

JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA

Motolice nadčeledi Hemiuroidea v rybách a ploutvenkách na Svalbardu

Bakalářská práce

Vendula Branišová

Vedoucí práce: doc. RNDr. Oleg Ditrich, CSc.

České Budějovice 2020

Branišová, V., 2020: Motolice nadčeledi Hemiuroidea v rybách a ploutvenkách na Svalbardu [Trematodes of the superfamily Hemiuroidea from fishes and chaetognaths in Svalbard Bc. Thesis, in Czech.] - 56pp., University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Annotation

This study was aimed to obtain information about hemiuroid parasites of fishes in Svalbard and to connect adult stages with intermediate hosts from chaetognaths and molluscs. Sequences of 28S rDNA gene were used for phylogenetic analyses. Adults and larval stages were used for morphological analysis.

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci jsem vypracoval 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 bakalářské práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich 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.

V Českých Budějovicích, 08.12.2020

Vendula Branišová

Tímto bych chtěla poděkovat svému školiteli doc. RNDr. Olegu Ditrichovi, CSc. za trpělivost, cenné rady či připomínky a možnost zažít věci, které ovlivní zbytek mého života. Velké díky patří RNDr. Evě Myškové, která mi pomohla překonat strasti laboratoře a dokázala mě uklidit při každém nezdaru, RNDr. Anně Faltýnkové, Ph.D. za důležité rady při zpracování morfologických dat a všem, kteří mi jakkoliv pomohli se získáním potřebných dat. Dále také děkuji týmu Centra polární ekologie a všem lidem, se kterými jsem mohla strávit krásné dny na Svalbardu při sběru vzorků. Svým kamarádům a spolubydlícím za velkou podporu a pomoc. Především bych ale chtěla poděkovat svým rodičům a prarodičům za vše, co pro mě kdy udělali.

Také bych chtěla poděkovat za podpory z grantů LM2015078 CzechPolar (MŠMT ČR) a CZ.02.1.01/0.0/0.0/16_013/0001708 ECOPOLARIS, díky kterým jsem mohla pracovat i na Špicberkách.

Obsah

1	Úvod.....	1
1.1	Svalbard	2
1.2	Hostitelé a mezihostitelé motolic nadčeledi Hemiuroidea na Svalbardu	3
1.2.1	Ploutvenky (Chaetognatha)	3
1.2.2	Plž <i>Euspira pallida</i>	4
1.2.3	Rybí hostitelé	5
1.3	Trematoda	6
1.3.1	Hemiuroidea Loss, 1899	7
1.3.1.1	Životní cyklus	8
1.3.1.2	Hemiuridae Looss, 1899.....	12
1.3.1.3	Derogenidae Nicoll, 1910.....	12
1.3.2	Fellodistomidae Nicoll, 1909	13
2	Cíle práce.....	15
3	Materiál a metody	16
3.1	Lokalita	16
3.2	Vyšetřovaný materiál.....	16
3.3	Metodika sběru	17
3.4	Morfologická analýza	18
3.4.1	Progressivní barvení Mayerovým hematoxylinem	18
3.4.2	Regresivní barvení Schruberovým karmínem	18
3.4.3	Zpracování dat z trvalých preparátů.....	18
3.5	Molekulární analýza	19
3.5.1	Polymerázová řetězová reakce	19
3.5.2	Gelová elektroforéza	20
3.5.3	Sekvenace.....	20
3.5.4	Fylogenetická analýza.....	20
4	Výsledky.....	21
4.1	Morfologická analýza	22
4.2	Molekulární analýza	32
5	Diskuse	38
6	Závěr	42
7	Literatura	43

1. Úvod

Paraziti jsou jednou z klíčových součástí všech ekosystémů, včetně těch arktických. Ovlivňují zdraví populací volně žijící fauny a lidí, kteří jsou na ní závislí (Hoberg et al. 2003). Přestože jsou často zobrazováni negativně, hrají roli při udržování stability prostředí prostřednictvím regulace hostitelských populací a poskytují jedinečný pohled na stav ekosystému (Hoberg 2010). Zdravé ekosystémy se obvykle vyznačují vysokou rozmanitostí parazitů, která odráží počet mezihostitelů a definitivních hostitelů. Detekce nových parazitů nebo velmi malého počtu druhů parazitů může naznačovat problémy v ekosystému (Hudson et al. 2006). Pro možnost využití parazitů jako indikátoru zdraví životního prostředí či pro sledování a předvídání změn v parazitismu a zdraví zvířat jsou nezbytné komplexní údaje o rozmanitosti, distribuci a životních cyklech parazitů (Hoberg et al. 2008). Přestože bylo dosaženo velkého pokroku ve znalostech parazitů vyskytujících se u arktických obratlovců (Rausch 1974) stále nacházíme značné mezery (León-Règagnon et al 2018).

Tato práce se zabývá studiem parazitických interakcí ryb a bezobratlých v mořích omývajících souostroví Svalbard (kapitola 1.1.). Svalbard je stejně jako zbytek planety zasažen globálním oteplováním. Od roku 1971 do roku 2017 bylo pozorováno oteplení o 3–5 °C (Hanssen-Bauer 2018). Atlantické vodní proudy silně ovlivňující fjordy západních Špicberk se za posledních 50 let oteplily o 1,5 °C (Jungblut 2018).

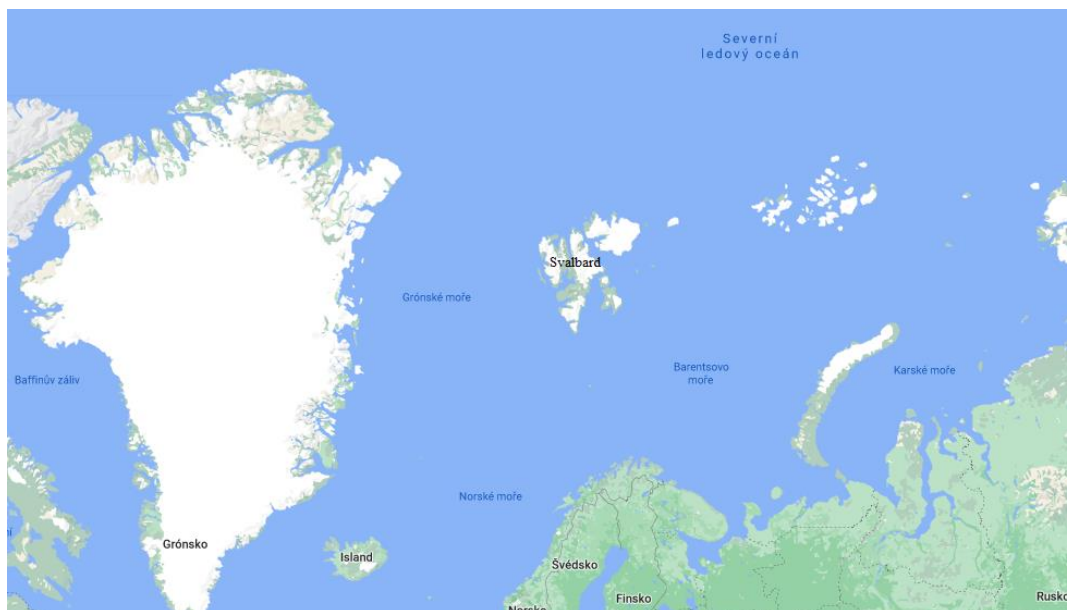
Oteplení moře se projevuje ve složení mořské fauny. Biogeografické hranice ve svalbardských vodách a Barentsově moři se během historie několikrát posunuly v důsledku kolísání teploty moře. V teplé periodě mezi lety 1873–1882 se v oblasti Svalbardu objevila treska obecná (*Gadus morhua*), která se v současné době, po více než stoleté přestávce, znovu vyskytuje v hlubších částech oblastí Isfjorden a Kongsfjorden. Během chladné periody na začátku 20. století se několik atlantských druhů rozšířilo severně od Medvědího ostrova (Sakshaug 2009). Dle Blackera (1957) od roku 1920 do roku 1950 druhy asociované s Atlantskými podmínkami rozšířily svůj areál o 3° severně a v současné době tak zasahují až do 78° severní šířky. Tato uvolnění by mohla usnadnit transport a následné usazování druhů dříve neznámých na severu (Hoberg et al. 2008). U mnoha hostitelů, taxonů parazitů a geografických oblastí doposud nebyly získány základní znalosti o parazitech a jejich hostitelích, což jasně brání schopnosti vyhodnotit potenciální dopady změny klimatu na systém hostitel-parazit (Hoberg et al. 2008). Znamená to tedy, že živočichové migrují, aniž bychom adekvátně identifikovali rozmanitost jejich parazitů či jiných patogenů v translokované populaci i populaci příjemců (Kutz et al. 2009).

1.1. Svalbard

Souostroví Svalbard (Obr. 1) se nachází mezi 74° a 81° severní šířky a 10° a 35° východní délky. Rozloha tohoto souostroví činí 61 022 km² což zhruba odpovídá velikosti Skotska. Největší ostrov (Spitsbergen) má rozlohu 37 673 km² z čehož přibližně 22 000 km² je pokryto ledovci (Stange 2018).

Svalbard tvoří severozápadní výběžek euroasijské kontinentální desky, která je ponořena do relativně mělkého Barentsova moře ležícího mezi souostrovím a severním Norskem s průměrnou hloubkou pouhých 200–300 m a maximální hloubkou 550 m. Severně od souostroví vede kontinentální svah do hlubin Severního ledového oceánu. Na západě je hluboké grónské moře, nejsevernější část Atlantiku. Severní ledový oceán a atlantský oceán se setkávají mezi Svalbardem a Grónskem v průlivu Fram, spojením mezi téměř uzavřeným severním ledovým oceánem a ostatními oceány světa (Umbreit 2005).

Oblast kolem Svalbardu je nejsevernější vodou světa s fungujícím rybolovem. Podléhá přísnému systému regulací (Misund et al 2016). Ke komerčnímu rybolovu je využívána oblast v areálu od 74° severní šířky, jižně dosahující k Medvědímu ostrovu, kolem celého Svalbardu až přibližně po 81° 30' severní šířky. To je mnohem dále na sever než v jiných cirkumpolárních vodách. Například v oblastech Grónska, Kanady, Aljašky a východního Ruska končí rybolov na 65° severní šířky. V ruské části Barentsova moře rybolov končí překročením 78° severní šířky (Jakobsen a Ozhigin 2011).



Obr. 1: Mapa souostroví Svalbard. Zdroj: [maps.google.com./Svalbard](https://maps.google.com/Svalbard)

Celková znalost druhů mořské bioty Svalbardu se prohlubuje od konce devadesátých let dvacátého století. V roce 1980 byl sestaven první seznam druhů jako součást studie Norského Polárního Institutu za účelem posouzení účinků ropné aktivity na Svalbardu v 80. letech. V roce 1994 byla zmapována biota pobřežních oblastí a vznikla databáze jednotlivých druhů, která je pravidelně aktualizována. Ve studii Palreud et al. (2004) bylo zaznamenáno celkem 1708 mořských druhů (větších než 1 mm) z 18 živočišných kmenů. Korýši, kteří zde vykazovali největší druhovou rozmanitost čítající 467 druhů, byli následováni měkkýši s 252 druhy a kroužkovci s 254 druhy.

Rybí fauna Barentsova moře obklopujícího pobřeží Svalbardu čítá okolo 150 druhů ryb patřících do 52 čeledí. Čeleď treskovitých (Gadidae) ryb je zde nejpočetnější a zahrnuje 19 druhů. Nejdůležitějšími čistě arktickými druhy jsou huňáček severní (*Mallotus villosus*) a treska polární (*Boreogadus saida*), jelikož právě ti se zde vyskytují po celý svůj život. Další druhy jako je platýs atlantský (*Hippoglossoides platessoides*) nebo terčovka velká (*Liparis liparis*) jsou řazeny spíše jako arkticko-boreální (Sakshaug et al. 2009).

1.2. Hostitelé a mezihostitelé motolic nadčeledi Hemiuroidea na Svalbardu

Hostitel je v parazitickém vztahu zpravidla ten větší z dvojice živočichů. Rozlišujeme hostitele definitivního, ve kterém parazit dospěje do sexuální zralosti a pohlavně se v něm rozmnožuje, nebo mezihostitele, pokud slouží jako dočasné, ale zásadní prostředí pro dokončení životního cyklu parazita. V mezihostiteli se paraziti množí nepohlavně nebo se v něm nemnoží. Například, měkkýši běžně slouží jako první či druhý mezihostitel ve kterém motolice dokončuje část jejího vývoje (Cheng 1986).

1.2.1. Ploutvenky (Chaetognatha)

Ploutvenky tvoří samostatný kmen mořských živočichů. Je to skupina mořských pelagických dravců, o jejichž fylogenetických vztazích se intenzivně diskutuje. Dle nejnovějších studií (Marlétaz 2019) ploutvenky tvoří spolu s vířníky (Rotifera), čelistovkami (Gnathostomulida) a oknozubkami (Micrognathozoa) nejbazálnější linii Lophotrochozoí Gnathifera. Tělo ploutvenek dosahuje velikosti až 12 cm a skládá se z hlavy, trupu a ocasní části. Jméno získaly díky horizontálním ploutvičkám, jednomu až dvěma pářům po stranách těla a nepárové koncové („ocasní“) (Smrž 2013).

Dle studie norských autorů tvoří ploutvenky spolu s pelagickými rybami, různonožcem *Themisto libelula*, mysidem *Boreomysis arctica*, zadožabrym plžem *Clione limnaca*, žebernatkou *Mertensia ovum*, a některými druhy mořských ptáků jako je alkoun malý (*Alle alle*) skupinu hlavních konzumentů druhého řádu v zálivu Kongsfjorden nedaleko zkoumané oblasti Isfjorden (Hop et al. 2002). To, že klanonožci, mezihostitelé motolic, patří mezi hlavní složky jejich potravy vysvětluje nálezy metacerkárií v tělech ploutvenek (Bray a Gibson 1986).

