of Parasitology* 68: 496-500.
- Crews, A.E., Esch, G.W. 1986. Seasonal dynamics of *Halipegus occidualis* (Trematoda: Hemiruridae) in *Helisoma anceps* and its impact on fecundity of the snail host. *Journal of Parasitology* 72: 646-651.
- Cribb, T.H., Bray, R.A., Olson, P.D., Littlewood, D.T.J. 2003. Life cycle evolution in the Digenea: a new perspective from phylogeny. *Advances in Parasitology* 54: 197-254.
- Dreyfuss, G., Rondelaud, D. *Fasciola hepatica*: A study of the shedding of cercariae from *Lymnaea truncatula* raised under constant conditions of temperature and photoperiod. *Parasite* 1: 401-404.
- Erasmus, D., A. 1972. The biology of trematodes. Edward Arnold (Publishers) Ltd., London.
- Esch, G.W., Barger, M.A., Fellis, J.K. 2002. The transmission of digenetic trematodes: style, elegance, complexity. *Integrative and Comparative Biology* 42: 304-312.
- Esch, G.W., Curtis, L.A., Barger, M.A. 2001. A perspective on the ecology of trematode communities an snails. *Parasitology* 123: 57-75.
- Evans, N.A. 1985. The influence of environmental temperature upon transmission of the cercariae of *Echinostoma liei* (Digenea: Echinostomatidae). *Parasitology* 90: 269-275.
- Evans, N.A., Gordon, D.M., 1983. Experimental studies on the transmission dynamics of the cercariae of *Echinoparyphium recurvatum* (Digenea: Echinostomatidae). *Parasitology* 87: 167-174.
- Ewald, P.W., 1994. *Evolution of Infectious Diseases*. Oxford University Press, Oxford, U.K., 298 pp.
- Faltýnková, A. 2002. Biology of developmental stages of trematodes from aquatic molluscs. MSc. Thesis, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic, 60 pp.
- Faltýnková, A., 2005. Larval trematodes (Digenea) in molluscs from small water bodies near České Budějovice, Czech Republic. *Acta Parasitologica* 50: 49-55.
- Faltýnková, A., Haas, W. 2006. Larval trematodes in freshwater molluscs from Elbe to Danube rivers (South-East Germany): before and today. *Parasitology Research* 99: 572-582.

- Faltýnková, A., Našincová, V., Kablášková, L. 2007. Larval trematodes (Digenea) of the great pond snail *Lymnaea stagnalis* (L.) (Gastropoda: Pulmonata) in Central Europe: A survey of species and key to their identification. *Parasite* 14: 39-51.
- Feiler, W., Haas, W. 1988a. Host-finding in *Trichobilharzia ocellata* cercariae: swimming and attachment to the host. *Parasitology* 96: 493-505.
- Feiler, W., Haas, W. 1988b. *Trichobilharzia ocellata*: chemical stimuli of duck skin for cercarial attachment. *Parasitology* 96: 507-517.
- Fingerhut, J., T., Zimmer, C., A., Zimmer, R., K. 2003. Patterns and processes of larval emergence in an estuarine parasite system. *Biol Bull* 205: 110-120.
- Fredensborg, B.L., Mouritsen, K.N., Poulin, R. 2005. Impact of trematodes on host survival and population density in the intertidal gastropod *Zeacumantus subcarinatus*. *Marine Ecology Press Series* 290: 109-117.
- Fried, B., Graczyk, T.K. 1997. *Advances in Trematode Biology*. CRC Press, Boca Raton, Florida, U.S.A., 466 pp.
- Fried, B., Eyster, L.S., Pechenik, J.A. 1998. Histochemical glycogen and neutral lipid in *Echinostoma trivolvis* cercariae and effects of exogenous glucose on cercarial longevity. *Journal of Helminthology* 72: 83-85.
- Fried, B., Ponder, E.L. 2003. Effects of temperature on survival, infectivity and *in vitro* encystment of the cercariae of *Echinostoma caproni*. *Journal of Helminthology* 77: 235-238.
- Fryer, S., E., Probert, A., J. 1988. The cercarial output from three Nigerian bulinids infected with two strains of *Schistosoma haematobium*. *Journal of Helminthology*. 62: 133-140.
- Galaktionov, K.V., Dobrovolskij, A.A. 2003. *The Biology and Evolution of Trematodes*. Kluwer Academic Publishers, Dordrecht, The Netherlands, 620 pp.
- Genov, T., Samnaliev, P. 1984. Biology, morphology and taxonomy of *Plagiorchis elegans* (Rudolphi, 1802) (Plagiorchidae) in Bulgaria. In *Fauna, Taksonomiya i Ekologiya na Khelmini po Ptitsi*, (ed. Vasiljev I.), pp. 75-114. Sofia, Bulgaria: Bulgarian Academy of Science.
- Gibson, D.I., Bray, R.A. 1994. The evolutionary expansion and host-parasite relationships of the Digenea. *International Journal for Parasitology* 24: 1213-1226.
- Giovannola, A. 1936. Inversion in the periodicity of emission of cercariae from their snail hosts by reversal of light and darkness. *Journal of Parasitology* 22: 292-295.
- Glöer, P. 2002. *Die Süßwassergastropoden Nord- und Mitteleuropas*. Conch Books. Hackenheim, Germany, 327 pp.

- Graham, A., L. 2003. Effects of snail size and age on the prevalence and intensity of avian schistosome infection: relating laboratory to field studies. *Journal of Parasitology* 89: 458-463.
- Granzer, M., Haas, W. 1986. The chemical stimuli of human skin surface for the attachment response of *Schistosoma mansoni* cercariae. *International Journal of Parasitology* 16: 575-579.
- Haas, W. 1992. Physiological analysis of cercarial behavior. *Journal of Parasitology* 78: 243-255.
- Haas, W. 1994. Physiological analyses of host-finding behaviour in trematode cercariae: adaptations for transmission success. *Parasitology* 109: 15-29.
- Haas, W. 2000. The behavioral biology of echinostomes. *In: Echinostomes as experimental Models for Biological Research*, Fried, B., Graczyk, T.K. (editoři) Kluwer Academic Publishers. Dordrecht, Germany, pp. 175-196.
- Haas, W. 2003. Parasitic worms: strategies of host finding, recognition and invasion. *Zoology* 106: 349-364.
- Haas, W., Granzer, M., Brockelman, C. 1990. Finding and recognition of the bovine host by the cercariae of *Schistosoma spindale*. *Parasitology Research* 76: 343-350.
- Haas, W., Haberl, B., Kalbe, M., Körner. 1995. Snail-host finding by miracidia and cercariae: chemical host cues. *Parasitology Today* 11: 468-472.
- Haas, W., Haberl, B. 1997. Host recognition by trematode miracidia and cercariae. *In: Advances in Trematode Biology*, Fried, B., Graczyk, T.K. (editoři) CRS Press, Boca Raton, Florida, U.S.A., pp. 197-227.
- Haas, W., Schmitt, R. 1982a. Characterization of chemical stimuli for the penetration of *Schistosoma mansoni* cercariae. I. Effective substances, host specificity. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 66: 293-307.
- Haas, W., Schmitt, R. 1982b. Characterization of chemical stimuli for the penetration of *Schistosoma mansoni* cercariae. II. Conditions and mode of action. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 66: 309-319.
- Haas, W., van de Roemer, A. 1998. Invasion of the vertebrate skin by cercariae of *Trichobilharzia ocellata*: penetration processes and stimulating cues. *Parasitology Research* 84: 787-795.
- Haas, W., Grabe, K., Geis, C., Päch, T., Stoll, K., Fuchs, M., Haberl, B., Loy, C. 2002. Recognition and invasion of human skin by *Schistosoma mansoni* cercariae: The key-role of L-arginine. *Parasitology* 124: 153-167.

- Harvell, C.D., Mitchell, C.E., Ward, J.R., Altizer, S., Dobson, A.P., Ostfeld, R.S., Samuel, M.D. 2002. Climate warming and disease risks for terrestrial and marine biota. *Science* 296: 2158-2162.
- Hay, K.B., Fredensborg, B.L., Poulin, R. 2005. Trematode-induced alterations in shell shape of the mud snail *Zeacumantus subcarinatus* (Prosobranchia: Batillariidae). *Journal of the Marine Biological Association of the U.K.* 85: 989-992.
- Hechinger, R.F., Lafferty, K.D. 2005. Host diversity begets parasite diversity: bird final hosts and trematodes in snail intermediate hosts. *Proceedings of The Royal Society of London B, Biological Sciences* 272: 1059-1066.
- Hechinger, R.F., Lafferty K.D., Huspeni, T.C., Brooks, A.J., Kuris, A.M. 2007. Can parasites be indicators of free-living diversity? Relationship between species richness and the abundance of larval trematodes and of local benthos and fishes. *Oecologia* 151:82-92.
- Helfman, G., S. 1986. Fish behaviour by day, night and twilight. *In* *The Behaviour of Teleost Fishes* (ed. Pitcher, T. J.), pp. 366-387. Croom Helm, London.
- Hudson, P.J., Greenman, J. 1998. Competition mediated by parasites: biological and theoretical progress. *Trends in Ecology and Evolution* 13: 387-390.
- Hudson P.J., Dobson A.P., Lafferty K.D. 2006. Is a healthy ecosystem one that is rich in parasites? *Trends in Ecology and Evolution* 21: 381-385.
- Jackiewicz, M. 2000. *Błotniarki Europy*. Wydawnictwo Kontekst. Poznań, Polsko, 116 pp.
- Janssen O, Bock D. 1990. Identification and prevalence of two plagiogoriid trematodes from Hirundinidae in their intermediate and definitive hosts in the surroundings of Ulm (FRG). *Parasitol Res.* 76: 451-453
- Jokela, J., Lively, C.M. 1995a. Parasites, sex, and early reproduction in mixed populations of fresh water snails. *Evolution* 49: 1268-1271.
- Jokela, J., Lively, C.M. 1995b. Spatial variation in infection by digenetic trematodes in a population of freshwater snails (*Potamopyrgus antipodarum*). *Oecologia* 103: 509-517.
- Jokela, J., Lively, C.M., Taskinen, J., Peters, A.D. 1999. Effect of starvation on parasite-induced mortality in fresh-water snail (*Potamopyrgus antipodarum*). *Oecologia* 199: 320-325.
- Jourdane, J., Théron, A. 1987. Larval development: Eggs to cercariae. *In*: *The biology of schistosomes: from genes to latrines*, Rollison, D. and Simpson A.J.G. (editoři). Academic Press, London, U.K., pp. 83-113.
- Karvonen, A., Paukku, S., Valtonen, E.T., Hudson, P. 2003. Transmission, infectivity and survival of *Diplostomum spathaceum* cercariae. *Parasitology* 127: 217-224.

- Karvonen, A., Kirsi, S., Hudson, P.J., Valtonen, E.T. 2004. Patterns of cercarial production from *Diplostomum spathaceum*: terminal investment or bet hedging? *Parasitology* 129: 87-92.
- Karvonen, A., Savolainen, M., Seppala, O. 2006. Dynamics of *Diplostomum spathaceum* infection in snail hosts at a fish farm. *Parasitology Research* 99: 341-345.
- Kearn, G.C. 1998. Parasitism and the Platyhelminthes. Chapman & Hall, London, U.K., 544 pp.
- Keas, B.E., Blankerspoor, H.D. 1997. The prevalence of cercariae from *Stagnicola emarginata* (Lymnaeidae) over 50 years in northern Michigan. *Journal of Parasitology* 83: 536-540.
- Keas, B.E., Esch, G.W. 1997. The effect of diet and reproductive maturity on the growth and reproduction of *Helisoma anceps* (Pulmonata) infected by *Halipegus occidualis* (Trematoda). *Journal of Parasitology* 83: 96-104.
- Koblasa, P. 2007. Krajem lesů a rybníků. Putování od města Třeboně na sever. České Budějovice, Veduta 2007. 192 pp.
- Koprivnikar, J., Poulin, R. 2009a. Effects of temperature, salinity, and water level on the emergence of marine cercariae. *Parasitology Research*.
- Koprivnikar, J., Poulin, R. 2009b. Interspecific and intraspecific variation in cercariae release. *Journal of Parasitology* 95: 14-19.
- Kuris, A., M., Hechinger-R., F., Shaw J., C., Whitney K., L., Aguirre-Macedo, L., Boch, Ch., A., Dobson A., P., Dunham E., J., Fredensborg, B., L., Huspeni, T., C., Lorda, J., Mababa, L., Mancini, F., T., Mora A., B., Pickering M., Talhouk N., L., Torchin, M., E., Lafferty K., D. 2008. Ecosystem energetic implications of parasite and free-living biomass in the three estuaries. *Nature* 454: 515-518.
- Lafferty, K.D. 1993. Effects of parasitic castration on growth, reproduction, and population dynamics of the marine snail *Cerithidea californica*. *Marine Ecology Progress Series* 96: 229-237.
- Lafferty, K.D. 1993. The marine snail, *Cerithidea californica*, matures at smaller sizes where parasitism is high. *Oikos* 68: 3-11.
- Lafferty K.D. 1999. The Evolution of Trophic Transmission. *Parasitology Today* 15: 111- 115.
- Lafferty, K.D., Morris, A.K. 1996. Altered behaviour of parasitized killifish increases susceptibility to predation by bird final hosts. *Ecology* 77: 1390-1397.
- Lafferty, K.D., Porter, J.W., Ford, S.E. 2004. Are diseases increasing in the oceans? *Annual Review of Ecology, Evolution and Systematics* 35: 31-54.