První zmínka o ploutvenkách (Obr. 2) jako mezihostitelích motolic na Svalbardu je z počátku tohoto století (Rolbiecki a Walkusz 2005), kdy byl zkoumán druh *Derogenes varicus* patřící do nadčeledi Hemiuroidea. Ploutvenka byla odchycena v oblasti Kongsfjorden.



Obr. 2: Motolice nadčeledi Hemiuroidea v mezihostiteli ploutvence *Sagitta* sp.

Foto: Ditrich, O., Tymł, T.

1.2.2. Plž *Euspira pallida*

Plž čeledi Naticidae, *Euspira pallida* se vyskytuje v Dogerské lavici Severního moře, při pobřeží Nizozemska a jižní Británie, západního Norska, na souostrovích Orkneje, Shetlandy, pobřeží Severního ledového oceánu, v severním Atlantiku, na Svalbardu, Islandu a v Grónsku (Ankel 1936). Obývá sedimentem pokrytá dna v hloubce od 10 do 2000 m, čímž jižněji, tím hlouběji. Tento dravý plž je schopný navrtat díru do ulity jiného plže nebo lastury mlže a vysát její obsah (Gulliksen a Svensen 2004).

Euspira pallida byla jako možný mezihostitel hemiuroidních motolic stanovena Køie, která experimentálně infikovala klanonožce cercáriemi získanými právě z plže *E. pallida*. Cercárie byla přirovnána k cercárii druhu *Hemiurus levinseni*, který se vyznačuje arkticko-boreální distribucí, avšak úplná shoda nebyla prokázána (Køie 1990a). Později se ukázalo, že jde o blíže neidentifikovaného zástupce čeledi Derogenidae (Køie 1995).

1.2.3. Rybí hostitelé

Vranka mořská (*Myoxocephalus scorpius*)

Nadčeleď Cottoidea se hojně vyskytuje napříč celou Arktidou (Johannesen et al. 2012). Její zástupce vranka mořská má širokou distribuci od mírných vod až do vysoké Arktidy (Robins a Ray 1986) a často je nejhojněji loveným druhem ryby v mělkých arktických vodách (Brand a Fischer 2016). Její úspěch v Arktidě je připisován širokému potravnímu spektru, kterým se vranka mořská živí, zahrnujícímu ryby a větší bezobratlé (Cui et al. 2012).

Ryba se silným, kuželovitým tělem a velkou, širokou hlavou, vyznačující se hladkou kůží bez šupin (Čihař 1996) byla zkoumána jako hostitel další skupiny motolic na Svalbardu, a to především rodu *Podocotyle* (Novotný 2019).

Platýs atlantský (*Hippoglossoides platessoides*)

Platýs atlantský byl vždy nejhojnějším platýsem nacházejícím se v mírné hloubce v Barentsově moři a jeho hojnost ještě vzrostla v období mezi lety 1988-1993, a to zejména ve vnější části souostroví Svalbard. Hlavní koncentrace byly zaznamenány podél jihovýchodního svahu mělčiny sahající od Medvědího ostrova po Høpen, v jižním mysu mezi Špicberky a Medvědí ostrovem a jižně k svahům Murmanské mělčiny (Walsh 1996).

Platýs disponuje dlouhým oválným tělem s očima na pravé straně (Čihař 1996). Jinému druhu motolic (*Aporocotyle simplex*) ze svalbardských platýsů se již věnovala studentka ve své diplomové práci (Hájková 2019).

Treska obecná (*Gadus morhua*)

První záznamy o úlovcích tresky obecné ze svalbardských vod pocházejí z roku 1874 (Iversen 1934). Treska obecná je jedna z nejdůležitějších ryb norských vod. V období mezi lety 1980–2013 bylo norskými plavidly uloveno 757 731 tun tresky za 9 514 180 norských korun (Misund et al. 2016).

Populace tresek obecných se na Svalbardu postupem času značně zvětšují. Největší populace byly zaznamenány v polovině 80. let, v polovině 90.let a pak každým rokem přibližně od roku 2000. Od roku 2000 tresku obecnou následovaly do oblasti i další gadoidní ryby, například treska jednoskvrnná (*Melanogrammus aeglefinus*) (Misund et al. 2016).

Treska polární (*Boreogadus saida*)

Treska polární je malá ryba s obvyklou délkou do 300 mm (Scott a Scott 1988) se záznamy o extrémní velikosti až 460 mm (Pethon 1994). Zdá se, že tresky svalbardských vod rostou pomaleji než tresky z centrální či východní části Barentsova moře (Gulliksen a Svensen 2004). Treska obecná je relativně krátkověká, s maximálním věkem sedm let (Hop et al. 1997) a s časným dospíváním, kdy samci dospívají ve věku dvou let a samice ve věku tří let (Craig et al. 1982).

Spolu s huňáčkem severním (*Mallotus villosus*) je hojnou pelagickou rybou. Oba druhy jsou považovány za klíčové druhy ekosystému Svalbardu (Orlova et al. 2009) a samotná treska je poté považována za klíčovou rybu potravních sítí nejen na Svalbardu ale i všech arktických moří (Gulliksen a Svensen 2004).

1.3. Trematoda

Třída motolice (Trematoda) zahrnuje podtřídy Aspidogastrea a Digenea (Kohn 2007) a spolu s třídami Monogenea a Cestoda se řadí do podkmene Neodermata. Mezi nejtypičtější znaky patří změna tělního povrchu při přeměně první larvy na parazitické stádium. Dochází k odhození části pokryvu s ciliárními buňkami sloužícími k pohybu. Při přeměně ontogenetických stádií tedy dochází ke vzniku aciliárního syncytia tvořeného bezjadernou vrstvou, z níž do těla parazita vybíhají tenké cytoplazmatické spoje, které jsou lemovány mikrotubuly (Volf a Horák 2007).

Tvar motolic se tradičně popisuje jako silný, oválný list. Ačkoli se motolice typicky vyznačují dvěma přísavkami. Některé druhy motolic mají pouze jednu přísavku, dokonce někdy můžeme pozorovat ztrátu obou přísavek. V typickém případě dvou přísavek (distomata) jedna obklopuje ústa, tu nazýváme ústní či anteriorní přísavka. Druhá přísavka nese název acetabulum neboli břišní či ventrální přísavka (Noble 1971).

Všechny motolice mají složitý vývojový cyklus vyžadující jednoho či více mezihostitelů. Dospělcem nakladená vajíčka opouštějí tělo hostitele a vyvíjejí se v larvu. Tato larva zvaná miracidium se může líhnout a odplavat, nebo vyčkává na požití dalším hostitelem.

V obou případech vývoj nemůže pokračovat, dokud není k dispozici správný první mezihostitel, kterým je (kromě výjimky) měkkýš. Každý druh motolic vyžaduje pro svůj vývoj specifické druhy měkkýšů. Chybí-li tyto mezihostitelé, miracidia hynou. V těle měkkýšů dochází k nepohlavnímu množení, jehož výsledkem je velký počet cercárií. U některých druhů může cercárie pronikat přímo kůží obratlovčího hostitele, u jiných vstupuje do druhého mezihostitele jako je například hmyz či ryba. V ostatních případech mohou přisednout k vegetaci, encystovat a vyčkat na pozření finálním hostitelem, kde svůj vývoj dokončují. Formy vyvíjející se v druhém mezihostiteli nebo encystované na vegetaci jsou známé jako metacercárie. Životní cykly motolic jsou složité a rozmanité, ilustrují tak mimořádnou škálu evolučních adaptací (Markell et al. 1999).

1.3.1. Hemiuroidea Loss, 1899

Hemiuroidea se 14 čeleděmi je považována za nejsložitější nadčeď s velkým bohatstvím druhů (Gibson a Bray 1979). Názory na její fylogenezi jsou předmětem neustálých změn. Původní systém Hemiuroidea založený na taxonomickém modelu podle morfologických znaků navržený Gibsonem a Brayem (1979) prošel úpravou při první fylogenetické analýze (Blair et al. 1998). V průběhu několika let byly navrženy četné změny týkající se popisu nových rodů a podčeledí (Bray a Nahhas 2002; Pankov et al. 2006; Bursey et al. 2008; Bilqees et al. 2009; Justo a Kohn 2012; Urabe a Shimazu 2013) což vedlo ke změně v taxonomické pozici dříve popsáných podskupin (Sokolov et al. 2018). Jednotlivé zástupce je velmi těžké morfologicky determinovat, řada druhů si je mezi sebou podobná. Nepomáhá tomu ani skutečnost, že mnohé z nich jsou schopny množit se již ve stádiu metacercárie, což dále komplikuje jejich morfologickou determinaci. S rozvojem fylogenetických analýz došlo ke zpochybnění významu některých znaků sloužících k determinaci. Za hlavní diagnostický znak čeledi Hemiuridae byla považována přítomnost či absence exsomy (Gibson a Bray 1979). Molekulární analýza však odhalila, že Aphanurinae, podčeď bez exsomy klastruje do skupiny s podčeleděmi vyznačujícími se přítomností exsomy (Dinurinae, Elytrophallinae) (Atopkin et al. 2017).

Povrch těla je hladký či s prstencovými podvlékáním, v některých případech je možné pozorovat šupinatý vzhled. Malé, protáhlé tělo hemiuroidních motolic končí exsomou, vytahovatelnou částí těla, která může být v některých případech zakrnělá či zcela redukovaná (Gibson a Bray 1979). Tegument exsomy se jeví dobře přizpůsobený pro přenos živin mezi parazitem a hostitelem. Neobsahuje žádné mitochondrie a vykazuje aktivitu kyselé fosfatázy (Matthews a Matthews 1988).

Trávicí systém hemiuroidů se skládá z dobře vyvinutého faryngu bez prefaryngu, krátkého jícnu a dvouvětvného střeva končícího slepě, obvykle v exsomě (Bray a Gibson 1986). Dále se také popisuje struktura, podobná mikrokly lemovanému vaku (preceakální vak), nacházející se mezi jícnem a slepým střechem (Manter 1970).

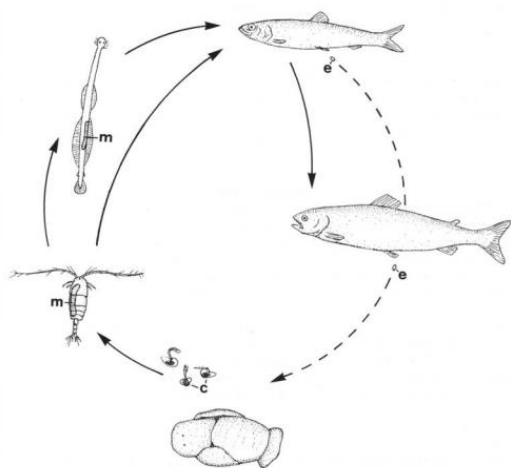
Hemiuroidea patří k hermafroditickým motolicím, samčí i samičí pohlavní orgány se tedy nachází v jednom jedinci. Párová varlata jsou uložena vedle sebe v zadní části těla za břišní přísavkou, před vaječníky. Semenný váček je trubkovitý, svalnatý nebo tenkostěnný. Prostatická část (pars prostatica) má různou délku, nejčastěji je trubkovitá a pomocí aglandulárního vývodu může být spojena se semenným váčkem (Bray a Gibson 1986). Sinusový vak je obvykle svalnatá membrána či stěna obklopující společné vyústění vytvořené spojením samčích a samičích vývodů (Manter 1970). Genitální pór vyúsťuje na úrovni ústní přísavky či faryngu. Samičí rozmnožovací soustava začíná oválným vaječníkem uloženým za acetabulem, ten produkuje vaječné buňky putující do ootypu. Zde ústí i Mehliho (též skořápečná) žláza a vitelária. Vitelinní tělesa se mohou vyskytovat ve dvou základních formách mezi které patří sedmivětvná a dvouvětvná forma. Děloha je stočená, a to převážně v oblasti vaječníku pod acetabulem. Vajíčka jsou malá (Bray a Gibson 1986).

Vylučovací soustava je komplexní. Vylučovací měchýř se vytváří již v devíti denní cercarii a jeho struktura se příliš nemění. Má tvar písmene Y a skládá se z rozšířeného zadního vaku s úzkou střední trubicí, která se táhne k ventrální přísavce a rozděluje se tak, že tvoří dvě ramena končící po stranách hltanu. Komisura, jemný příčný tubulus spojující rozšířené konce ramen, představuje přední charakteristiku mnoha dospělých hemiuroidů avšak u některých druhů tento tubulus mizí a nelze jej u dospělého detekovat. Některé rody postrádající komisuru (*Lecithaster* a *Hysterolecithoides*), tvoří aberantní skupinu čeledí. U dospělců vede úzká trubice od měchýře k póru, který je umístěn na zadní špičce těla. Rozšířená část měchýře dosahuje téměř k přednímu okraji laloků vitelárií. Z této úrovně pokračuje měchýř jako trubice k zadnímu okraji acetabula, kde se dělí na dvě ramena, z nichž se každé rozprostírá vpřed, laterálně k ventrální přísavce a končí na úrovni hltanu. Na každé straně těla jsou krátké sekundární tubuly, kdy každý z nich je zakončený charakteristickým zvětšením, které je spojeno menšími tubuly ze skupiny plaménkových buněk (Hunninen a Cable 1943).

1.3.1.1. Životní cyklus

Životní cyklus motolic nadčeledi Hemiuroidea je jako cyklus všech motolic velice složitý a je studován pomocí pozorování v přírodě i laboratorními pokusy. Znalost životních cyklů se prudce zvýšila ke konci 90 let 20. století. Cyklus zahrnuje několik mezipřehoditelů.