- Lafferty, K., D., Dobson, A., P., Kuris, A., M. 2006. Parasites dominate food web links. PNAS 103:11211-11216.
- Lafferty, K., D., Allesina, S., Arim, M., Briggs, CH., J., De Leo, G., Dobson, A., P., Dunne, J., A., Johnson, P., T., J., Kuris, A., M., Marcogliese, D., J., Martinez, N., D., Memmott, J., Marquet, P., A., McLaughlin, J., P., Mordecia, E., A., Pascual, M., Poulin, R., Thieltges, D, W. 2008. Parasites in food webs: the ultimate missing links. Ecology Letters 11: 533-546.
- Lo, C.T., Lee, K.-M. 1996. Pattern of emergence and the effects of temperature and light on the emergence and survival of heterophyid cercariae (*Centrocestus formosanus* and *Haplorchis pumilio*). Journal of Parasitology 82: 347-350.
- Loker, E.S. 1983. A comparative study of the life-histories of mammalian schistosomes. Parasitology 87: 343-369.
- Lowenberger, C., A., Rau, M., E. 1994. *Plagiorchis elegans*: Emergence, longevity and infectivity of cercariae, and host behavioural modifications during cercarial emergence. Parasitology 109: 65-72.
- Loy, C., Haas, W. 2001. Prevalence of cercariae from *Lymnaea stagnalis* snails in a pond system in southern Germany. Parasitological Research. 87: 878-882.
- Lyholt, H., C., K., Buchmann, K. 1996. *Diplostomum spathaceum*: effects of temperature and light on cercarial shedding and infection of rainbow trout. Diseases of Aquatic Organisms 25: 169-173.
- Lysne, D., A., Skorping, A., Hemmingsen, W. 1998. Transmission of *Cryptocotyle lingua* cercariae in natural environments: a field experiment. Journal of Fish Biology 53: 879-885.
- MacKenzie, K. Williams, H.H; Williams, B., McVicar, A.H, Siddall R.1995. Parasites as indicators of water quality and the potential use of helminth transmission in marine pollution studies. Advances in Parasitology 35: 85-114.
- Marcogliese, D.J. 2001. Implications of climate change for parasitism of animals in the aquatic environment. Canadian Journal of Zoology 79: 1331-1352.
- Mas-Coma, S., Valero, M., A., Bargues, M., D. 2009. Climate change effects on trematodiasis, with emphasis on zoonotic fascioliasis and schistosomiasis. Veterinary Parasitology 4: 264-280.
- McCarthy, A.M. 1990. Experimental observations on the specificity of *Apatemon* (*Australapatemon*) *minor* (Yamaguti 1933) (Digenea: Strigeidae) toward leech (Hirudinea) second intermediate hosts. Journal of Helminthology 64: 161-167.

- McCarthy, A.M. 1999. The influence of temperature on the survival and efectivity of the cercariae *Echinoparyphium recurvatum* (Digenea: Echinostomatidae). *Parasitology* 118: 383-388.
- McCarthy, H.O., Fitzpatrick, S., Irwin, S.W.B. 2000. A transmissible trematode affects the direction and rythm of movements in a marine gastropod. *Animal Behaviour* 59: 1161-1166.
- McCarthy, H.O., Fitzpatrick, S.M., Irwin, S.W.B. 2002. Life history and life cycles: production and behavior of trematode cercariae in relation to host exploitation and next-host characteristics. *Journal of Parasitology* 88: 910-918.
- McCarthy, H.O., Fitzpatrick, S.M., Irwin, S.W.B. 2004. Parasite alternation on host shape: a quantitative approach to gigantism helps elucidate evolutionary advantages. *Parasitology* 128: 7-14.
- McKerrow, J., H., Salter, J. 2002. Invasion of skin by *Schistosoma* cercariae. *Trends Parasitology* 18: 193-95
- McKeown, C., A., Irwin, S., W. 1997. Accumulation of *Diplostomum* spp. (Digenea: *Diplostomatidae*) metacercariae in the eyes of 0+ and 1+ roach (*Rutilus rutilus*). *International journal for parasitology* 4: 377-80.
- McKindsey, Ch., W., McLaughlin, J., D. 1995. Field studies on the transmission and survival of *Cyclocoelum mutabile* (Digenea) infections in natural snail populations in Southern Manitoba, Canada. *Journal of Parasitology* 81: 520-525.
- Meyrowitsch D., Christensen, N., Hindsbo O. 1991. Effects of temperature and host density on the snail-finding capacity of cercariae of *Echinostoma caproni* (Digenea: Echinostomatidae). *Parasitology* 102: 391-395.
- Minchella, D.J., Leathers, B.A., Brown, K.M., McNair, J.N. 1985. Host and parasite counteradaptations: an example from a freshwater snail. *American Naturalist* 126: 843-853.
- Minchella, D., J., Scott, M., E. 1991. Parasitism: a cryptic determinant of animal community structure, *Trends Ecol Evol* 6: 250-254.
- Miura, O., Kuris, A., M., Torchin, M., E., Hechinger, R., F., Chiba, S. 2006. Parasites alter host fenotype and may create a new ecological niche for snail hosts. *Proceedings of The Royal Society* 273: 1323-1328.
- Moodley, I., Kleinschmidt, I., Sharp, B., Craig, M., Appleton, C. 2003. Temperature – suitability maps for schistosomiasis in South Africa. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* 97: 617-627.

- Moukrim, A., Zekhnini, A., Rondelaud, D. 1995. A comparative study of the shedding of cercariae of *Schistosoma haematobium* in newborn *Bulinus truncatus*. *Parasitology* 81: 537-539.
- Mouritsen, K.M., 2002. The *Hydrobia ulvae* – *Maritrema subdolum* association: influence of temperature, salinity, light, water-pressure and secondary host exudates on cercarial emergence and longevity. *Journal of Helminthology* 76: 341-347
- Mouritsen, K.N., Jensen, K.T. 1994. The enigma of gigantism: effect of larval trematodes on growth, fecundity, egggestion and locomotion in *Hydrobia ulvae* (Pennant) (Gastropoda: Prosobranchia). *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 181: 53-66.
- Mouritsen, K.N., Jensen, K.T. 1997. Parasite transmission between soft-bottom invertebrates: temperature mediated infection rates and mortality in *Corophium volutarum*. *Marine Ecology Progress Series* 151: 123-134.
- Mouritsen, K.N., Poulin, R. 2002. Parasitism, community structure and biodiversity in intertidal ecosystems. *Parasitology* 124: 1101-1117.
- Mouritsen, K., N., Poulin, R. 2003. Parasite-induced trophic facilitation exploited by a non host predator: a manipulator's nightmare. *International Journal for Parasitology* 33: 1043-1050.
- Mouritsen, K., N., Tompkins, M., D., Poulin, R. 2005. Climate warming may cause a parasite-induced collapse in coastal amphipod populations. *Oecologia* 146: 476-483.
- Našincová, V. 1992. Vývojová stádia motolic v našich vodních plžích a vývojové cykly vybraných druhů čeledí Omphalometridae a Echinostomatidae. Kandidátská disertační práce, Parazitologický ústav ČSAV, České Budějovice, Czech Republic, 268 pp.
- Paine, R.T. 1966. Food web complexity and species diversity. *American Naturalist* 100: 65-75.
- Pechenik, J.A., Fried, B. 1995. Effect of temperature on survival and infectivity of *Echinostoma trivolvis*: a test of the energy limitation hypothesis. *Parasitology* 111: 373-378.
- Pflüger, W. 1980. Experimental epidemiology of schistosomiasis: I. The prepatent period and cercarial production of *Schistosoma mansoni* in *Biomphalaria* snails at various constant temperatures. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 63: 159-170.
- Pflüger, W., Roushdy, M.Z., El Emam, M. 1984. The prepatent period and cercarial production of *Schistosoma haematobium* in *Bulinus truncatus* (Egyptian field strains) at different constant temperatures. *Zeitschrift für Parasitenkunde* 63: 159-169.

- Phoenix, G.K., Lee, J.A. 2004. Predicting impacts of Arctic climate change: past lessons and future challenges. *Ecological Research* 19: 65-74.
- Pietroock, M., Marcogliese, D.J. 2003. Free-living endohelminth stages: at the mercy of environmental conditions. *Trends in Parasitology* 4: 45-47.
- Poulin, R. 1992. Toxic pollution and parasitism in freshwater fish. *Parasitology Today* 8: 58-61.
- Poulin, R. 1995. "Adaptive" changes in the behaviour of parazitized animals: a critical review. *International Journal for Parasitology* 25: 1371-1383.
- Poulin, R. 1996. The evolution of life history strategies in parasitic animals. *Advances in Parasitology* 37: 107-134.
- Poulin, R. 1998. *Evolutionary Ecology of Parasites. From Individuals to Communities*. Chapman and Hall, London, U.K., 212 pp.
- Poulin, R., Mouritsen, K.N. 2003. Large-scale determinants of trematode infections in intertidal gastropods. *Marine Ecology Progress Series* 254: 187-198.
- Poulin, R., Mouritsen, K.N. 2006. Climate change, parasitism and the structure of intertidal ecosystems. *Journal of Helminthology* 80: 183-191.
- Poulin, R. 2006. Global warming and temperature-mediated increases in cercarial emergence in trematode parasites. *Parasitology* 132: 143-151.
- Poulin, R. 2007. *Evolutionary Ecology of Parasites*. Princeton University Press, Princeton, New Jersey, 332 pp.
- Probert, A., J. 1966. Studies on the incidence of larval trematodes infecting the fresh water mollusks of Llangorse Lake, South Wales. *Journal of Helminthology* 40: 115-130.
- Probst, S., Kube, J. 1999. Histopatological effects of larval trematode infections in mudsnails and their impact on host growth: what causes gigantism in *Hydrobia ventrosa* (Gastropoda: Prosobranchia)? *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 238: 49-68.
- Raymond, K., Probert, A., J. 1991. The daily cercarial emission rhythm of *Schistosoma margrebowiei* with particular reference to dark period stimuli. *Journal of Helminthology* 65: 159-168.
- Rea, J.G., Irwin, S.W.B. 1992. The effects of age, temperature, light quantity and wavelength on swimming behaviour of cercariae of *Cryptocotyle lingua* (Digenea: Heterophyidae). *Parasitology* 105: 131-137.
- Roberts L.S., Janovy J. 2005. *Foundations of parasitology*. McGraw-Hill, Boston, U.S.A., 702 pp.

- Rondelaud, D., Abrous, M., Dreyfuss, G. 2002. The influence of different food sources on cercarial production in *Lymnaea truncatula* experimentally infected with Digenea. *Veterinary Research* 33: 95-100.
- Rondelaud, D., Denève, C., Belfaiza, M., Mekroud, A., Abrous, M., Moncef, M., Dreyfuss, G. 2004. Variability in the prevalence of infection and cercarial production in *Galba truncatula* raised on high-quality diet. *Parasitology Research*. 92: 242-245.
- Rondelaud, D., Fousi, M., Vigloles, P., Moncef, M., Dreyfuss, G. 2007. Optimization of metacercarial production for three digenean species by the use of petri dishes for raising lettuce-fed *Galba truncatula*. *Parasitology Research* 100: 861-865.
- Saladin, K.S. 1982. *Schistosoma mansoni*: cercarial responses to irradiance changes. *Journal of Parasitology* 68: 120-124.
- Santos, M.J., Karvonen, A., Pedro, J.C., Faltýnková, A, Seppala, O., Valtonen E.T. 2007. Qualitative and quantitative behavioral traits in a community of furcocercariae trematodes: tools for species separation? *Journal of Parasitology* 93: 1319-1323.
- Seppälä, O., Liljeroos, K., Karvonen, A., Jokela, J. 2008. Host condition as a constraint for parasite reproduction. *Oikos* 117: 794-753.
- Shiff, C.J., Ley, H.E., Kriel, R.L., Cmelik, S.H.W. 1972. The influence of human skin lipids on the cercarial penetration responses of *Schistosoma haematobium* and *Schistosoma mansoni*. *Journal of Parasitology* 58: 476-480.
- Shostak, A.W., Esch, G.W. 1990a. Temperature effects on survival and encystment of cercariae of *Halipegus occidualis* (Trematoda). *International Journal for Parasitology* 20: 95-99.
- Shostak, A.W., Esch, G.W. 1990b. Photocycle – dependent emergence by cercariae of *Halipegus occidualis* from *Helisoma anceps*, with special reference to cercarial emergence patterns as adaptations for transmission. *Journal of Parasitology* 76: 790-795.
- Shostak, A.W., 1993. Survival of *Petasiger nitidus* (Digenea: Echinostomatidae) cercariae in relation to temperature, pH, and salinity. *Canadian Journal of Zoology* 71: 431-434.
- Sitko, J., Faltýnková, A., Scholz, T. 2006. Checklist of the Trematodes (Digenea) of Birds of the Czech and Slovak Republics. Academia, Praha, Czech Republic, 112 pp.
- Sorensen, R.E., Minchella, D.J. 1998. Parasite influences on host life history: *Echinostoma revolutum* parasitism of *Lymnaea elodes* snails. *Oecologia* 115: 188-195.
- Sorensen, R.E., Minchella, D.J. 2001. Snail-trematode life history interactions: past trends and future directions. *Parasitology* 123: 3-18.

- Sousa, W.P. 1983. Host life history and the effect of parasitic castration on growth: a field study of *Cerithidea californica* Haldemann (Gastropoda: Prosobranchia) and its trematode parasites. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 73: 273-296.
- Sousa, W.P. 1991. Can models of soft-sediment community structure be complete without parasites? *American Zoologist* 31: 821-830.
- Sous, S., M. 1992. Influence of abiotic factors on enission and survival of cercariae of *Diplostomum chromatophrum* (Brown, 1931) (Trematoda, Diplostomidae). *Ecol Parasitol* 1: 154-157.
- Stables, J.N., Chappell, L.H. 1986. The epidemiology of diplostomiasis in farmed rainbow trout from Northeast Scotland. *Parasitology* 92: 699-710.
- StatSoft, Inc. (2005). STATISTICA (data analysis software system), version 7.1. www.statsoft.com.
- Stearns, S.C. 1992. *The Evolution of Life Histories*. Oxford University Press, Oxford, U.K., 249 pp.
- Stebbins, R.C., Cohen, N.W. 1997. *A Natural History of Amphibians*. Princeton University Press, USA, 332 pp.
- Šusta, J. (1997) *Výživa kapra a jeho družiny rybníčné*. Carpio. 180 pp
- Ševčík, J. (2006) *Třeboňsko - Krajina vyder a orlů mořských*. Nakladatelství Pavel Dobrovský-BETA, Praha 2006, 185 pp.
- Taskinen, J. 1998. Cercarial production of the trematode *Rhipidocotyle fennica* in clams kept in the field. *Journal of Parasitology* 84: 345-349.
- Ter Braak, C., J., F., Šmilauer, P. 1998. *Canoco reference manual and users guide to Canoco for Windows: Software for canonical community ordination*. Microcomputer Power, Ithaca, USA.
- Théron, A. 1984. Early and late shedding patterns of *Schistosoma mansoni* cercariae: ecological significance in transmission to human and murine hosts. *Journal of Parasitology* 70: 652-655.
- Théron, A., Combes, C. 1988. Genetic analysis of cercarial emergence rhythms of *Schistosoma mansoni*. *Behaviour Genetics* 18: 201-209.
- Théron, A., Combes, C. 1995. Asynchrony of infection timing, habitat preference, and sympatric speciation of schistosome parasites. *Evolution* 49: 372-375.

- Théron, A., Pointier, J.P. 1995. Ecology, dynamics, genetics and divergence of trematode populations in heterogenous environments: the model of *Schistosoma mansoni* in the insular focus of Guadeloupe. *Research and Reviews in Parasitology* 55: 49-64.
- Thieltges, D., W., Rick, J. 2006. Effect of temperature on emergence, survival and infectivity of cercariae of the marine trematode *Renicola roscovita* (Digenea: Rencolidae). *Diseases of Aquatic Organisms* 73: 63-68.
- Thomas F., Poulin, R. 1998. Manipulation of a mollusc by a trophically transmitted parasite: convergent evolution or phylogenetic inheritance? *Parasitology* 116: 431-436.
- Thompson, S.N. 1997. Physiology and biochemistry of snail-larval trematode relationships. *In: Advances in Trematode Biology*, B. Fried and T.K. Graczyk (editoři). CRC Press, Boca Raton, Florida, U.S.A., pp. 149-196.
- Thompson, R.M., Mouritsen, K.N., Poulin, R. 2005. Importance of parasites and their life cycle characteristics in determining the structure of a large marine food web. *Journal of Animal Ecology* 74: 77-85.
- Toledo, R., Muñoz-Antoli, C., Pérez, M., Esteban, J.G. 1999. Survival and infectivity of *Hypoderaeum conoideum* and *Euparyphium albuferensis* cercariae under laboratory conditions. *Journal of Helminthology* 73: 177-182.
- Tompkins, D., M., Greenman, J., V., Robertson, P., A., Hudson, P., J. 2000. The role of shared parasites in the exclusion of wildlife hosts: *Heterakis gallinarum* in the ring-necked pheasant and the grey partridge. *Journal of Animal Ecology* 69: 829-840.
- Tompkins, D., M., White, A., R., Boots, M. 2003. Ecological replacement of native red squirrels by invasive greys driven by disease. *Ecological Letters* 6: 189-196.
- Uglem, G.L., Prior, D.J. 1983. Control of swimming in cercariae of *Proterotrema macrostoma* (Digenea). *Journal of Parasitology* 69: 866-870.
- Umadevi, K., Madhavi, R. 1997. Effects of light and temperature on the emergence of *Haplorchis pumilio* cercariae from the snail host, *Thiara tuberculata*. *Acta Parasitologica* 42: 12-16.
- Valtonen, E.T., Gibson, D.I. 1997. Aspects of the biology of diplostomatid metacercarial (Digenea) populations occurring in fishes in different localities of northern Finland. *Annales Zoologici Fennici* 34: 47-59.
- Valtonen, E.T., Holmes, J.C., Koskivaara, M. 1997. Eutrophication, pollution and fragmentation: effects on parasite communities in roach (*Rutilus rutilus*) and perch (*Perca fluviatilis*) in four lakes in central Finland. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences* 54: 572-585.

- Valtonen, E.T., Holmes, J.C., Aronen J., Rautalahti, I. 2003. Parasite communities as indicators of recovery from pollution: parasites of roach (*Rutilus rutilus*) and perch (*Perca fluviatilis*) in central Finland. *Parasitology* 126: 43-52.
- Vaughan, D.G, Marshall, G.J., Connolley, W.M., Parkinson, C., Mulvaney, R., Hodgson, D.A., King, J.C., Pudsey, C.J., Turner, J. 2003. Recent rapid regional climate warming on the Antarctic Peninsula. *Climatic Change* 60: 243-274.
- Väyrynen, T., Siddal, R., Valtonen, E.T., Taskinen, J. 2000. Patterns of trematode parasitism in lymnaeid snails from northern and central Finland. *Annales Zoologici Fennici* 37: 198-199.
- Vignoles, P., Novobilský, A., Rondelaud, D., Bellet, V., Trefil, P., Koudela, B., Dreyfuss, G. 2006. Cercarial production of *Fascioloides magna* in the snail *Galba truncatula* (Gastropoda: Lymnaeidae). *Parasitology Research* 98: 462-467.
- Wagenbach, G.E., Alldredge, A.L. 1974. Effect of the light on the emergence pattern of *Plagiorchis micracanthus* cercariae from *Stagnicola exilis*. *Journal of Parasitology* 60: 782-785.
- Watertor, J., L. 1968. Effect of temperature stress on growth and development of larval and adult *Telorchis bonnerensis* (Trematoda: *Telorchidae*). *The Journal of Parasitology* 54: 506-508
- Webbe, G., James, C. 1972. Host-parasite relationship of *Bulinus globosus* and *B. truncatus* with strains of *Schistosoma heamatobium*. *Journal of Helminthology* 46: 185-199.
- Webber, R., A., Rau, M., E., Lewis, D., J. 1986. The effects of various light regimens on the emergence of *Plagiorchis noblei* cercariae from the molluscan intermediate host, *Stagnicola elodes*. *Journal of Parasitology* 60: 782-785.
- Weiser, W. 1991. Physiological energetics and ecophysiology. In *Cyprinid Fishes. Systematic, Biology and Exploitation* (ed. Winfield, I. J., Nelson, J.S.), pp. 426-455. Chapman and Hall, London.
- Whitfield, P.J., Anderson, R.M., Bundy, D.A.P. 1977. Experimental investigations of the behaviour of the cercariae of an ectoparasitic digenean, *Transversotrema patialense*: general activity patterns. *Parasitology* 75: 9-30.
- Wootton, R., J. 1990. *The Ecology of Teleost Fishes*. Chapman and Hall, London.
- Yamaguti, S. 1971. *Synopsis of Digenetic Trematodes of Vertebrates*. Keigaku Publishing Co., Tokyo, Japan, 1047 pp. + 349 plts.
- Yamaguti, S. 1975. *A Synoptical Review of Life Histories of Digenetic Trematodes of Vertebrates. Part I, II*. Publishing Co., Tokyo, Japan, 550 pp. + 219 plts.

- Yilma, J.M., Malone, J.B. 1998. A geographic information system forecast model for strategic control of fasciolosis in Ethiopia. *Veterinary Parasitology* 78: 103-127.
- Zakikhani, M., Rau, M.E. 1998. Effects of *Plagiorchis elegans* (Digenea: Plagiorchiidae) infection on the reproduction of *Biomphalaria glabrata* (Pulmonata: Planorbidae). *Journal of Parasitology* 84: 927-930.
- Żbikowska, E. 2004a. Initial study of non-specific defense reactions of *Lymnaea stagnalis* (L.) individuals, naturally parasitized with trematode larvae. *Bulletin of the Malacological Society of London* 40: 17.
- Żbikowska, E. 2004b. Does behavioral fever occur in snails parasitized with trematode larvae? *Journal of Thermal Biology* 29: 675-679.
- Zbikowska, E. 2007. Digenea species in chosen populations of freshwater snails in northern and central part of Poland. *Wiad Parazytol* 53: 301-308.
- Żbikowska, E., Żbikowski, J. 2005. Differences in shell shape of naturally infected *Lymnaea stagnalis* individuals as the effect of the activity of digenetic trematode larvae. *Journal of Parasitology* 91: 1046-1051.
- Zbikowska, E., Kobak, J., Zbikowski, J., Kaklewski, J. 2006. Infestation of *Lymnaea stagnalis* by digenetic flukes in the Jeziorak Lake. *Parasitological Research* 99: 434-439.
- Zdun, W. 1959. Cercariae from *Coretus corneus* (L.) in the environments of Warszawa. *Acta Parasitologica Pol* 7: 95-115.