Co se týče cyklů sladkovodních zástupců, lze zmínit například vážky či klanonožce jakožto mezihostitele žabích hemiuridů. Cerkárie pozřené klanonožci *Cyclops vulgaris* a *Mesocyclops obsoletus* se vyvinuly v metakerkárie v tělesné dutině těchto mezihostitelů, kteří byli následně pozřeni pulci. Jedinci zůstali v žaludku až do metamorfózy pulce, poté migrovali do ústní dutiny a Eustachovy trubice, kde se vyskytují i u dospělých žab (Thomas 1939). Køie ve své studii popsala cyklus mořského druhu *Hemiurus luehei* (Obr. 3). Jako první mezihostitel slouží měkkýš *Philine denticulata*, vývoj cercárie v metacerkárii probíhá v klanonožci, který může být pozřen ploutvenkou *Sagitta* sp., která poslouží jako paratenický (transportní) mezihostitel či finálním hostitelem planktonofágní (sleďovití) popřípadě piscivorní (treskovité, lososovité) rybou (Køie 1990b).

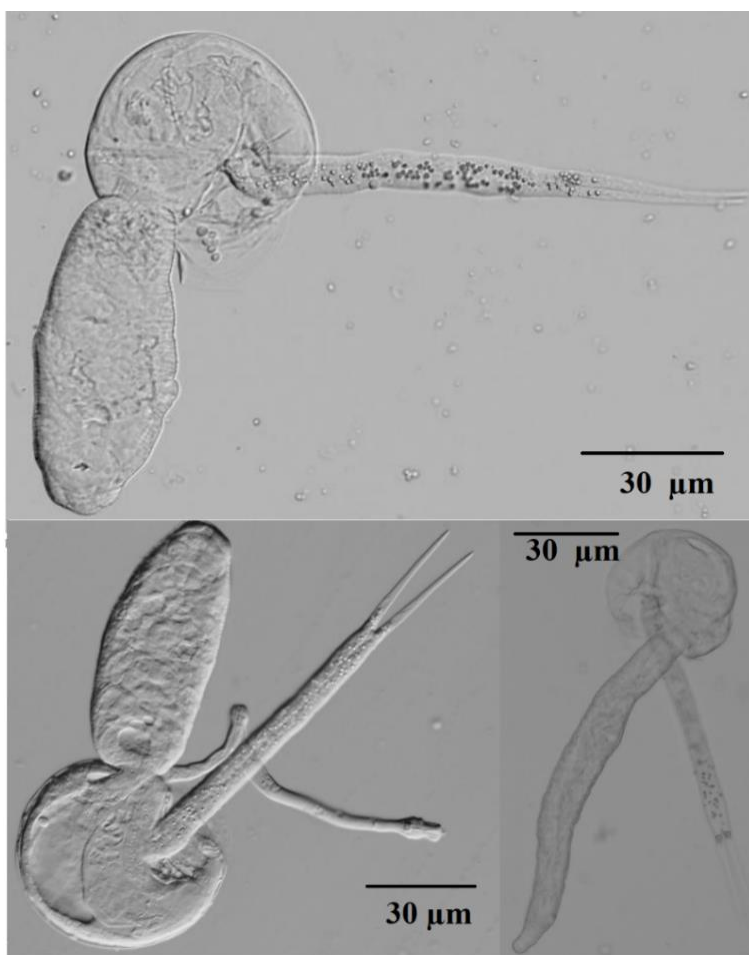


Obr. 3: Životní cyklus *Hemiurus luehei*. *Philine denticulata* (c) sloužící jako první mezihostitel, vznášivka (m) jako druhý mezihostitel. Paratenický mezihostitel *Sagitta* sp. (m). Planktonožravá nebo piscivorní ryba (e) jako finální hostitel. (Køie 1990b).

Miracidium opustí vaječný obal a vyhledává prvního mezihostitele (měkkýše). Proniknutím do mezihostitele dojde ke zahájení nepohlavní fáze rozmnožování. Z miracidia se vyvíjejí sporocysty, které dají vzniknout rédiím (Ryšavý 1989).

Mateřská rédie produkuje dceřiné rédie, ve kterých nepohlavně vznikají cercárie. Rédie jsou válcovité, asi 5 mm široké a až 50 mm dlouhé. Stěna těla se skládá ze tří vrstev. Vnější, syncytiální tegument spočívá na vrstvě z jemných kruhových a podélných svalových vláken a pod svaly se nachází vrstva parenchymatických buněk. Nově vzniklé rédie jsou aktivní, avšak s postupným růstem a zaplněním tisíci vyvíjejícími se cercáriemi dochází k omezení pohyblivosti. Vyspělá rédie pomalu mění tvar a ustává schopnost pohybu (Stunkard 1980).

Cerkárie (Obr. 4) jsou sférické až oválné, postupně rostou a stávají se vejčité. Užší konec se prodlužuje a dvě zúžení vytvářejí trojdílný tvar. Větší část se stává tělem cercárie, střední část se stává cystou a distální část se mění v ocas cercárie. Tělo se na rozdíl od mediální a distální části příliš nezvětšuje. V této fázi se cercárie uvnitř rédie stávají pohyblivými. Buňky v těle se začnou zbarvovat. Postupem vývoje se buňky mediální části zvětšují, přestanou se obarvovat a zhroutí se, čímž se vytvoří dutina cysty. Během formování dutiny v cystě je pramen tkáně spojující kaudální hrot těla a ocas použit k vtáhnutí těla do cysty, která se nad ním následně uzavírá. V cystě je tělo ohnuté v obráceném tvaru písmene U s ventrální stranou uvnitř (Stunkard 1980). Hledání hostitelů cercáriemi není náhodný proces a je stimulováno světlem, gravitací, turbulencí a vzácně chemickými látkami uvolněnými druhým mezihostitelem (Combes et al. 1994).



Obr. 4: Cercárie druhu *Derogenes varicus* izolovaná z plže *Euspira pallida*.

Foto: Ditrich, O., Tymel, T.

Po pozření cercárií klanonožci, začíná v žaludku klanonožce excystace. Ve střevě dochází k proražení stěny a proniknutí cercárie do hemocoelu. V tělní dutině klanonožců se rychle vyvíjí metacerkárie (Obr. 5, 6). Zralé metacerkárie pozřené definitivním hostitelem proniknou ven ze střeva, dostanou se k játrům nebo k jedné z velkých žil ve stěně střeva, začnou sát krev, dospějí a stanou se gravidními. Ukazuje se, že požití krve koreluje s vývojem pohlavní dospělosti (Stunkard 1980).



Obr. 5: Progenetická metacerkárie izolovaná z těla ploutvenky *Sagitta* sp.

Foto: Ditrich, O., Tyml, T.



Obr. 6: Histologický preparát motolice druhu *Derogenes varicus* v hostiteli *Sagitta* sp.

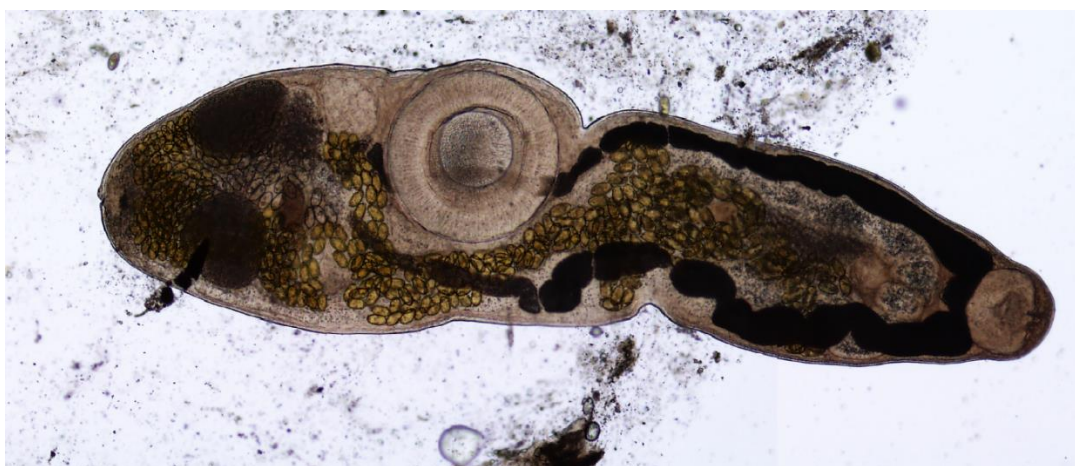
Barveno hematoxylinem. Foto: Ditrich, O., Tyml, T.

1.3.1.2. Hemiuridae Looss, 1899

Čeď Hemiuridae zahrnuje 115 rodů patřících do 12 podčeledí (Gibson 2002a, Sokolov et al. 2018). Parazitují v útrokách, zejména v žaludku mořských kostnatých ryb. Evidovány jsou také nálezy ze střev sladkovodních ryb a plic mořských hadů (Gibson a Bray 1986) či dutin žab (Wetzel 1997). Obecně se má za to, že hemiuridní motolice způsobují malé nebo žádné patologie gastrointestinálního traktu ryb (Kabata 1985). Přestože i při velkém počtu jedinců v hostiteli (stovky) nedochází k pozorování signifikantních změn tkání, Køie (1985) při pitvě tresky obecné (*Gadus morhua*) zaznamenala zarudnutí pylorických přívěsku díky krvácení způsobenému *Lepidapedon elongatum*. U pamurénovité ryby byla pozorována léze žaludku způsobená hemiuridním druhem *Stomachicola muraenesocis* (Naisira et al. 1998).

1.3.1.3. Derogenidae Nicoll, 1910

Derogenidae se řadí do nadčeledi Hemiuroidea, Zahrnuje 20 rodů patřících do 2 podčeledí (Gibson 2002b, Sokolov et al. 2018). Parazitují ve střevě a žaludku sladkovodních a mořských kostnatých ryb, ale záznamy pochází také z obojživelníků, plazů a sladkovodních krevet (Gibson 1996). Nejznámější zástupce této čeledi *Derogenes varicus* (Obr.7) je pravděpodobně nejrozšířenější digenetickou motolicí na světě (Manter 1966).



Obr. 7: *Derogenes varicus* izolovaný z huňáčka severního *Mallotus villosus*.

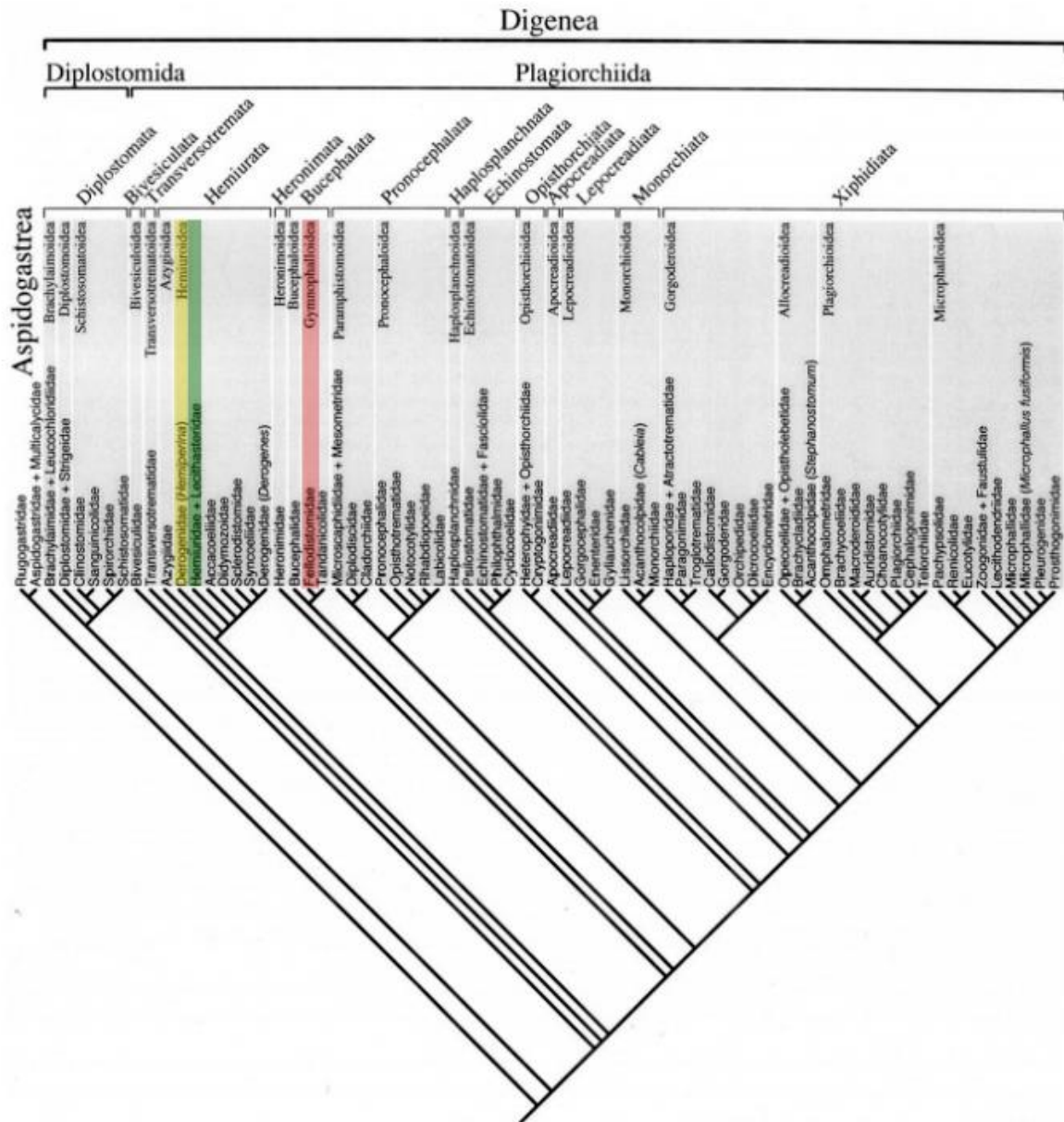
Foto: Ditrich, O., Tyml, T.

1.3.2. Fellodistomidae Nicoll, 1909

V průběhu získávání dat k vytvoření fylogenetických analýz nadčeledi Hemiuroidae byly nalezeny sekvence patřící druhu *Steringophorus furciger* (Fellodistomidae). Z tohoto důvodu jim byla věnována část úvodu.