8. PŘÍLOHY

8.1. Tabulky

Tabulka 1. Průměrná velikost plovatky bahenní a počet uvolňovaných cercárií druhu *Plagiorchis elegans*.

rok	délka měkkýše		šířka měkkýše		objem měkkýše		cercárie		
2007	měkkýš	(cm)	(cm)	(cm)	(mm ³)	(počet)	(počet)		
měsíc	počet	průměr	směr.odch.	průměr	směr.odch.	průměr	směr.odch.	průměr	směr.odch.
1	3	55,37	1,95	31,55	1,62	14,51	2,05	25837	6740
2	3	52,33	2,18	32,05	1,25	14,13	1,67	21097	9328
3	3	49,45	0,96	26,72	0,84	9,25	0,72	1761	814
4	6	45,33	5,92	25,25	3,50	7,97	3,18	4224	3942
5	9	45,99	7,96	23,97	6,13	7,96	5,10	813	995
6	6	46,69	6,54	24,6	3,87	7,88	3,18	2285	2479
7	9	46,46	4,33	23,83	2,92	7,13	2,32	2253	2426
8	6	40,17	2,80	20,89	2,36	4,71	1,30	677	501
9	3	42,4	1,69	20,7	1,54	4,81	0,91	5264	975
10	3	44,02	4,77	24,02	2,29	6,82	1,89	9748	6230
12	1	51,6	0,00	28,1	0,00	10,66	0,00	56642	0

Tabulka 2. Průměrné hodnoty velikosti plovatky bahenní a počtu cercárií druhu *Diplostomum pseudospathaceum*.

rok	délka měkkýše		šířka měkkýše		objem měkkýše		cercárie		
2007	měkkýš	(cm)	(cm)	(cm)	(mm ³)	(počet)	(počet)		
měsíc	(počet)	průměr	směr.odch.	průměr	směr.odch.	průměr	směr.odch.	průměr	směr.odch.
2	3	50,4	5,00	29,48	2,55	11,75	3,23	758	198
3	1	53,55	0,00	28,5	0,00	11,38	0,00	540	0
4	2	47,78	2,38	25,63	2,63	8,38	2,09	1508	74
5	3	55,4	2,40	31,72	1,69	14,68	2,04	10648	4499
6	5	48,21	4,17	24,82	2,09	7,89	1,77	6954	3237
7	9	48,78	3,85	25,8	1,88	8,6	1,74	3879	3921
8	4	49,34	6,72	27,03	3,63	9,91	3,52	6487	5731
9	1	56,95	0,00	31,5	0,00	14,79	0,00	22721	0
10	2	53,33	2,92	29,98	1,88	12,67	2,26	10132	8049
11	1	50,25	0,00	29,7	0,00	11,6	0,00	8831	0
12	2	52,95	3,40	29,88	1,48	12,47	2,02	3133	899

Tabulka 3. Průměrné hodnoty velikosti plovatky bahenní a počtu cercárií druhu *Opisthioglyphe ranae*.

rok	délka měkkýše		šířka měkkýše		objem měkkýše		cercárie		
2007	měkkýš	(cm)	(cm)	(cm)	(mm ³)	(počet)	(počet)	(počet)	
měsíc	počet	průměr	směr.odch.	průměr	směr.odch.	průměr	směr.odch.	průměr	směr.odch.
1	3	49,27	1,35	27,78	1,61	10,01	1,44	219	43,12
2	3	54,47	0,93	33,17	1,62	15,73	1,76	379	201,48
3	1	53,55	0,00	28,5	0,00	11,38	0,00	125	0,00
4	2	45,7	1,65	25,8	0,55	7,98	0,63	231	44,20
5	3	47,75	3,23	26,06	0,81	8,5	0,91	3499	1544,99
6	3	43,72	5,02	23,22	3,18	6,48	2,60	2795	1207,22
7	9	43,32	7,07	21,95	1,11	5,49	1,06	1328	1023,22
8	5	47,69	1,72	25,36	1,76	8,06	1,16	6648	5765,69
9	3	44,75	3,46	23,45	1,81	5,77	1,38	3741	1186,41
10	1	49,65	0,00	25,15	0,00	8,22	0,00	788	0,00
12	1	42,1	0,00	21,65	0,00	5,16	0,00	1890	0,00

Tabulka 4. Teplota vody a vzduchu u jednotlivých skupin při odběrech v roce 2008 (A₁ – měkkýši produkující v terénu; A₂ – skupina stejných jedinců měkkýšů jako ve skupině A₁, ale produkující v laboratorních podmínkách při přirozené světelné periodě; B₁ – měkkýši produkující v laboratoři pod světlem stolní lampy; B₂ – měkkýši produkující v laboratoři při přirozené světelné periodě).

skupina	datum (rok 2008)	voda (°C)	vzduch (°C)
A ₁	30.6.	26	26,2
A ₁	28.7.	24,6	20
B ₁	28.7.	26,5	27
B ₂	28.7.	25,3	25,5
A ₂	28.7.	25,3	28,8
A ₁	22.9.	11,1	10
B ₁	22.9.	18,4	14
B ₂	22.9.	18,4	19,4
A ₂	22.9.	18,8	22,3
A ₁	21.10.	10,3	16,7
B ₁	21.10.	17	14
B ₂	21.10.	16	15,6
A ₂	21.10.	18,2	20,5

Tabulka 5. Průměrné hodnoty velikosti měkkýšů (počet měkkýšů byl v každém období stejný – 10 jedinců) a počet vyprodukovaných cercárií (*Diplostomum pseudospathaceum*) v roce 2008 (vysvětlivky k jednotlivým skupinám měkkýšů viz. Tab. 4).

	délka měkkýše (mm)		šířka měkkýše (mm)		objem měkkýše (mm ³)		cercárie (počet)	
	průměr	směr.odch.	průměr	směr.odch.	průměr	směr.odch.	průměr	směr.odch.
30.6.2008								
B ₁	53,69	2,39	26,19	1,51	9,68	1,37	100060	36183
A ₁	54,87	2,83	28,39	1,47	11,62	1,59	64140	46683
A ₂	54,87	2,83	28,39	1,47	11,62	1,59	125920	47640
28.7.2008								
B ₁	53,99	3,74	27,61	2,39	10,93	2,63	74408	30383
B ₂	52,17	1,84	26,87	1,05	9,88	1,08	127236	36571
A ₁	55,29	3,58	28,06	2,21	11,5	2,36	123231	49082
A ₂	55,29	3,58	28,06	2,21	11,5	2,36	172082	35056
22.9.2008								
B ₁	54,34	3,47	28,77	3,37	12,02	3,47	34393	13847
B ₂	53,87	3,92	28,81	2,25	11,86	2,6	61154	34219
A ₁	54,26	2,43	29,34	1,74	12,37	1,78	5112	3659
A ₂	54,26	2,43	29,34	1,74	12,37	1,78	71872	18853
21.10.2008								
B ₁	52,76	2,11	28,34	1,29	11,12	1,28	7408	8273
B ₂	52,08	3,43	27,13	1,88	10,12	2,06	6605	5710
A ₁	54,89	3,4	29,93	2,14	12,99	2,38	4176	2408
A ₂	54,89	3,4	29,93	2,14	12,99	2,38	9532	5473

Tabulka 6. Statistické údaje získané pomocí Tukey HSD testu popisující rozdíl v produkci cercárií mezi jednotlivým ročním období. Červeně zvýrazněné údaje vykazují signifikantní rozdíl.

roční období	1	2	3	4
jaro		0,20	0,01	0,95
léto	0,20		0,40	0,65
podzim	0,01	0,40		0,09
zima	0,95	0,65	0,09	

Tabulka 7. Kanonická variační analýza pro rozměry cercárií *Opisthioglyphe ranae* z jednotlivých ročních období. Statistická signifikance vysvětlujících proměnných vybraných na základě forward selekce, testována neparametrickým permutačním Monte Carlo testem (999 permutací pro analýzu).

<i>Opisthioglyphe ranae</i>	F	p
1. osa	37,875	0,001
ostatní osy	10,734	0,001
<i>Forward selekce</i>		
šířka ústní přísavky	27,667	0,001
délka břišní přísavky	14,728	0,001
šířka těla	13,765	0,001
délka ocásku	9,180	0,001
šířka ocásku	6,009	0,001

Tabulka 8. Kanonická variační analýza pro rozměry cercárií *D. pseudospathaceum* z jednotlivých ročních období. Statistická signifikance vysvětlujících proměnných vybraných na základě forward selekce, testována neparametrickým permutačním Monte Carlo testem (999 permutací pro analýzu).

<i>D. pseudospathaceum</i>	F	p
1. osa	34,284	0,001
ostatní osy	8,331	0,001
<i>Forward selekce</i>		
šířka ústní přísavky	23,968	0,001
délka ocásku	12,591	0,001
šířka těla	9,837	0,001
délka těla	11,82	0,001
délka ústní přísavky	10,041	0,001

Tabulka 9. Kanonická variační analýza pro rozměry cercárií *P. elegans* z jednotlivých ročních období. Statistická signifikance vysvětlujících proměnných vybraných na základě forward selekce, testována neparametrickým permutačním Monte Carlo testem (999 permutací pro analýzu).

<i>P. elegans</i>	F	p
1. osa	67,389	0,001
ostatní osy	17,922	0,001
<i>Forward selekce</i>		
šířka ocásku	43,874	0,001
šířka těla	35,639	0,001
šířka břišní přísavky	11,802	0,001
délka ocásku	10,768	0,001
délka ústní přísavky	10,165	0,001
délka těla	9,338	0,001

Tabulka 10. Kanonická variační analýza pro rozměry cercárií z jednotlivých hostitelů (*L. stagnalis*). Statistická signifikance vysvětlujících proměnných testována neparametrickým permutačním Monte Carlo testem (999 permutací pro analýzu).

<i>O. ranae</i>	F	p
1. osa	6,862	0,001
ostatní osy	3,65	0,001
<i>P. elegans</i>		
1. osa	7,481	0,001
ostatní osy	4,046	0,001
<i>D. pseudospathaceum</i>		
1. osa	5,646	0,001
ostatní osy	2,847	0,001

Tabulka 11. Analýza hlavních komponent (PCA) vlivu ročního období a hostitele na velikost cercárií. Variabilita dat vysvětlená na jednotlivých osách je uvedena v procentech.

<i>O. ranae</i>	1. osa	2. osa	3. osa	4. osa
roční období	50,6	77	100	0
hostitel	3,9	7,6	11,1	15
<i>P. elegans</i>				
roční období	50	79,6	100	0
hostitel	2,3	4,5	6,6	8,5
<i>D. pseudospathaceum</i>				
roční období	55,2	82,1	100	0
hostitel	4,2	8,1	12	14,6

Tabulka 12. Statistické údaje, ukazující rozdíl v množství vyprodukovaných cercárií (*D. pseudospathaceum*) u skupin A₁ a A₂ mezi jednotlivými odběry, získané pomocí Tukey HSD testu. Červeně zvýrazněné údaje vykazují signifikantní rozdíl.

roční období	skupina měkkýšů	1	2	3	4	5	6	7	8
červen	A1		0,00	0,00	0,00	0,00	0,72	0,00	0,00
červen	A2	0,00		1,00	0,50	0,00	0,26	0,00	0,00
červenec	A1	0,00	1,00		0,33	0,00	0,15	0,00	0,00
červenec	A2	0,00	0,50	0,33		0,00	0,00	0,00	0,00
září	A1	0,00	0,00	0,00	0,00		0,00	1,00	0,97
září	A2	0,72	0,26	0,15	0,00	0,00		0,00	0,00
říjen	A1	0,00	0,00	0,00	0,00	1,00	0,00		0,59
říjen	A2	0,00	0,00	0,00	0,00	0,96	0,00	0,59	

Tabulka 13. Statistické údaje získané pomocí Tukey HSD testu, popisující rozdíl v produkci cercárií mezi jednotlivými skupinami měkkýšů. (A₁- produkující v terénu; B₁- produkující v laboratorních podmínkách, pod světlem stolní lampy; B₂- produkující v laboratorních podmínkách, při přirozené světelné periodě). Červeně zvýrazněné údaje vykazují signifikantní rozdíl.

skupina měkkýšů	1	2	3
A1		0,00	0,00
B1	0,00		0,00
B2	0,00	0,00	

Tabulka 14. Statistické údaje získané pomocí Tukey HSD testu, popisující rozdíl v produkci cercárií mezi jednotlivými skupinami měkkýšů. Červeně zvýrazněné údaje vykazují signifikantní rozdíl.

skupina měkkýšů	1	2	3
B1		0,00	0,00
B2	0,00		0,24
A2	0,00	0,24	

8.2. Obrázky



Obrázek 1. Poloha studovaných lokalit.



Rybník Hluboký u Hamru



Rybník Vlkov

Obrázek 2. Fotografie některých ze studovaných rybníků z Třeboňské lokality.



Rybník Velký Dvorecký

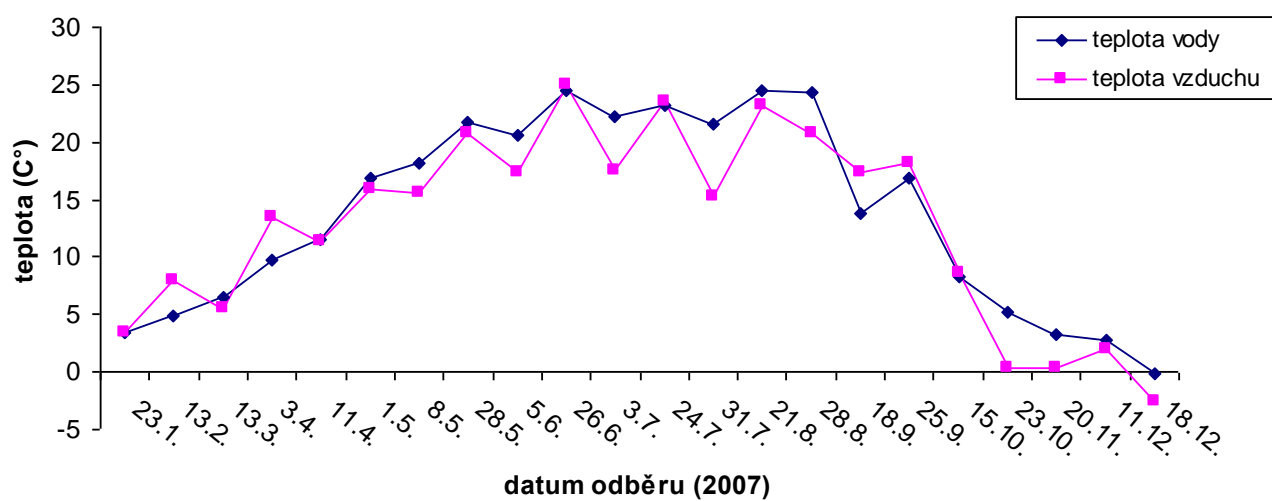


Rybník Zavadil

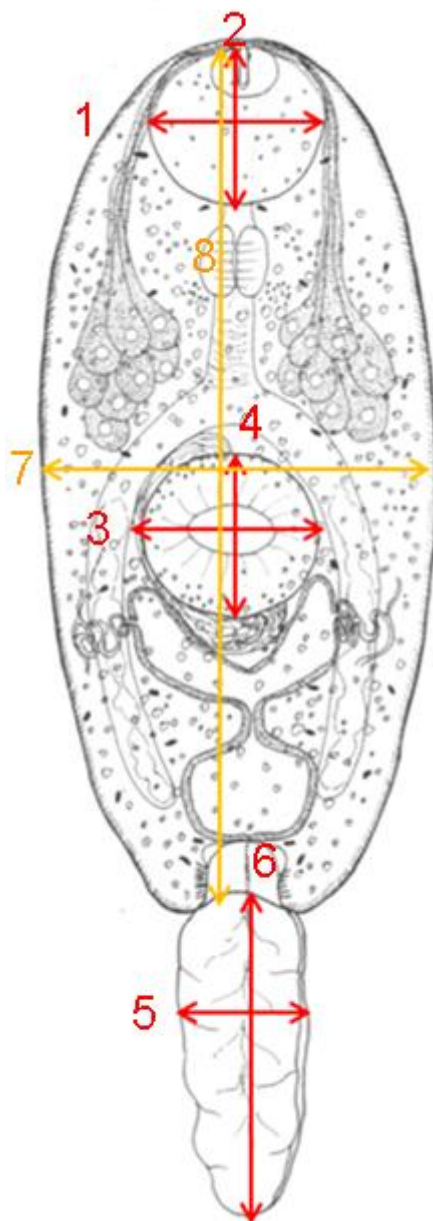
Obrázek 3. Fotografie některých ze studovaných rybníků na lokalitě Jindřichohradecké.



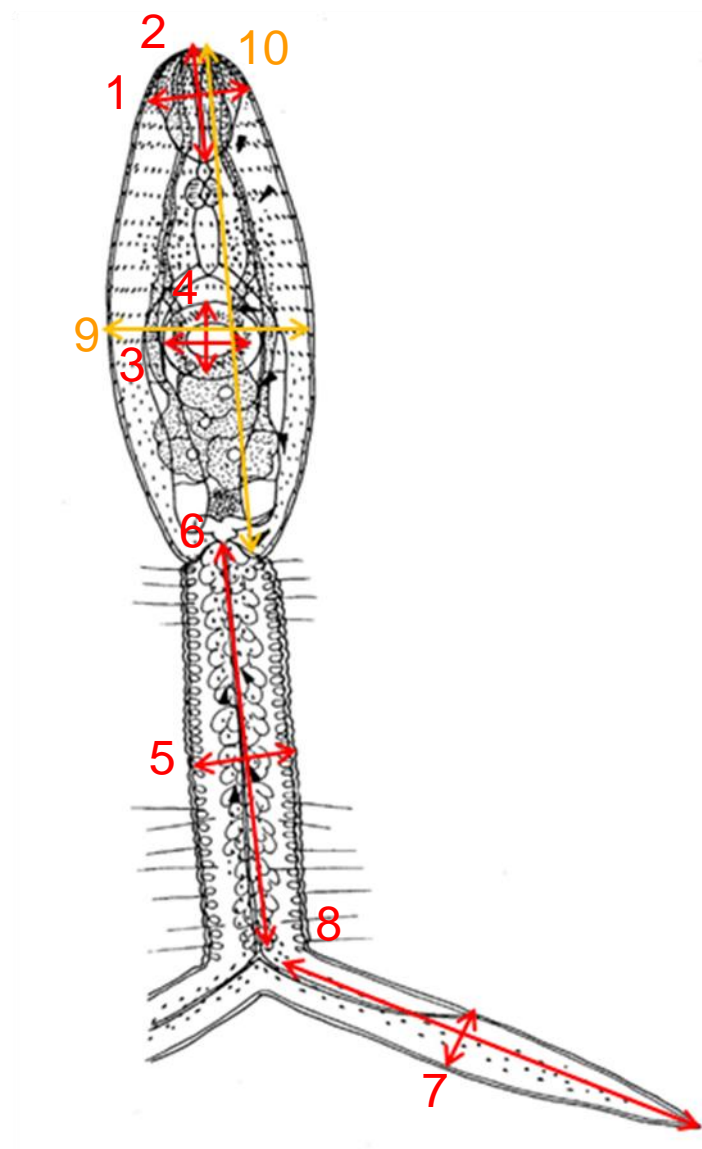
Obrázek 4. Plovatka bahenní (*Lymnaea stagnalis*).



Obrázek 5. Graf znázorňující průběh průměrných teplot vody a vzduchu během roku 2007 ve sledované oblasti (hodnoty z obou lokalit jsou zprůměrovány).



Obrázek 6. Tělesné rozměry měřené u xifidiocerkárií (na obrázku je znázorněn druh *Opisthioglyphe ranae*) 1. šířka ústní přísavky; 2. délka ústní přísavky; 3. šířka břišní přísavky; 4. délka břišní přísavky; 5. šířka ocásku; 6. délka ocásku; 7. šířka těla; 8. délka těla.



Obrázek 7. Tělesné rozměry měřené u furkocerkárie (*Diplostomum pseudospathaceum*)

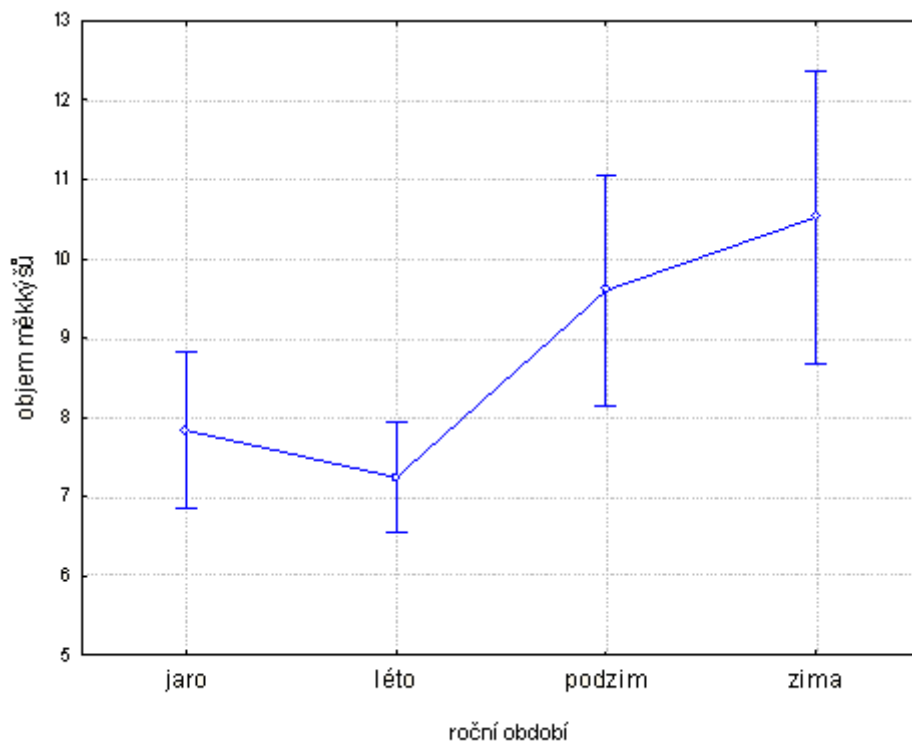
1. šířka ústní přísavky; 2. délka ústní přísavky; 3. šířka břišní přísavky; 4. délka břišní přísavky; 5. šířka ocásku; 6. délka ocásku; 7. šířka furky; 8. délka furky; 9. šířka těla; 10. délka těla.



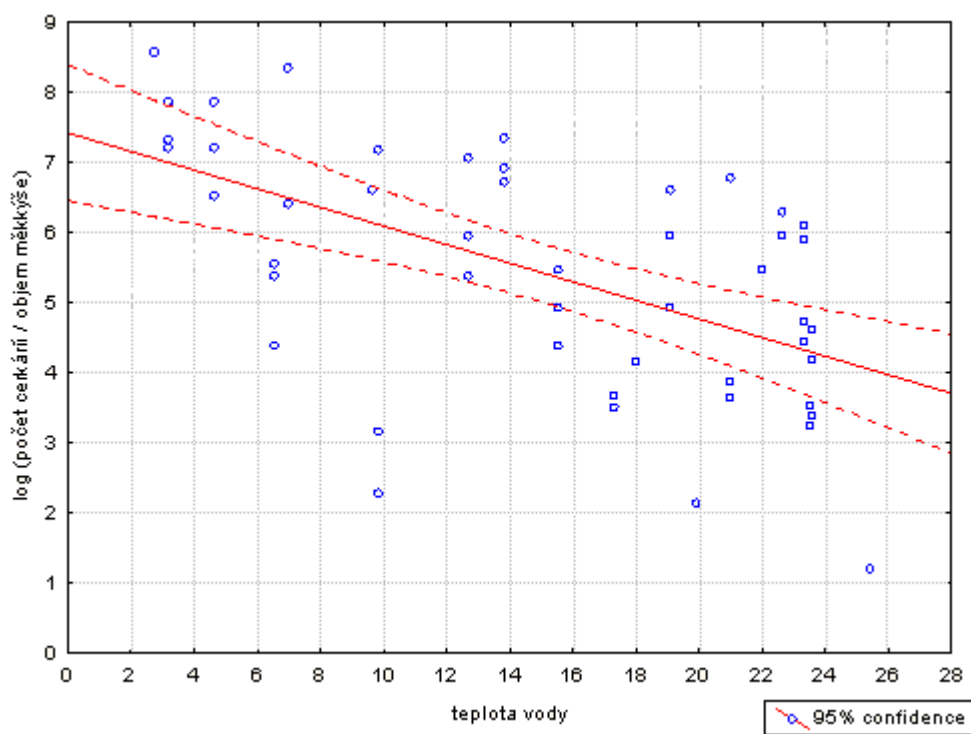
Obrázek 8. Odměrné válce v nosné konstrukci určené pro sledování vyplouvání cercárií z měkkýšů na sledované lokalitě.