Čeď Fellodistomidae patří do nadčeledi Gymnophalloidea. Zahrnuje 3 podčeledi: Fellodistominae (28 druhů), Piriforminae (1 druh) a Tergestinae (5 druhů) (Madhavi a Bray 2018). *Steringophorus furciger* (Olsson, 1868) je rozšířeným parazitem platýsů v severním Atlantiku a Tichém oceánu (Bray a Campbell 1995). Mezihostitelem tohoto druhu jsou mlži *Nuculana pernula* (Køie 1979, Krupenko et al. 2020) a plži *Buccinum undatum* (Køie 1969).

Oválné až protáhlé tělo fellodistomidních motolic je kryto hladkým tegumentem. Menší ústní přísavka je následována velkým faryngem. Břišní přísavka se nachází v centrální či přední části těla. Střeva obvykle dvě (příležitostně jedny), slepé, úzké až široké, dosahující k varlatům nebo za ně. Symetrická varlata mohou být laločnatá, uložena jsou za vaječným vakuem v zadní části těla. Svalnatý cirrový vak obklopuje dobře vyvinutý semenný váček, prostatickou část (pars prostatica) a ejakulační kanál. Genitální pór je obvykle sinistrální, vyúsťuje ve střední nebo zadní části předního těla. Protážená děloha zabírá většinu prostoru v zadní části těla. Vitelinní folikuly se skládají ze 2, někdy i 4, shluků po bocích těla. Exkrece má tvar písmene Y či V. U některých druhů měchýř dosahuje až k faryngu. Exkreční pór je terminální (Madhavi a Bray 2018).



Obr. 8: Fylogenetický strom Digenea znázorňující fylogenetickou příbuznost čeledí motolic Hemiuridae (zeleně), Deroxenidae (žlutě) a Fellodistomidae (červeně).

Zdroj: Olson et al. 2003, upraveno.

2. Cíle práce

Tato práce měla čtyři dílčí cíle:

1. Zpracovat literární rešerši o tématu
2. Morfologicky charakterizovat reprezentativní vzorek hemiuroidních motolic z ryb a ploutvenek ze svalbardských lokalit
3. Morfologicky charakterizovat reprezentativní vzorek larválních stádií hemiuroidních motolic z plžů *Euspira palida*
4. Z části materiálu provést fylogenetickou analýzu a pokusit se přispět k poznání životních cyklů těchto motolic.

3. Materiál a metody

3.1. Lokalita

Sběr vzorků probíhal v oblasti Severního ledového oceánu v zátocě Isfjord (Obr. 9). Dvě ze tří oblastí se nacházely ve fjordu Adventfjorden u města Longyearbyen, přesněji potom na místech s názvy Adventcity a Hotelnesset. Třetí oblast se nacházela v zátocě Petunia v blízkosti osady Pyramiden. Dále byly použity vzorky poskytnuté Centrem polární ekologie. Ty byly sbírány v letech 2010, 2012, 2014 v oblasti Brucebyen ležící v zátocě Petunia.



Obr. 9: Mapa Svalbardu s vyznačenými oblastmi odběru vzorků.

Zdroj: <https://toposvalbard.npolar.no/>

3.2. Vyšetřovaný materiál

Vzorky byly sbírány během letních měsíců v letech 2018, 2019. V průběhu dvou sezón bylo vypitváno celkem 330 ryb (Tab. 1). Déle byly použity vzorky získané Centrem polární ekologie během předešlých sezón, a to především z let 2010, 2012 a 2014 (Tab. 2).

Tab. 1: Přehled pitvaných ryb v letech 2018 a 2019.

Druh	Počet
<i>Boreogadus saida</i> (Lepechin, 1774)	52
<i>Clupea harengus</i> (Linnaeus, 1758)	15
<i>Gadus morhua</i> (Linnaeus, 1758)	29
<i>Gymnocanthus tricuspis</i> (Reinhardt, 1830)	33
<i>Hippoglossoides platessoides</i> (Reinhardt, 1830)	93
<i>Lumpenus lampretaeformis</i> (Walbaum, 1792)	45
<i>Mallotus villosus</i> (Müller, 1776)	8
<i>Melanogrammus aeglefinus</i> (Linnaeus, 1758)	8
<i>Myoxocephalus scorpius</i> (Linnaeus, 1758)	47

Tab. 2: Použité vzorky získané z předešlých sezón.

Hostitel	Počet vzorků	Rok sběru
<i>Gymnocanthus tricuspis</i> (Reinhardt, 1830)	1	2014
<i>Amblyraja radiata</i> (Donovan, 1808)	1	2014
<i>Melanogrammus aeglefinus</i> (Linnaeus, 1758)	1	2014
<i>Mallotus villosus</i> (Müller, 1776)	1	2014
<i>Gadus morhua</i> (Linnaeus, 1758)	2	2014
<i>Clupea harengus</i> (Linnaeus, 1758)	2	2014
<i>Sagitta</i> sp. (Quoy a Gaimard, 1827)	2	2012
<i>Boreogadus saida</i> (Lepechin, 1774)	3	2014
<i>Euspira pallida</i> (Broderip a G. B. Sowerby I, 1829)	3	2010, 2012
<i>Myoxocephalus scorpius</i> (Linnaeus, 1758)	9	2014

3.3. Metodika sběru

Pro odchyt ryb byly využity rybářské sítě (tenata) kladené do různých hloubek. V oblastech fjordu Adventfjorden byly kladeny do hloubky s rozmezím 15–50 m, v zátocích Petunia byly kladeny do hloubky do 20 m. Na místě byly ponechány po dobu 24 hod. Chycené ryby byly přepraveny do laboratoře a před pitvou humánně usmrceny. Nalezení paraziti byly uchováni v 96% ethanolu. Pokud to množství parazitů dovolilo, byla pro účely morfologické analýzy část materiálu fixována pomocí horkého formaldehydu.

Plži byli sbíráni pomocí pastí s návnadami kladenými do hloubky 30 m. U chycených plžů byla provedena pitva a nalezení paraziti byly uloženy do 96% ethanolu, část fixována horkým formalínem.

3.4. Morfologická analýza

Pro morfologickou analýzu byly použity dvě metody, a to barvení pomocí Mayerova hematoxilinu a 10% roztoku Schruberova karmínu v 70% etanolu s příměsí HCl (1 ml HCl na 99 ml ethanolu).

Pro účely morfologické analýzy bylo nabarveno 30 adultních a 17 larválních stádií. Osm jedinců ze 4 různých hostitelů (*Gadus morhua*, *Boreogadus saida*, *Myoxocephalus scorpius*, *Clupea harengus* a *Sagita* sp.), dvě rédie a jedna cercárie z plže *Euspira pallida* byly následně použity pro kreslení.

3.4.1. Progresivní barvení Mayerovým hematoxylinem

Paraziti uchovaní ve formalínu byly na 10 min přeneseni do destilované vody a následně vloženi do Mayerova hematoxilinu kde byly ponecháni přes noc. Poté byl vzorek ponořen do 1% roztoku HCl do doby, než byl důkladně odbarven tak, aby orgány byly dostatečně viditelné. Následovala neutralizace v 1% NH₃. Dále bylo proveden odvodnění, kdy byl vzorek přenesen do 70%, 80%, 90%, 96% a 100% roztoku ethanolu. V každé koncentraci byl vzorek ponechán po dobu 10 min. Takto odvodněný vzorek byl projasněn pomocí xylenu a zamontován do kanadského balzámu. Vzniklý trvalý preparát byl následně podroben morfologické analýze.

3.4.2. Regresivní barvení Schruberovým karmínem

Z fixovaného vzorku byly odstraněny zbytky formalínu pomocí roztoku ethanolu (30% a 70%), v každém ponechán po dobu 15 min. Očištěný vzorek byl po dobu 2 hod ponořen do karmínu. Následovalo opláchnutí v 70% ethanolu a diferenciaci v kyselém alkoholu. Odbarvený vzorek prošel alkoholovou řadou (70%, 80%, 90%, 96% a 100% roztok ethanolu), v periodách 10 min v každé koncentraci. Motolice byla prosvětlena pomocí hřebíčkového oleje a přenesena na sklíčko kde byla zamontována do kanadského balzámu. Vzniklý trvalý preparát byl následně podroben morfologické analýze.

3.4.3. Zpracování dat z trvalých preparátů

Pomocí mikroskopu Olympus BX51 vybaveného kreslicím zařízením byly vyhotoveny kresby fixovaných vzorků při zvětšení 20×. Vzniklé kresby hlavních struktur byly zmenšeny na formát A3 a dále přeneseny na pauzovací papír na kterém byly dokresleny detaily jednotlivých struktur. Takto vzniklá kresba byla následně zmenšena na formát A4 a převedena do elektronické podoby k finálnímu použití.

Morfometrické hodnoty byly získány pomocí mikroskopu Olympus BX53 a programu Olympus cellSens Standard. Pro získání metrických údajů bylo pokud možno z jednoho hostitele změřeno více jedinců patřících ke stejnému druhu. Rozměry jsou uvedeny v μm .

3.5. Molekulární analýza

Pro molekulární analýzu byly použity vzorky uchované v ethanolu. Před extrakcí byly vzorky vysušeny v termobloku a rozpuštěny. Část vzorků byla extrahována pomocí komerčně dodávaných kitů QIAamp DNA Micro Kit (QUIAGEN) a Quick-DNA Tissue/Insect Microprep Kit (Zymoresearch) dle návodu výrobce a část fenol-chloroformovou extrakcí DNA.

Během fenol-chloroformové extrakce byl k lýzi použit pufr TNES-Urea (10 mM Tris-HCL, 125 mM NaCl, 10 mM EDTA, 0,5% SDS a 4 M urea) a Proteinase K (GeneAll). Vzorek s pufrém byl přes noc ponechán v termobloku za teploty 45 °C. Do rozpuštěného vzorku bylo přidáno 400 μl fenol:chloroform:isoamylalkohol v objemovém poměru 25:24:1. Po dobu 5 min byla směs promíchávána převrácením a následně centrifugována při rychlosti 8960 rpm a teplotě 21 °C. Vzniklá horní fáze byla odebrána do nové zkumavky a smíchána s 400 μl chloroformu. Opakoval se krok promíchání převrácením a následná centrifugace se stejnou rychlostí. Horní vrstva obsahující DNA byla přenesena do nové zkumavky a smíchána s 900 μl 92% ethanolu a centrifugována (11180 rpm při teplotě 4 °C). Pročištění proběhlo ještě jednou pomocí 900 μl 70% ethanolu a centrifugováním po dobu 4 min rychlostí 11180 rpm při 4 °C. Pročištěný vzorek schnul při teplotě 45 °C. K vzniklému peletu bylo přidáno 50 μl deionizované vody. Takto vzniklý roztok DNA byl použit k PCR.

3.5.1. Polymerázová řetězová reakce

Polymerázovou řetězovou reakcí byl amplifikován gen pro velkou ribosomální podjednotku 28S rDNA (Sokolov et al. 2018). K reakci byly použity primery LSU5 (5'-TAG GTC GAC CCG CTG AAY TTA AGC A-3') a 1500R (5'- GCT ATC CTG AGG GAA ACT TCG-3') (Olson et al. 2003). Reakce probíhala v celkovém objemu 25 μl obsahující 9,5 μl H₂O, 12,5 μl PP master mixu s Taq polymerázou, 1 μl forward primeru, 1 μl reverse primeru a 1 μl templátové DNA. DNA byla denaturována při 94 °C po dobu 3 min. Amplifikace probíhala ve 40 cyklech z nichž se každý skládal z denaturace při teplotě 94 °C po dobu 20 s následující nasednutím primeru při teplotě 50 °C po dobu 30 s a extenzí při 72 °C po dobu 1 min. Po těchto cyklech následovalo 7minutové dosyntetizování řetězce při 72 °C.

3.5.2. Gelová elektroforéza

PCR produkt byl smíchán s Yellow loading dye (TopBio) a dán na 1% agarózový gel s přídatkem GoodView (SBS Genetech) na 50 min při napětí 80 V. Následovala vizualizace pomocí UV transiluminátoru při vlnové délce 302 nm. DNA Markerem byl 100 bp DNA ladder (TopBio).

Pozitivní produkty byly vyříznuty a pročištěny komerčním kitem Expin Combo GP mini (GeneAll) dle instrukcí výrobce.

3.5.3. Sekvenace

PCR produkty byly sekvenovány pomocí ABI BigDye Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit na sekvenátoru ABI 3130 (SEQme, ČR) za použití primerů LSU5 (5'-TAG GTC GAC CCG CTG AAY TTA AGC A-3'), 1500R (5'- GCT ATC CTG AGG GAA ACT TCG-3'), 300F (5'-CAA GTA CCG TGA GGG AAA GTT G-3'), ECD2 (5'-CTT GGT CCG TGT TTC AAG ACG GG-3') a 900F (5'- CCG TCT TGA AAC ACG GAC CAA G-3').

3.5.4. Fylogenetická analýza

Spojením získaných sekvencí s několika dalšími sekvencemi z databáze GenBank (www.ncbi.nlm.nih.gov) ve společném textovém souboru byl vytvořen dataset. Jako outgroup byly na základě práce Sokolov et al. (2018) použity sekvence z několika druhů čeledi Azygiidae. V programu Geneious Prime 2019.2.3. (Biomatters Ltd.) byl z datasetu pomocí pluginu MAFFT v.7. (Katoh a Standley 2013) vytvořen aligment, který byl poté v tomtéž programu ručně upraven. Fylogenetické vztahy mezi motolicemi byly rekonstruovány pomocí metody Maximum likelihood (ML) modelem GTR+F+I+G4 s bootstrapovou podporou získanou na základě 1000 opakování metodou ultrafast bootstrap a s použitím testu poměrné pravděpodobnosti s interpretací SH-aLRT v programu IQ-Tree (Nguyen et al. 2015). Výsledný strom byl vizualizován programem FigTree 1.4.3 a graficky upraven v Inkscape 0.92.4.