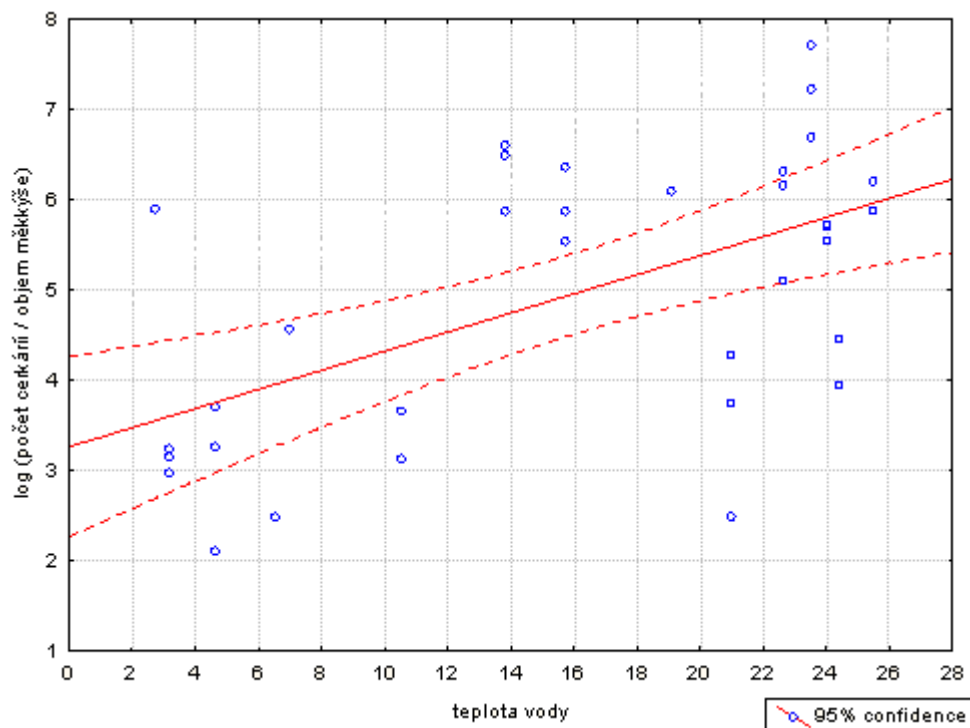
Obrázek 9. Odběr vzorků vody s cercáriemi z odměrných valců, kde byli umístěni měkkýši.



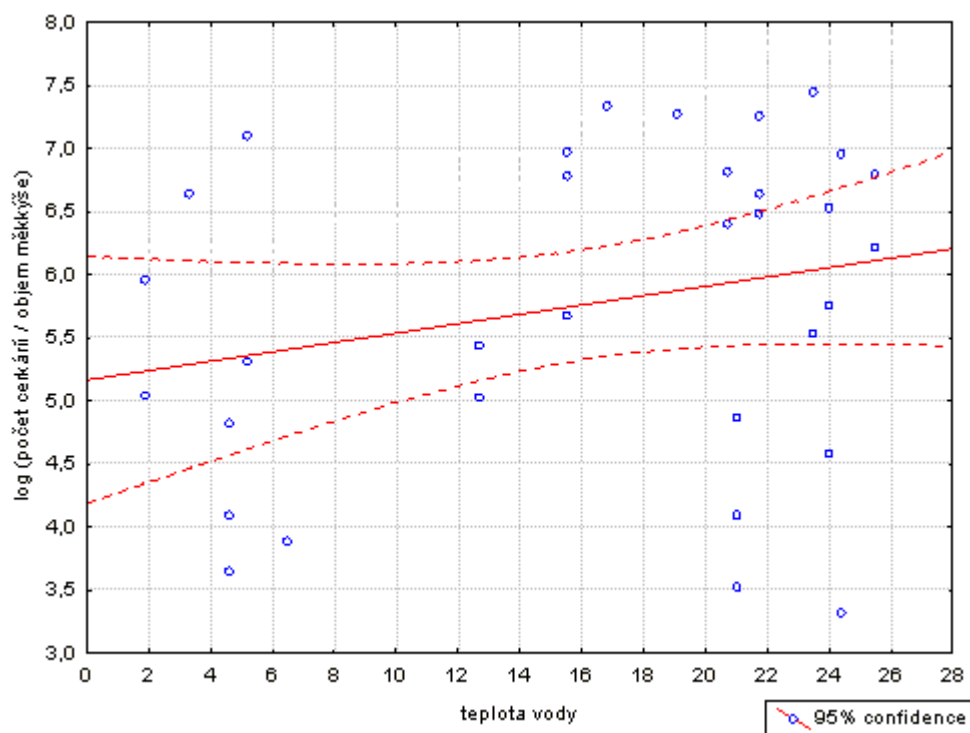
Obrázek 10. Průměrné hodnoty objemu měkkýšů během jednotlivých ročních období.



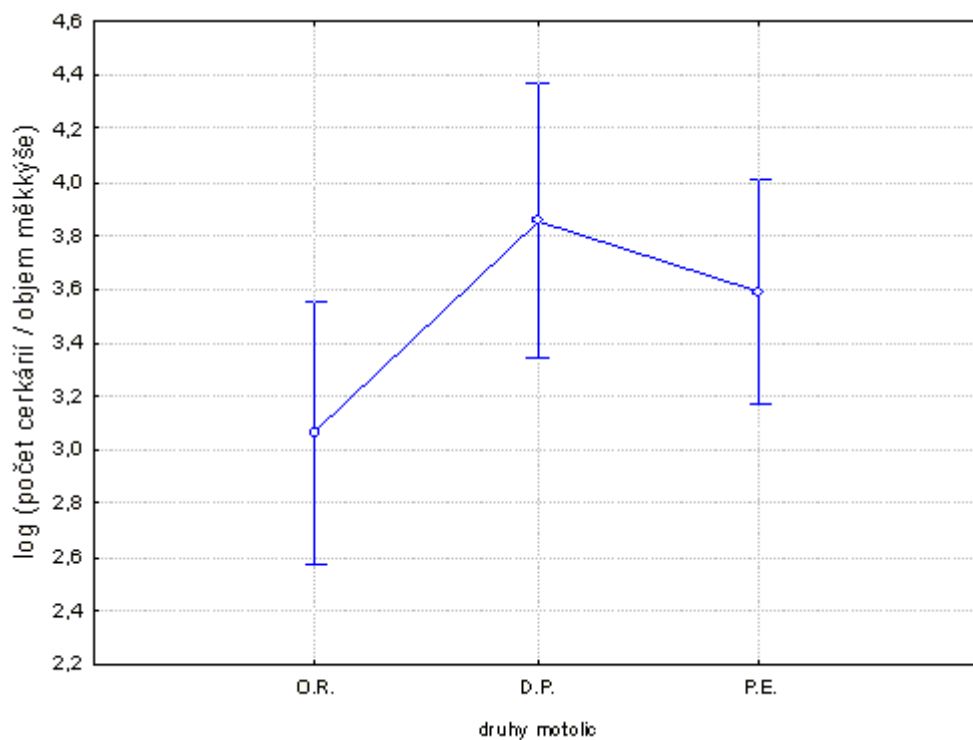
Obrázek 11. *Plagiorchis elegans* – vztah mezi teplotou vody a množstvím vyplavaných cercárií během jednotlivých odběrů.



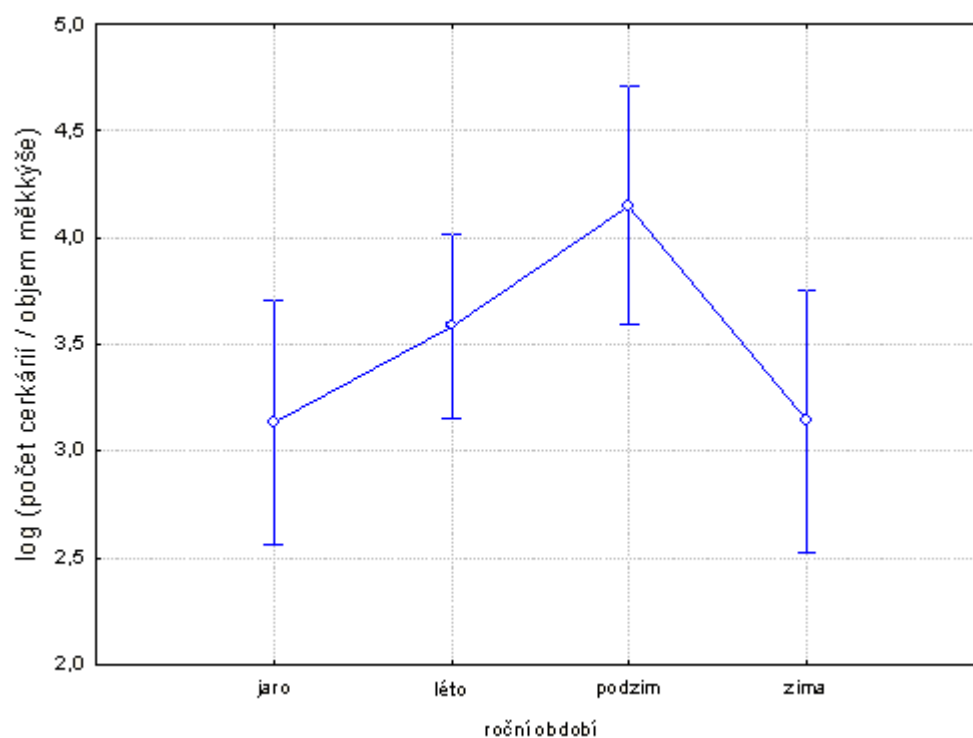
Obrázek 12. *Opisthioglyphe ranae* – vztah mezi teplotou vody a množstvím vyplavaných cerkáří během jednotlivých odběrů.



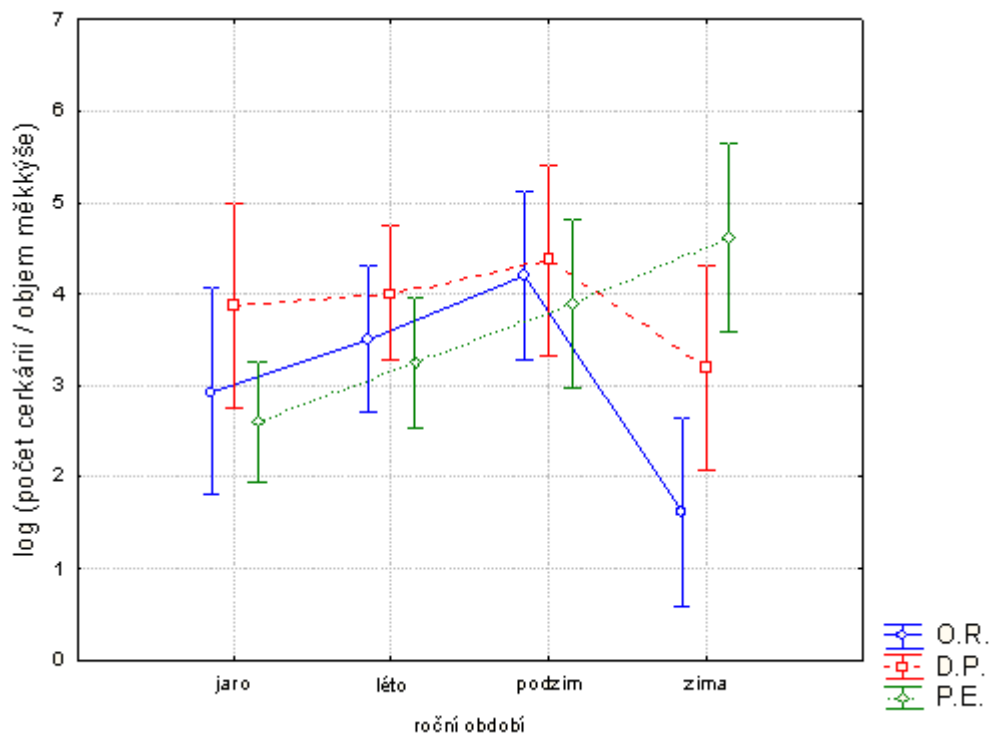
Obrázek 13. *Diplostomum pseudospathaceum* – vztah mezi teplotou vody a množstvím vyplavaných cerkáří během jednotlivých odběrů.



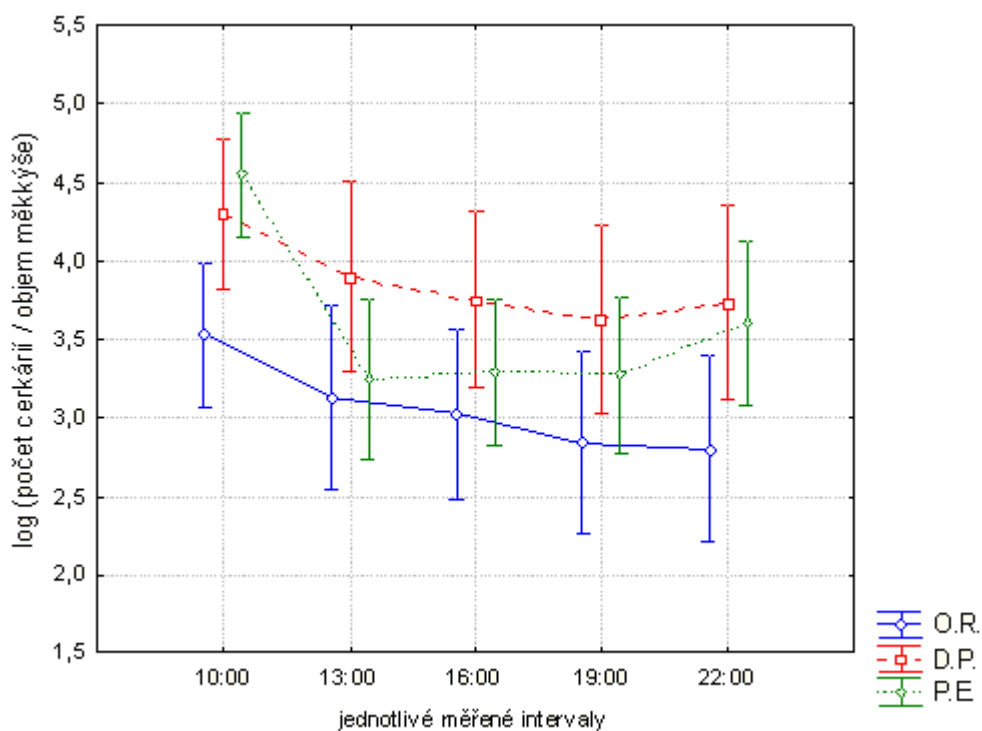
Obrázek 14. Celkové množství vyplavaných cercárií tří vybraných druhů – *Opisthioglyphe ranae* (O.R.), *Diplostomum pseudospathaceum* (D.P.) a *Plagiorchis elegans* (P.E.).



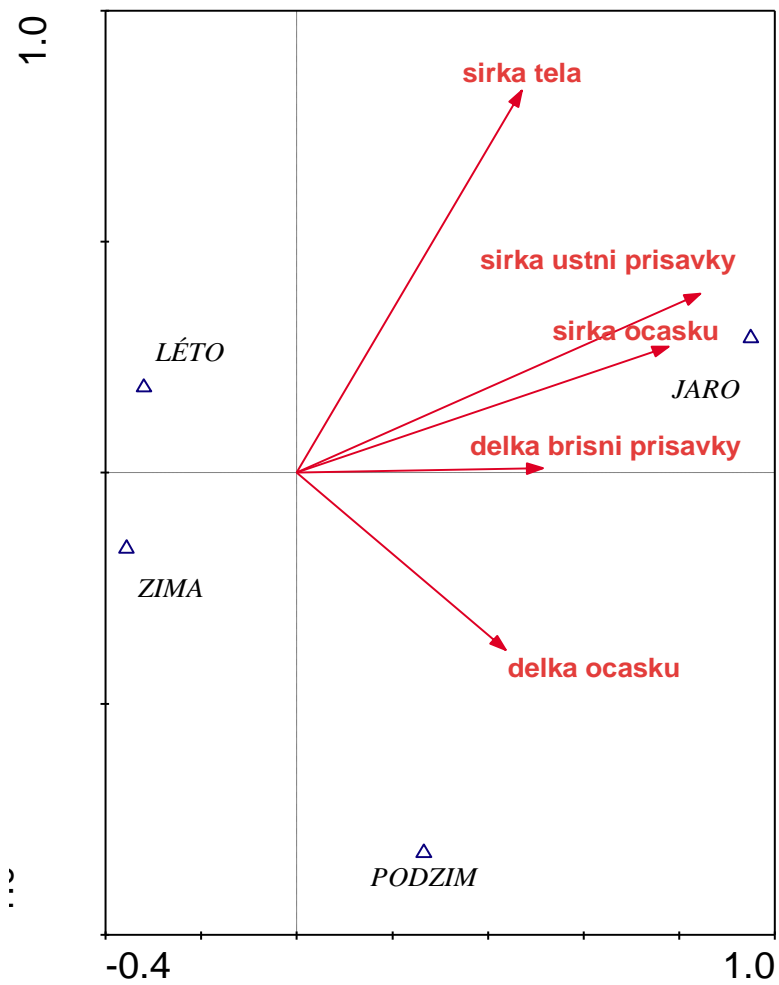
Obrázek 15. Celkové množství vyplavaných cercárií během jednotlivých ročních období.



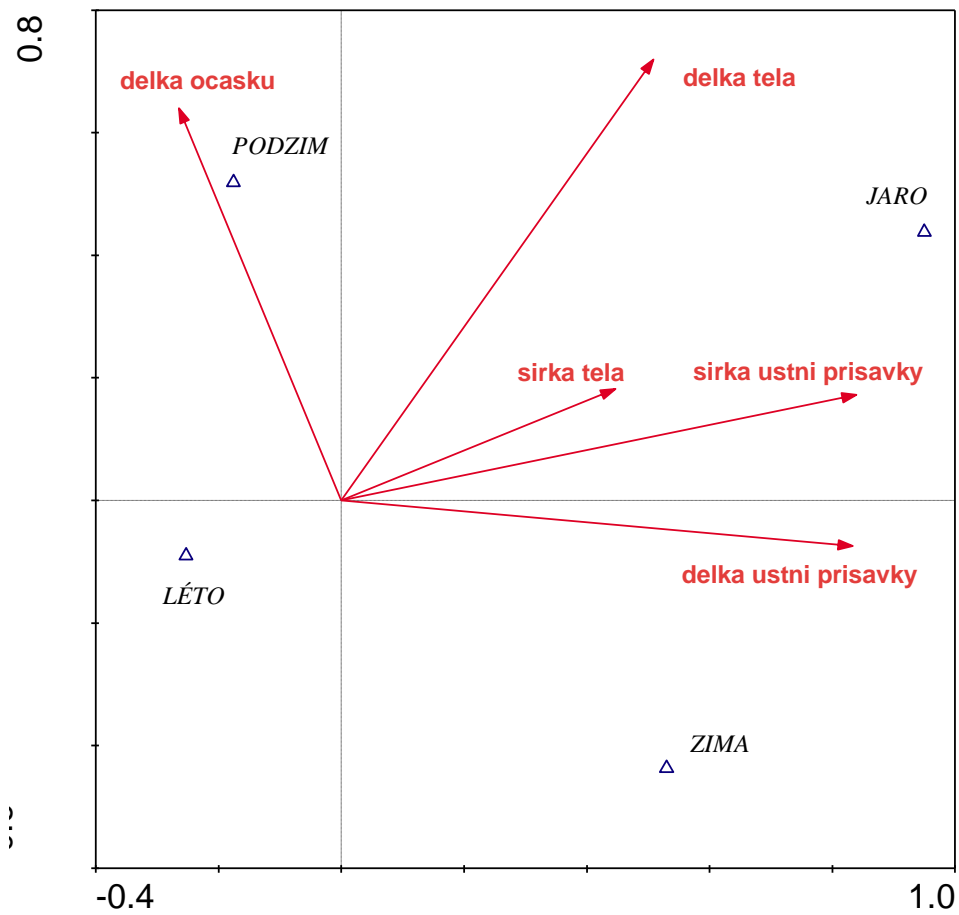
Obrázek 16. Množství vyplavaných cercárií jednotlivých druhů během roku (*Opisthio glyphe ranae* (O.R.), *Diplostomum pseudospathaceum* (D.P.) a *Plagiorchis elegans* (P.E.).



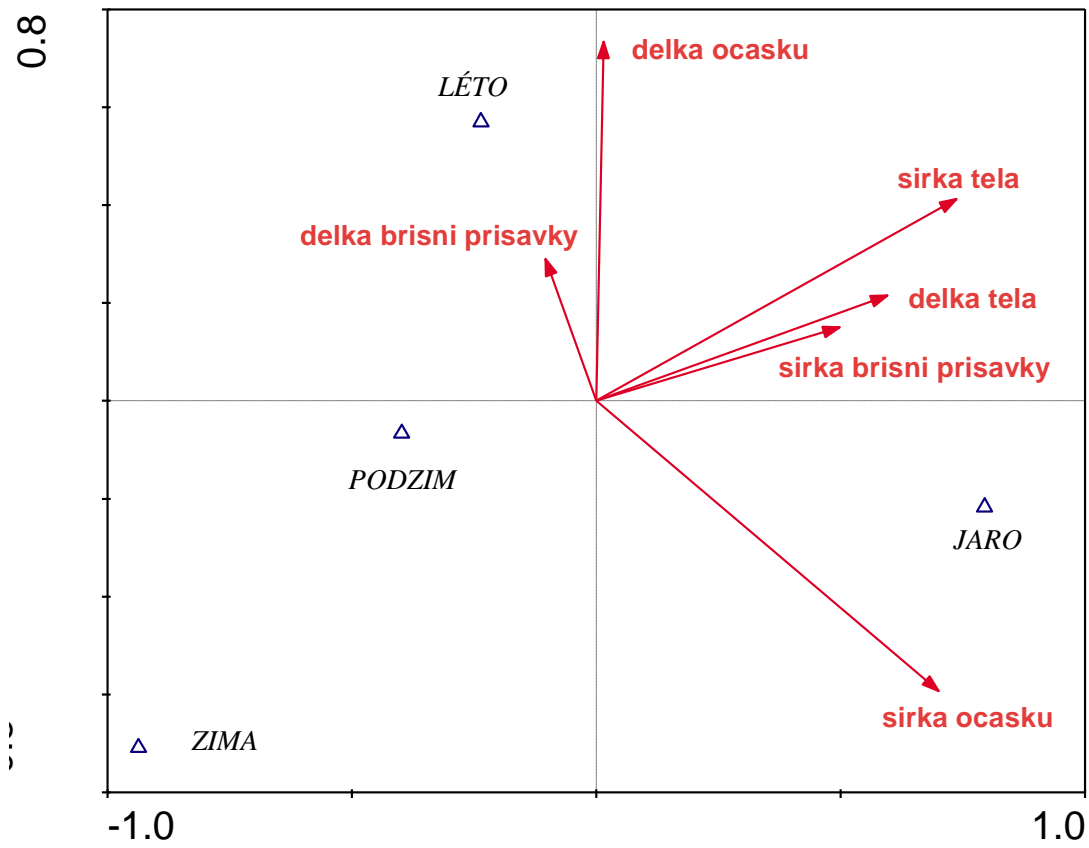
Obrázek 17. Průběh vyplouvání cercárií během dne, pro každý druh motolice samostatně (vysvětlivky k legendě viz obr. 16).