4. Výsledky

Z 330 vyšetřených ryb byla u celkového počtu 55 jedinců potvrzena přítomnost motolic nadčeledi Hemiuroidea Looss, 1899 (Tab. 3). Často byla pozorována smíšená infekce trávící soustavy, a to například jinými druhy motolic patřících do čeledí Opecoelidae Ozaki, 1925 a Fellodistomidae Nicoll, 1909, hlísticemi komplexu *Anisakis* či parazitickými vrtejší.

Tab. 3: Prevalence výskytu motolic nadčeledi Hemiuroidea u pitvaných ryb v letech 2018, 2019.

Druh	Prevalence (infikováno/vyšetřeno)
<i>Boreogadus saida</i> (Lepechin, 1774)	46 % (24/52)
<i>Clupea harengus</i> (Linnaeus, 1758)	0 % (0/15)
<i>Gadus morhua</i> (Linnaeus, 1758)	52 % (15/29)
<i>Gymnocanthus tricuspis</i> (Reinhardt, 1830)	0 % (0/33)
<i>Hippoglossoides platessoides</i> (Reinhardt, 1830)	14 % (13/93)
<i>Lumpenus lampretaeformis</i> (Walbaum, 1792)	0 % (0/45)
<i>Mallotus villosus</i> (Müller, 1776)	0 % (0/8)
<i>Melanogrammus aeglefinus</i> (Linnaeus, 1758)	0 % (0/8)
<i>Myoxocephalus scorpius</i> (Linnaeus, 1758)	6 % (3/47)

Pomocí morfologické analýzy byli čtyři ze sedmi jedinců zařazeni do rodu *Derogenes* Lühe, 1900 (Obr. 10, 11). Tito jedinci byli nalezeni ve třech různých hostitelích (*Boreogadus saida*, *Myoxocephalus scorpius*, *Sagita* sp.). Zbylí tři jedinci pocházející z tresky *Boreogadus saida* a ploutvenky byli zařazeni do rodu *Hemiurus* Rudolphi, 1809 (Obr. 13, 14).

4.1. Morfologická analýza

Derogenidae Nicoll, 1910

Derogenes Lühe, 1900

Lokalita: Svalbard (Petunia, Brucebyen)

Hostitel: *Sagitta* sp., *Boreogadus saida*, *Myoxocephalus scorpius*

Lokalizace v hostiteli: tělní dutina, pylorické přívěsky, žaludek

Popis morfotypu A

Metrická data založena na měření 9 jedinců (Tab. 4):

Protáhlé, dorzoventrálně zploštělé tělo bez exsometu s maximální šířkou na úrovni břišní přisavky či těsně za ní. Tegument hladký.

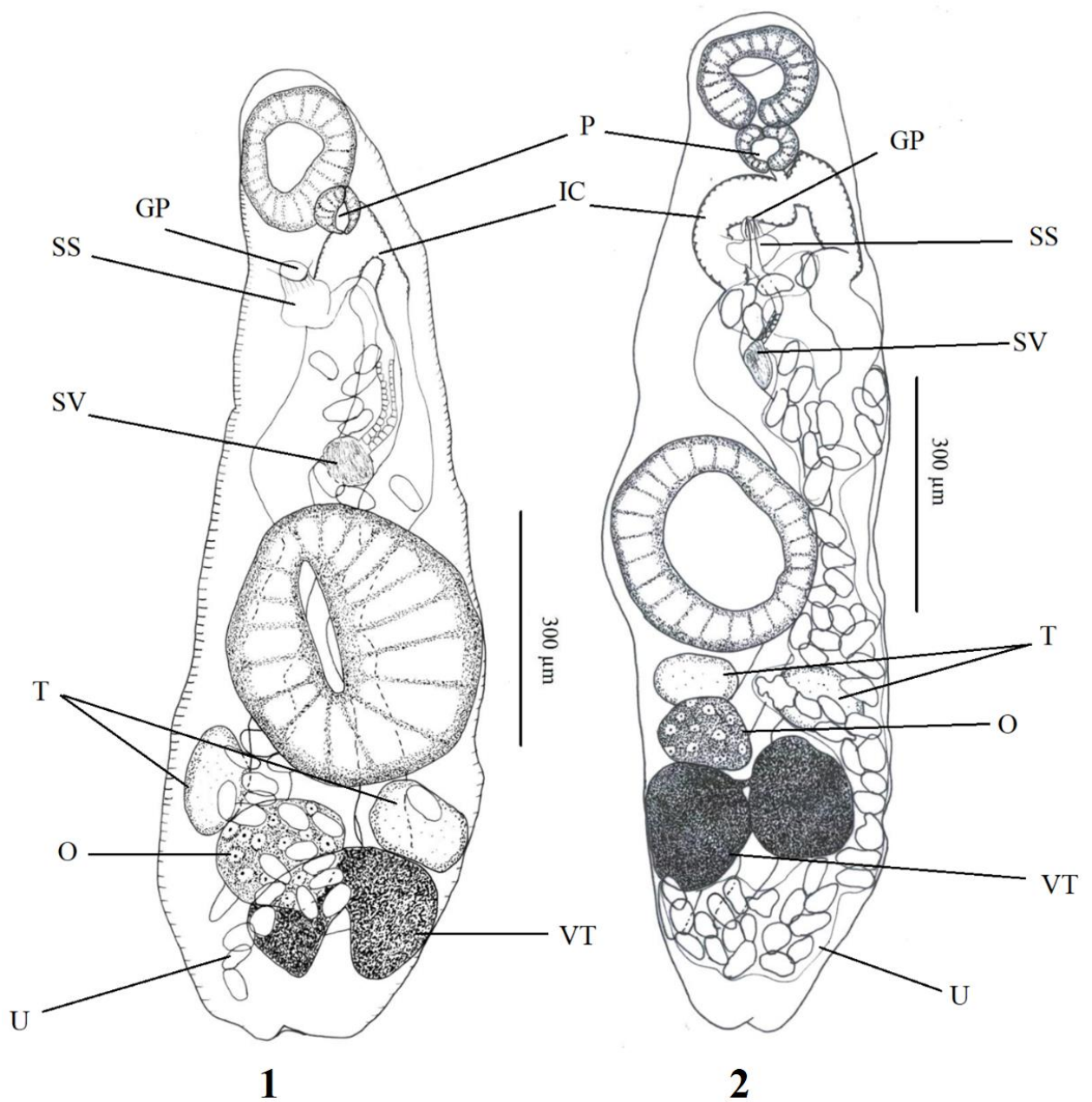
Ústní přisavka položena ventrálně, subterminálně. Břišní přisavka kulovitá, svalnatá, leží ve středu těla či mírně v zadní polovině těla, větší než ústní přisavka. Prefarynx není vyvinut. Farynx sférický, dobře vyvinutý. Jícen velmi krátký, tenký, větví se těsně za faryngem. Střevní větve nápadné, široké, vystlané vrstvou žlaznatých buněk (tzv. „Drüsenmagen“), ke konci těla se zužují, končí slepě v zadní polovině těla za vitelinními tělesy, případně na jejich úrovni.

Varlata dvě, oválného nebo příčně oválného tvaru, s hladkým povrchem, uložena symetricky nebo příčně, před vaječníkem, těsně za břišní přisavkou, mohou se dotýkat břišní přisavky či vaječníku. Semenný váček je malý, nenápadný, leží před břišní přisavkou, uprostřed přední části těla či v její druhé polovině. Prostatická část (pars prostatica) relativně krátká, trubicovitá, lemována četnými prostatickými žlázovými buňkami. Sinusový vak je oválný až cylindrický, se silnou stěnou, leží v první třetině přední části těla. Genitální atrium mělké, nenápadné. Genitální pór vyúsťuje na ventrální straně v horní polovině těla, v blízkosti faryngu. Vaječník oválný až příčně oválný, leží za varlaty v těsné blízkosti vitelinních těles. Děloha s četnými kličkami, převážná část se nachází v zadní polovině těla, dosahuje k zadnímu konci těla. Vitelinní tělesa dvě, kulovitá, s hladkým povrchem, uložena symetricky, leží v zadní části těla za vaječníkem, se kterým se dotýkají nebo překrývají. Vajíčka malá, početná. Exkrece pór terminální.

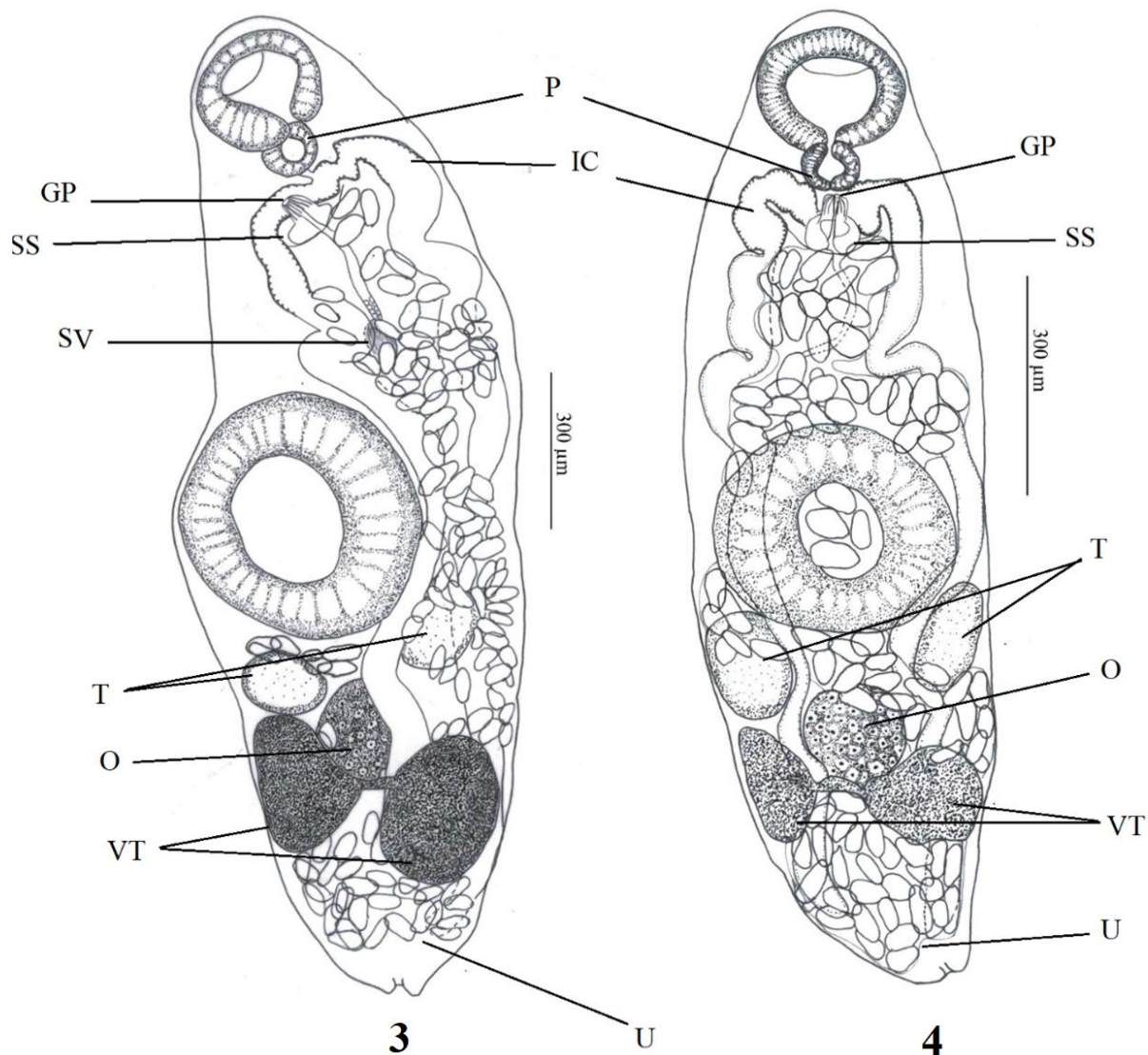
Tab. 4: Přehled rozměrů pro morfotyp A.

Rozměry pro jedince 1 jsou získány měřením jedné motolice z ploutvenky *Sagitta* sp., u jedince 2 byly měřeny tři motolice ze střeva jedné ryby (*Boreogadus saida*), pro jedince 3+4 bylo v celku naměřeno 5 motolic ze střeva jedné ryby (*Myoxocephalus scorpius*). Rozměry uvedeny v μm . D-délka, Š-šířka.

		1 (n=1)		2 (n=3)		3+4 (n=5)	
		Průměr+SD		Průměr+SD			
Tělo	D	1217	1164–1239	1180±53	1165–1643	1402±221	
	Š	396	326–417	370±45	334–488	428±70	
Předeck těla		523	504		500–548	526±20	
% délky z těla		43	40		33–43		
Břišní přísavka	D	321	248–417	256±7	263–370	313±39	
	Š	326	253		315–359	335±20	
Ústní přísavka	D	169	145–193	165±26	132–214	164±32	
	Š	138	133		173–257	205±37	
Poměr přísavek (ústní:břišní)		1:1,9	1:1,7–2,2		1:1,7–2		
Pharynx	D	68	50–53	52±2	56–76	66±14	
	Š	77	51–61	56±7	81–89	85±6	
Varle (pravé)	D	95	51		86–125	108±20	
	Š	125	98		57–120	81±34	
Varle (levé)	D	114	57		80–120	98±16	
	Š	107	90		102–120	111±8	
Vajíčka		47–52	49±3	47–58	51±6	46–56	51±5
Vaječník	D	120	86		93–150	126±28	
	Š	209	106		89–157	129±30	



Obr. 10: (1) Jedinec (15_7_2012) z ploutvenky *Sagitta* sp. (2) Jedinec (F289) z pylorických přívěsků tresky polární (*Boreogadus saida*). Ventrální pohled. P farynx, IC střešní větve, GP genitální pór, SS sinusový vak, SV semenný váček, T varlata, O vaječník, U děloha, VT vitelinní tělesa.