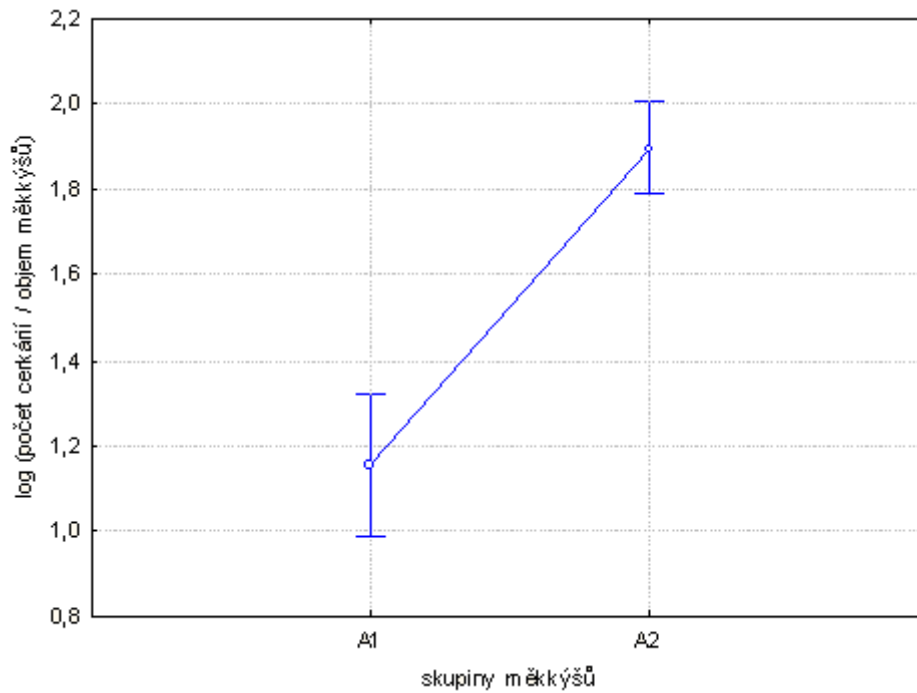
Obrázek 18. Rozměry cercárií *Opisthioglyphe ranae* v závislosti na ročním období. Zobrazeny jsou pouze vysvětlující proměnné vybrané na základě forward selekce.



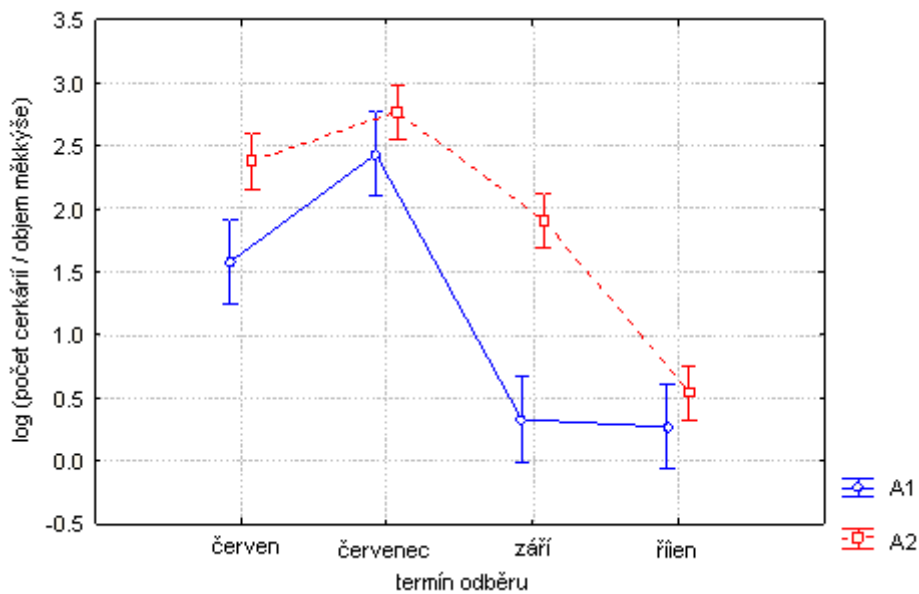
Obrázek 19. Rozměry cercárií *D. pseudospathaceum* v závislosti na ročním období. Zobrazeny jsou pouze vysvětlující proměnné vybrané na základě forward selekce.



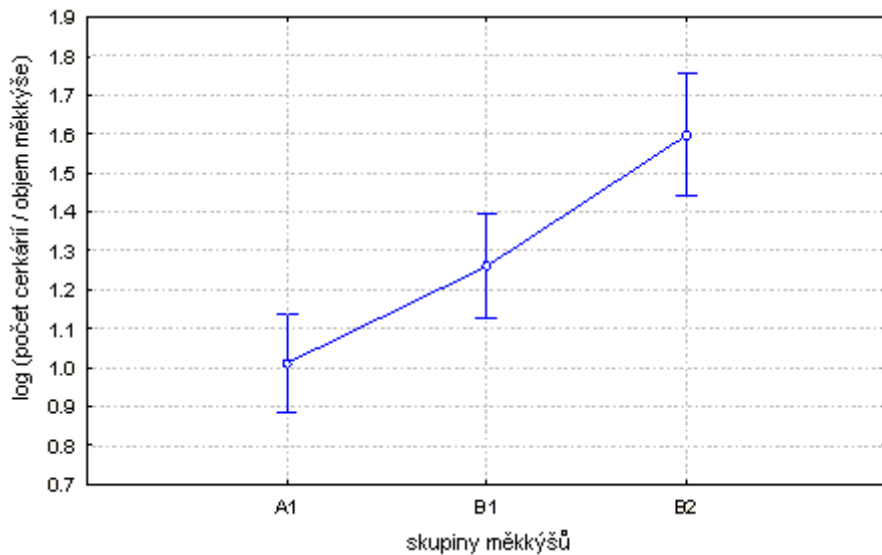
Obrázek 20. Rozměry cercárií *P. elegans* v závislosti na sezóně. Zobrazeny jsou pouze vysvětlující proměnné vybrané na základě forward selekce.



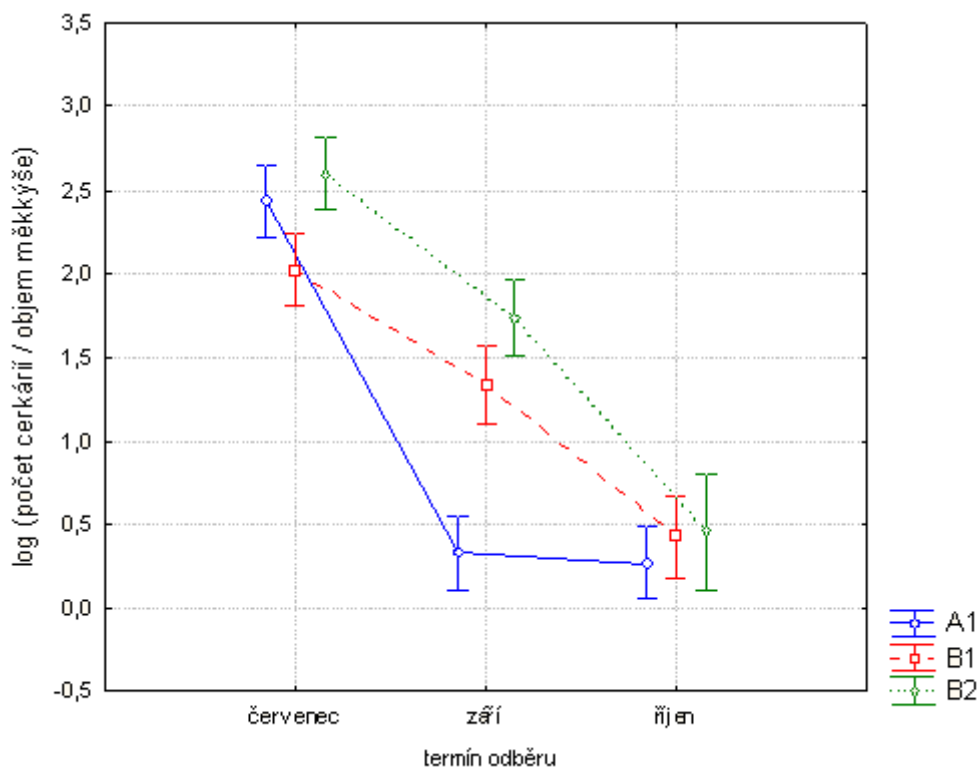
Obrázek 21. Množství cercárií (*D. pseudospathaceum*) vyplavaných ze stejných jedinců plovatek v přirozeném prostředí (A₁) a v laboratorních podmínkách (A₂).



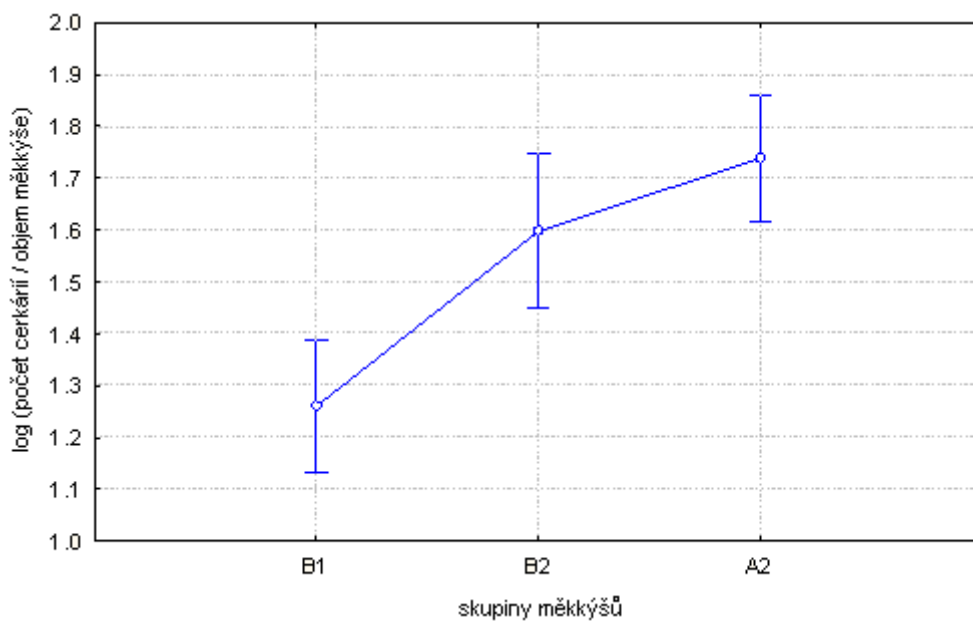
Obrázek 22. Množství cercárií (*D. pseudospathaceum*) vyplavaných ze stejných jedinců plovatek skupin A₁ (nejprve v přirozeném prostředí) a A₂ (převezených do laboratoře) v jednotlivých studovaných obdobích.



Obrázek 23. Množství vyplavaných cercárií (*D. pseudospathaceum*) z plovatek ponechaných v přirozeném prostředí (A₁) a plovatek ponechaných v laboratorních podmínkách (B₁ – pod světlem stolní lampy; B₂ – při přirozené světelné periodě).



Obrázek 24. Množství vyplavaných cercárií u skupin A₁ (v přirozeném prostředí), B₁ (v laboratoři, při světle stolní lampy) a B₂ (v laboratoři, při přirozené světelné periodě) v jednotlivých studovaných obdobích.



Obrázek 25. Množství cerkáří vyplavaných z plovatek ponechaných v laboratorních podmínkách. (B₁ – produkující v laboratorních podmínkách, pod světlem stolní lampy; B₂– produkující v laboratorních podmínkách, při přirozené světelné periodě; A₂ – měkkýši, kteří nejprve produkovali v terénních podmínkách, poté převezeni do laboratoře a produkující zde při přirozené světelné periodě).