Obr. 11: (3+4) Jedinci (F189) z vranky mořské (*Myoxocephalus scorpius*). Ventrální pohled. P farynx, IC střešní větve, GP genitální pór, SS sinusový vak, SV semenný váček, T varlata, O vaječník, U děloha, VT vitelinní tělesa.

Derogenes varicus (Müller, 1784) Looss, 1901

Lokalita: Brucebyen, Svalbard

Hostitel: *Euspira pallida*

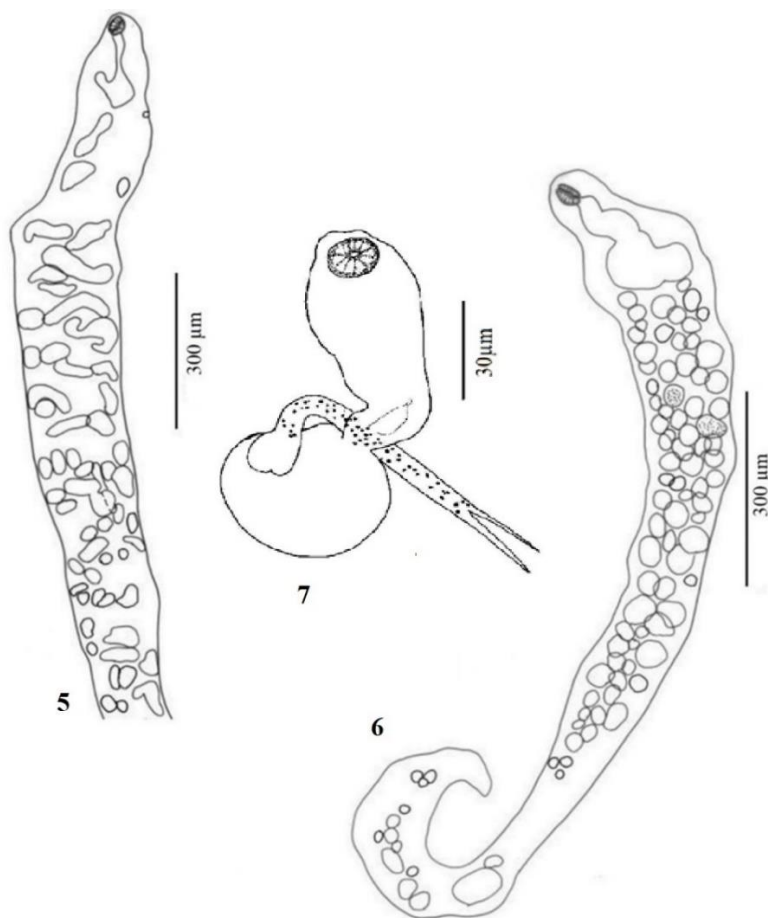
Lokalizace v hostiteli: hepatopankreas

Rédie (Obr 12., 5, 6)

Tělo protáhlé, velmi dlouhé, na obou koncích zúžené. Délka od 1549 μm do 4481 μm .
Střevo jednoduché, vakovité, v první šestině těla.

Cerkárie (Obr 12., 7)

Cystoforní cercárie s protáhlým tělem, velikost 86–95 \times 28–36. Na těle je dobře viditelná ústní přísavka a vylučovací měchýř. Kaudální těleso široké 15 μm , menší než tělo cercárie.
Exkreceční přívěsek vidličnatý, dlouhý 85–143 μm .



Obr. 12: (5,6) *Derogenes varicus* z plže *Euspira pallida*, rédie (D154). (7) Cystoforní cercárie z plže *Euspira pallida*.

Hemiuridae Looss, 1899

Hemiurus Rudolphi, 1809

Lokalita: Svalbard (Brucebyen, Petunia)

Hostitel: *Sagitta* sp., *Boreogadus saida*

Lokalizace v hostiteli: tělní dutina, pylorické přívěsky

Popis morfortypu B

Metrická data založena na měření 6 jedinců (Tab. 5):

Tělo dorzoventrálně zploštělé, protáhlé, přední a zadní konec zúžený, maximální šířka v polovině těla, na úrovni varlat. Exsoma vyvinuté, krátké. Tegument s prstencovými vroubkami (přímky).

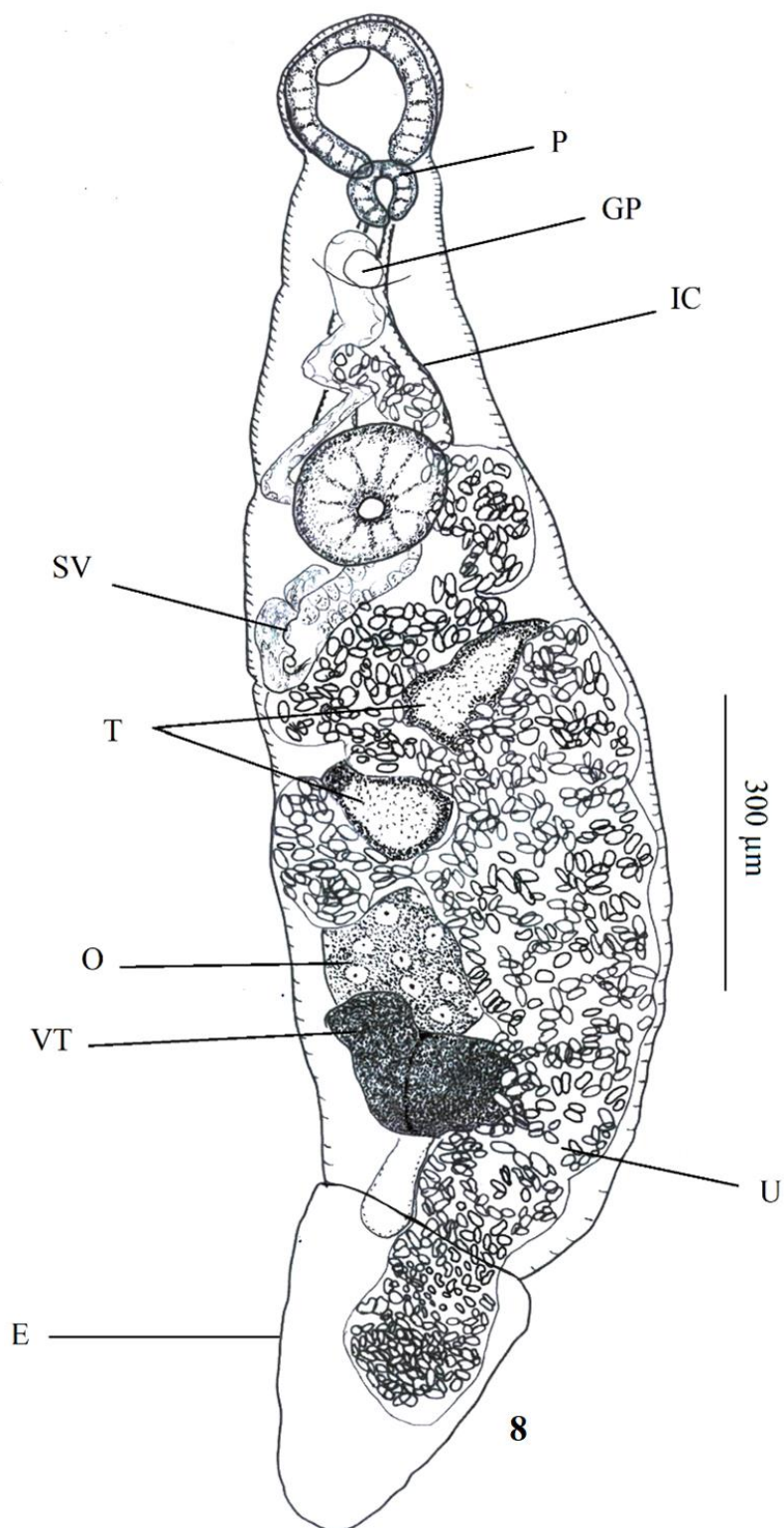
Ústní přísavka dobře vyvinutá, svalnatá, uložena ventrálně, subterminálně. Břišní přísavka kulovitá, svalnatá, leží ve druhé čtvrtině těla, větší než ústní přísavka. Prefarynx není vyvinut, farynx dobře vyvinutý, svalnatý. Jícen velmi krátký, větví se těsně za faryngem. Střevní větve široké, vystlané vrstvou žlázatých buněk (tzv. „Drüsenmagen“), ke konci těla se zužují, končí slepě daleko za vitelinními tělesy, mohou zasahovat do exsomatu.

Varlata dvě, příčně oválná, s hladkým povrchem, uložena symetricky, ve středu těla. Semenný váček je malý, nenápadný, leží za břišní přísavkou, uprostřed přední části těla či v její druhé polovině. Prostatická část (pars prostatica) relativně krátká, trubicovitá, lemována četnými prostatickými žlázovými buňkami. Sinusový vak je oválný až cylindrický, se silnou stěnou, leží v první třetině přední části těla. Vaječník oválný až příčně oválný, s hladkým povrchem, daleko za varlaty (nedotýkají se), uložen mediálně, těsně za polovinou těla. Děloha s četnými kličkami, vyplňuje většinu těla a zasahuje k zadnímu konci těla, naplněna velkým množstvím malých vajíček. Vitelinní tělesa dvě, kulovitá, uložena symetricky, za vaječníkem, dotýkají se. Vajíčka malá, ve velkém množství. Otvor vylučovací póru terminálně otevírá na konci těla.

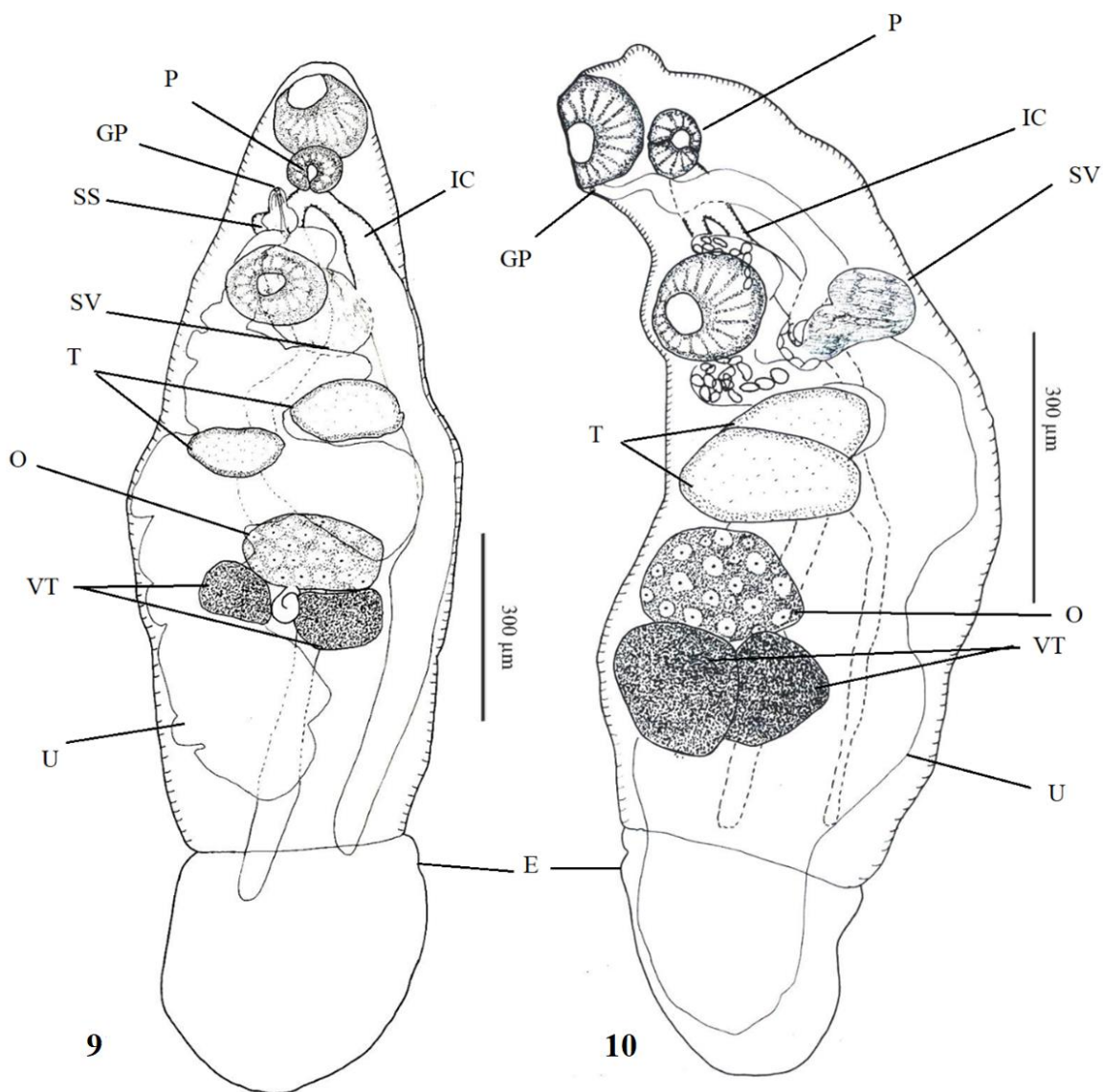
Tab. 5: Přehled rozměrů pro morfotyp B.

Rozměry jedince 8 jsou získány z měření jedné motlice z ploutvenky *Sagitta* sp., u jedince 9 bylo měřeno 10 motolic ze střeva jedné ryby (*Boreogadus saida*), u jedince 7 byla měřena pouze jedna motolice z plotvenky *Sagitta* sp. D- délka, Š- šířka.

		8 (n=1)		9 (n=4)		10(n=1)	
		Průměr+SD		Průměr+SD		Průměr+SD	
Tělo	D	1574		1027–1758	1461±310	1100	
	Š	407		337–541	466±90	344	
Předek těla		449		301–379	344±32	211	
% z délky těla		29		22–29		19	
Břišní přísavka	D	162		122–176	144±24	109	
	Š	145		111–168	151±30	138	
Ústní přísavka	D	122		123–174	152±28	108	
	Š	118		122–181	143±24	131	
Poměr přísavek (ústní:břišní)		1:1,3		1:1		1:1	
Pharynx	D	61		49–67	58±13	51	
	Š	70		52–93	73±29	58	
Varle (pravé)	D	140		73–152	98±32	95	
	Š	164		93–185	149±41	129	
Varle (levé)	D	80		80–101	91±9	88	
	Š	159		128–138	133±4	174	
Vaječník	D	130		98–201	149±65	120	
	Š	190		95–204	175±55	209	
Vajíčka		17–21	19±2	18–22	20±2	22–23	22±1
Exsoma		81		82–428	256±245	207	



Obr. 13: (8) Jedinec (14_7_2012) izolovaný z ploutvenky *Sagitta* sp. Ventrální pohled. P pharynx, IC střešní větve, GP genitální pór, SS sinusový vak, SV semenný váček, T varlata, O vaječník, U děloha, VT vitelinní tělesa.



Obr. 14: (9) Jedinec (Y99_2) z tresky (*Boreogadus saida*). (10) Jedinec (15_7_2012) z ploutvenky *Sagitta* sp. P pharynx, IC střevní větve, GP genitální pór, SS sinusový vak, SV semenný váček, T varlata, O vaječník, U děloha, VT vitelinní tělesa.

Hemiuridae Looss, 1899

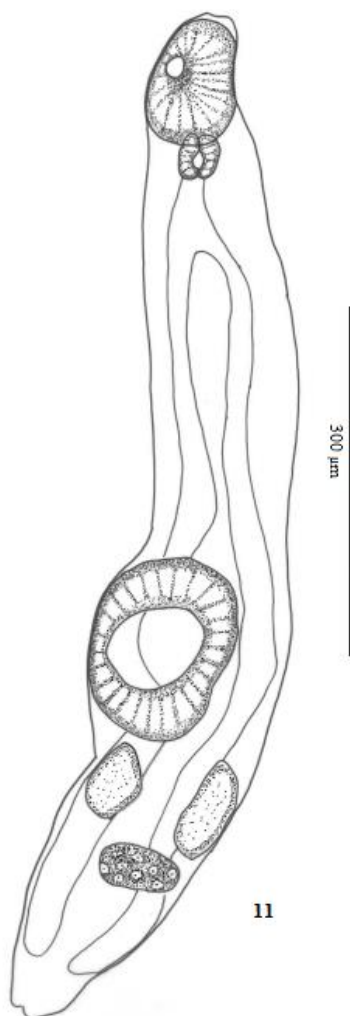
Lokalita: Svalbard (Petunia)

Hostitel: *Clupea harengus*

Lokalizace v hostiteli: žábra

Metacerkárie (Obr. 15., 11)

Excystovaná metacerkárie protáhlá, úzká, velikost $825 \times 173 \mu\text{m}$. Ústní přísavka mírně protáhlá, svalnatá, položena ventrálně, subterminálně, velikost $94 \times 72 \mu\text{m}$. Prefarynx chybí, farynx malý, svalnatý. Jícen krátký, větví se v první čtvrtině přední části těla, střevní větve končí slepě v zadní části těla. Břišní přísavka kulovitá, svalnatá, v zadní polovině těla, velikost $150 \times 72 \mu\text{m}$, větší než ústní přísavka. Základy varlat vyvinuté, protáhle eliptické, uloženy symetricky za břišní přísavkou. Základ vaječníku vyvinutý, příčně eliptický, uložen za varlaty.



Obr. 15: (11) Metacerkárie (F140) ze sledě obecného (*Clupea harengus*). Petunia, Svalbard.

4.2. Molekulární analýza

Z celkového počtu 81 vzorků byl pomocí PCR amplifikován gen 28S rDNA pro 48 vzorků. K fylogenetické analýze bylo použito 15 vzorků (Tab. 6, 8), zbylé sekvenace nešlo sestavit či alignovat s ostatními vzorky. Získané sekvenace pocházejí od 6 druhů ryb patřících do 3 různých čeledí, jedné paryby a jednoho plže. Sekvenace a fylogenetická analýza ve vyšetřovaných vzorcích potvrdila přítomnost 3 různých druhů motolic. Dva zástupci (*Derogenes varicus*, *Hemiurus levinseni*) patřili do nadčeledi Hemiuroidea a jeden zástupce (*Steringophorus furciger*) patřili do čeledi Fellodistomidae. Jelikož se *Steringophorus furciger* řadí na rozdíl od zbylých dvou druhů do jiné nadčeledi, byla vyhotovena oddělená fylogenetická analýza.

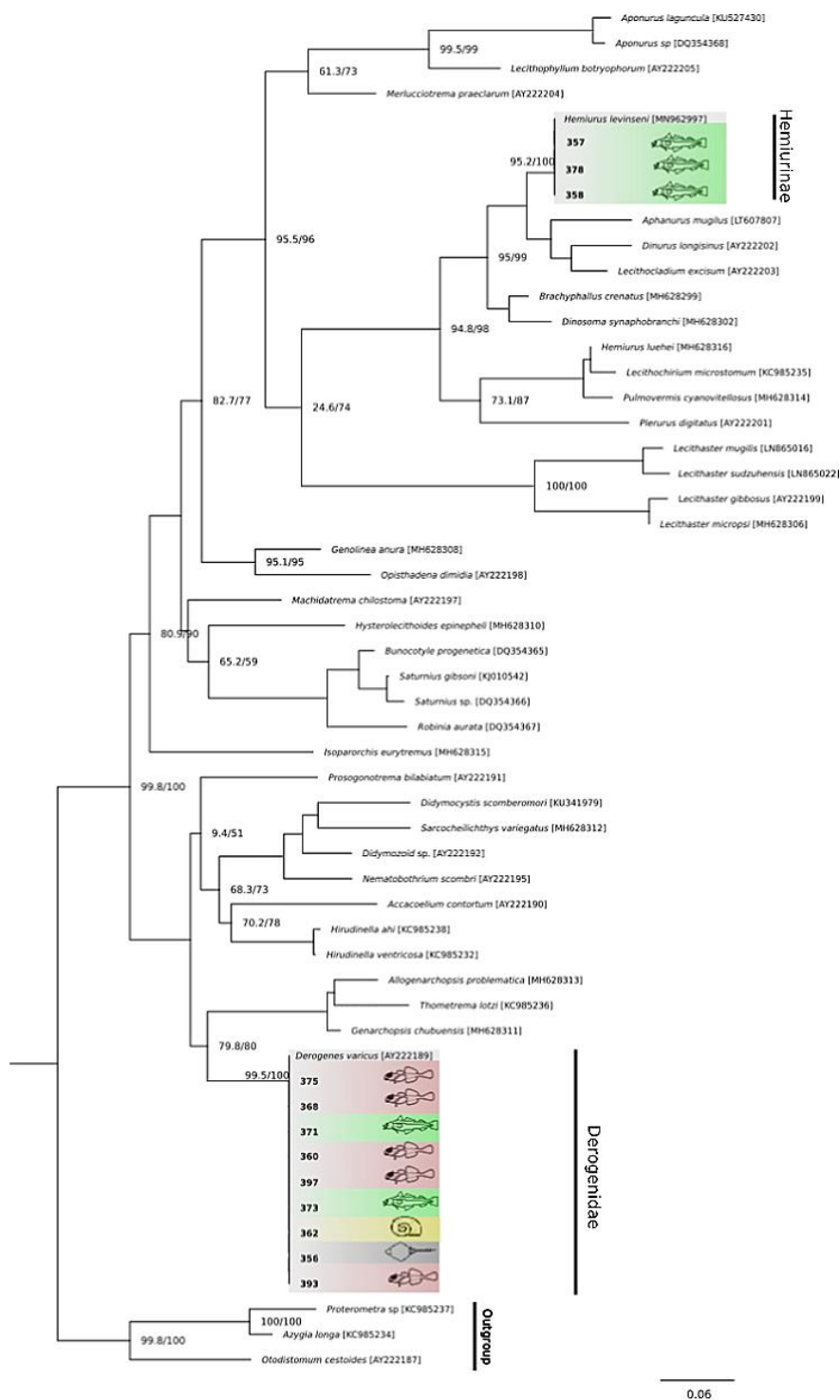
K vytvoření alignmentu pro vzorky nadčeledi Hemiuroidea (*Derogenes varicus*, *Hemiurus levinseni*) bylo využito 12 sekvencí získaných v této práci (Tab. 6) a 42 referenčních sekvencí získaných z databáze GenBank, z čehož 3 sekvenace zástupců čeledi Azygiidae byly využity jako outgroup (Tab. 7). Získaný alignment byl ořezán na jednotnou délku 695 bp. Sekvenace vzorků E357, E358, E378 kladují se sekvencí získanou ze studie Krupenko et al. (2020) druhu *Hemiurus levinseni* izolovaného z tresky obecné (*Gadus morhua*). Sekvenace vzorků E356, E360, E32, E38, E371, E373, E375, E393 a E397 kladovaly se sekvencí *Derogenes varicus* z platýse *Hippoglossoides platessoides* pocházející ze studie Olson et al. (2003). Jejich fylogenetické vztahy jsou znázorněny v kladogramu (Obr. 16).

Tab. 6: Přehled sekvencí motolic nadčeledi Hemiuroidea použitých pro fylogenetickou analýzu získaných v této práci.

Kód sekvenace	Hostitel	Lokalita
E356	<i>Amblyraja radiata</i>	Hotelleset
E360	<i>Myoxocephalus scorpius</i>	Brucebyen
E362	<i>Euspira palida</i>	Brucebyen
E368	<i>Myoxocephalus scorpius</i>	Petunia
E371	<i>Melanogrammus aeglefinus</i>	Hotelleset
E373	<i>Melanogrammus aeglefinus</i>	Hotelleset
E375	<i>Myoxocephalus scorpius</i>	Hotelleset
E393	<i>Myoxocephalus scorpius</i>	Adventcity
E397	<i>Myoxocephalus scorpius</i>	Brucebyen
E357	<i>Gadus morhua</i>	Hotelleset
E358	<i>Boreogadus saida</i>	Petunia
E378	<i>Gadus morhua</i>	Bjørndalen

Tab. 7: Referenční sekvence použité pro fylogenetické analýzy získané z databáze GenBank.

Druh	Zdroj	Přístupový kód z GenBank
<i>Accacoelium contortum</i>	Olson et al. (2003)	AY222190
<i>Allogenarchopsis problematica</i>	Sokolov et al. (2018)	MH628313
<i>Aphanurus mugilis</i>	Atopkin et al. (2017)	LT607807
<i>Aponurus laguncula</i>	Claxton et al. (2017)	KU527430
<i>Aponurus</i> sp.	Pankov et al. (2006)	DQ354368
<i>Brachyphallus crenatus</i>	Sokolov et al. (2018)	MH628299
<i>Bunocotyle progenetica</i>	Pankov et al. (2006)	DQ354365
<i>Derogenes varicus</i>	Olson et al. (2003)	AY222189
<i>Didymocystis scomberomori</i>	Schrandt et al. (2016)	KU341979
<i>Didymozoid</i> sp	Olson et al. (2003)	AY222192
<i>Dinosoma synaphobranchi</i>	Sokolov et al. (2018)	MH628302
<i>Dinurus longisinus</i>	Olson et al. (2003)	AY222202
<i>Genarchopsis chubuensis</i>	Sokolov et al. (2018)	MH628311
<i>Genolinea anura</i>	Sokolov et al. (2018)	MH628308
<i>Hemiurus levinseni</i>	Krupenko et al. (2020)	MN962997
<i>Hemiurus luehei</i>	Sokolov et al. (2018)	MH628316
<i>Hirudinella ahi</i>	Calhoun et al. (2013)	KC985238
<i>Hirudinella ventricosa</i>	Calhoun et al. (2013)	KC985232
<i>Hysteroleclithoides epinepheli</i>	Sokolov et al. (2018)	MH628310
<i>Isoparorchis eurytremus</i>	Sokolov et al. (2018)	MH628315
<i>Lecithaster gibbosus</i>	Olson et al. (2003)	AY222199
<i>Lecithaster micropsi</i>	Sokolov et al. (2018)	MH628306
<i>Lecithaster mugilis</i>	Besprozvannykh et al. (2017)	LN865016
<i>Lecithaster sudzuhensis</i>	Besprozvannykh et al. (2017)	LN865022
<i>Lecithocladium excisum</i>	Olson et al. (2003)	AY222203
<i>Lecithochirium microstomum</i>	Calhoun et al. (2013)	KC985235
<i>Lecithophyllum botryophorum</i>	Olson et al. (2003)	AY222205
<i>Machidatrema chilostoma</i>	Olson et al. (2003)	AY222197
<i>Merlucciotrema praeclarum</i>	Olson et al. (2003)	AY222204
<i>Nematobothrium scombri</i>	Olson et al. (2003)	AY222195
<i>Opisthadena dimidia</i>	Olson et al. (2003)	AY222198
<i>Plerurus digitatus</i>	Olson et al. (2003)	AY222201
<i>Prosogonotrema bilabiatum</i>	Olson et al. (2003)	AY222191
<i>Pulmovermis cyanovitellosus</i>	Sokolov et al. (2018)	MH628314
<i>Robinia aurata</i>	Pankov et al. (2006)	DQ354367
<i>Sarcocheilichthys variegatus</i>	Sokolov et al. (2018)	MH628312
<i>Saturnius gibsoni</i>	Marzoug et al. (2014)	KJ010542
<i>Saturnius</i> sp.	Pankov et al. (2006)	DQ354366
<i>Thometrema lotzi</i>	Calhoun et al. (2013)	KC985236
<i>Otodistomum cestoides</i>	Olson et al. (2003)	AY222187
<i>Azygia longa</i>	Calhoun et al. (2013)	KC985234
<i>Proterometra</i> sp.	Calhoun et al. (2013)	KC985237



Obr. 16: Kladogram fylogenetických vztahů motolic čeledi Hemiuroidae na základě analýzy sekvencí pro 28S rDNA metodou ML. Sekvence získané v této studii jsou znázorněny tučně. U uzlů jsou uvedeny hodnoty pro podporu větví vypočtenou s použitím testu poměrné pravděpodobnosti s interpretací podobnou SH (SH-aLRT)/hodnoty ultrarychlého bootstrapu (UFBoot). Zeleně jsou podbarveny vzorky pocházející z treskovitých ryb (*Boreogadus saida*, *Gadus morhua*, *Melanogrammus aeglefinus*), červeně vrankovité ryby *Myoxocephalus scorpius*, šedě z paryby (*Amblyraja radiata*) a žlutě vzorky pocházející z plže *Euspira pallida*.

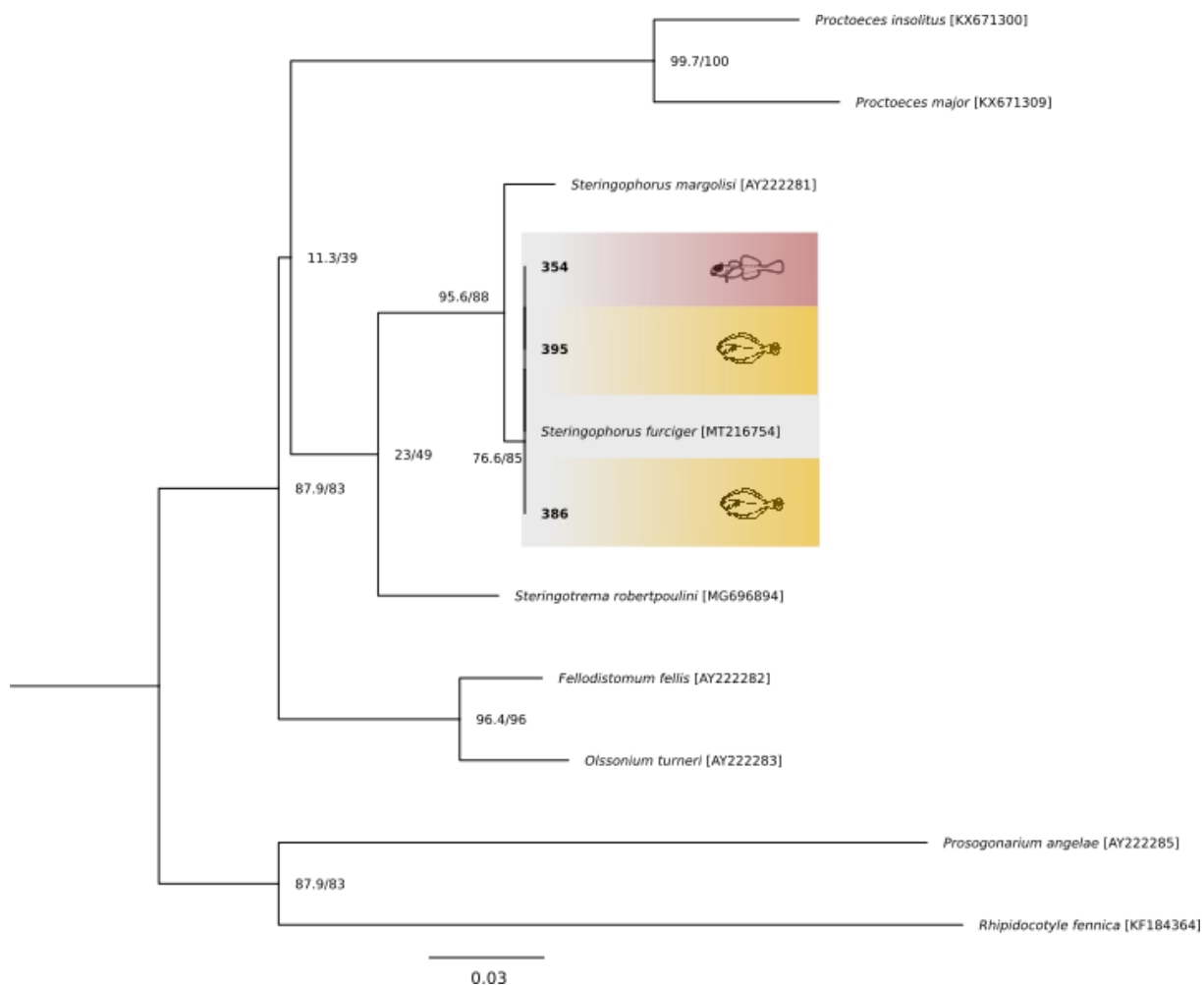
Získané sekvence 28S rDNA ze 3 vzorků (Tab. 8) spolu se sekvencemi z databáze GenBank (Tab. 9) byly alignovány a ořezány na jednotnou délku 400bp. Jako outgroup pro fylogenetické analýzy byly vybráni zástupci různých čeledí, a to Tandanicolidae (*Prosogonarium angelae*) a Bucephalidae (*Rhipidocotyle fennica*). Sekvence všech tří vzorků klastrovaly se sekvencí *Steringophorus furciger* získanou ze studie Krupenko et al. (2020) izolovaného z mlže *Nuculana pernula* (Obr. 17).

Tab. 8: Přehled sekvencí motolic čeledi Fellodistomidae použitých pro fylogenetickou analýzu získaných v této práci.

Kód sekvence	Hostitel	Lokalita
E354	<i>Gymnocanthus tricuspis</i>	Hotelnesset
E386	<i>Hippoglossoides platessoides</i>	Hotelnesset
E395	<i>Hippoglossoides platessoides</i>	Hotelnesset

Tab. 9: Referenční sekvence použité pro fylogenetické analýzy získané z databáze GenBank.

Druh	Zdroj	Přístupový kód z GenBank
<i>Proctoeces insolitus</i>	Wee et al. (2016)	KX671300
<i>Proctoeces major</i>	Wee et al. (2016)	KX671309
<i>Steringophorus margolisi</i>	Olson et al. (2003)	AY222281
<i>Steringophorus furciger</i>	Krupenko et al. (2020)	MT216754
<i>Steringotrema robertpoulini</i>	Perez-Ponce de Leon et al. (2018)	MG696894
<i>Fellodistomum fellis</i>	Olson et al. (2003)	AY222282
<i>Olssonium turneri</i>	Olson et al. (2003)	AY222283
<i>Prosogonarium angelae</i>	Olson et al. (2003)	AY222285
<i>Rhipidocotyle fennica</i>	Petkeviciute et al. (2014)	KF184364



Obr. 17: Kladogram fylogenetických vztahů motolic čeledi Fellodistomidae na základě analýzy sekvencí pro 28S rDNA metodou ML. Sekvence získané v této studii jsou znázorněny tučně. U uzlů jsou uvedeny hodnoty pro podporu větví vypočtenou s použitím testu poměrné pravděpodobnosti s interpretací podobnou SH (SH-aLRT)/hodnoty ultrarychlého bootstrapu (UFBoot). Červeně jsou podbarveny vzorky pocházející z vrankovitých ryb, žlutě z platýsovitých ryb.

Tab. 10: Seznam druhů určených v této práci s použitými určovacími metodami.

Vzorek	Druh	Hostitel	Metoda
F289	<i>Derogenes</i> sp.	<i>Boreogadus saida</i>	morfologická
F189	<i>Derogenes varicus</i>	<i>Myoxocephalus scorpius</i>	morfologická, molekulární
15_7_2012	<i>Derogenes varicus</i>	<i>Sagitta</i> sp.	morfologická
D154	<i>Derogenes varicus</i>	<i>Euspira pallida</i>	morfologická, molekulární
Y99_2	<i>Hemiurus</i> sp.	<i>Boreogadus saida</i>	morfologická
14_7_2012	<i>Hemiurus</i> sp.	<i>Sagitta</i> sp.	morfologická
15_7_2012_	<i>Hemiurus</i> sp.	<i>Sagitta</i> sp.	morfologická
F140	Hemiuridae	<i>Clupea harengus</i>	morfologická
E356	<i>Derogenes varicus</i>	<i>Amblyraja radiata</i>	molekulární
E360	<i>Derogenes varicus</i>	<i>Myoxocephalus scorpius</i>	molekulární
E368	<i>Derogenes varicus</i>	<i>Myoxocephalus scorpius</i>	molekulární
E371	<i>Derogenes varicus</i>	<i>Melanogrammus aeglefinus</i>	molekulární
E373	<i>Derogenes varicus</i>	<i>Melanogrammus aeglefinus</i>	molekulární
E375	<i>Derogenes varicus</i>	<i>Myoxocephalus scorpius</i>	molekulární
E393	<i>Derogenes varicus</i>	<i>Myoxocephalus scorpius</i>	molekulární
E397	<i>Derogenes varicus</i>	<i>Myoxocephalus scorpius</i>	molekulární
E357	<i>Hemiurus levinseni</i>	<i>Gadus morhua</i>	molekulární
E358	<i>Hemiurus levinseni</i>	<i>Boreogadus saida</i>	molekulární
E378	<i>Hemiurus levinseni</i>	<i>Gadus morhua</i>	molekulární
E354	<i>Steringophorus furciger</i>	<i>Gymnocanthus tricuspis</i>	molekulární
E386	<i>Steringophorus furciger</i>	<i>Hippoglossoides platessoides</i>	molekulární
E395	<i>Steringophorus furciger</i>	<i>Hippoglossoides platessoides</i>	molekulární

5. Diskuse

Hemiuroidea je velká nadčeď digenetických motolic parazitujících převážně v zažívacím traktu, zejména potom v žaludku velké škály mořských a sladkovodních kostnatých ryb, přičnoústých a příležitostně i obojživelníků a hadů (Gibson 2002a). Hemiuroidea je považována za nejsložitější nadčeď s bohatstvím taxonů zahrnujícím čtrnáct čeledí (Gibson a Bray 1979). Poslední studie navíc prokázala, že přítomnost exsomy, dříve hlavního diagnostického rysu jedné z čeledí (Hemiuridae) není v souladu s molekulární diferenciací nebo fylogenetickými vztahy této čeledi.

V předložené práci se propojují morfologické metody a fylogenetické metody založené na genu 28S rDNA. Jako jeden z hlavních problémů v průběhu získávání molekulárních dat se projevila nízká výtěžnost DNA u komerčně dodávaných kitů. Ani jeden z použitých kitů-QIAamp DNA Micro Kit (QUIAGEN) a Quick-DNA Tissue/Insect Microprep Kit (Zymoresearch)- neprokával dostatečnou výtěžnost DNA. Kity tedy byly v průběhu práce nahrazeny fenol-chloroformovou metodou, která poskytla lepší výtěžnost DNA.

Jedním z cílů této práce bylo pokusit se zmapovat životní cyklus hemiuroidních motolic vyskytujících se na Svalbardu. Typický hemiuroidní životní cyklus zahrnuje tři nebo čtyři mezihostitele (Cribb et al. 2002). Konečným hostitelem jsou až na několik výjimek kostnaté ryby (Gibson 2002a). Nejčastějšími druhými mezihostiteli jsou planktonní koryši, nejčastěji potom klanonožci (Køie 1979, 1989). Jako parateničtí mezihostitelé jsou zaznamenány ploutvenky. Využívají širokou škálu prvních mezihostitelů od primitivních plžů podtřídy Vetigastropoda (Køie 1990b), přes kelnatky (Scaphopoda) (Køie et al. 2002), zadožábře a předožábře plže (Hunninen a Cable 1943) až po mlže (Wardle, 1975).

Klanonožci rodu *Calanus hyperboreus*, *C. glacialis* a *C. finmarchicus* společně tvoří 50–80% celkové biomasy planktonu svalbardských vod (Daase a Eiane 2007). Díky vysokému zastoupení v těchto vodách je velmi pravděpodobné, že druhy čeledi Calanidae mohou sloužit jako druzí mezihostitelé hemiuroidních motolic. Vyšetření klanonožců *Calanus hyperboreus*, *C. glacialis* (500 ks od každého druhu) a *C. finmarchicus* (100ks) však nepřineslo nález ani jediné metacerkárie motolice. Je zřejmé, že prevalence u těchto druhých mezihostitelů budou extrémně nízké (Ditrich, ústní sdělení).

Pomocí morfologické a fylogenetické analýzy se podařilo potvrdit plže *Euspira pallida* jako prvního mezihostitele jedné z nalezených hemiuroidních motolic *Derogenes varicus*. Sekvence nalezených cercárií klastrovaly se sekvencí *Derogenes varicus* z platýse *Hippoglossoides platessoides*. Tento nález se shoduje s dřívějším nálezem cercárie druhu

Derogenes sp. v plži *Euspira pallida* (Køie 1990a). Jako paratenický mezihostitel tohoto druhu byla za pomoci morfologické analýzy určena ploutvenka *Sagitta* sp. Nález se shoduje s nálezem Rolbiecki a Walkusz (2005) z nedaleké zátoky Kongsfjorden. Studovaný materiál se liší od jedince popsaného v zmiňované publikaci menšími sekundárními pohlavními orgány. Z ploutvenky izolovaných metacerkárií se nepodařilo získat dostatečné množství DNA k fylogenetické analýze. Tyto nálezy jsou podpořeny malým počtem vzorků, které by bylo do budoucna dobré navýšit.

Larvální stádia motolice *Hemiurus levinseni* se nepodařilo nalézt a identifikovat. Z larválních stádií izolovaných z plže *Euspira pallida* ani jedna sekvence nepatřila tomuto druhu. Do budoucna bych navrhovala zaměřit se na jiný druh mezihostitele, a to zadožábrého plže *Cylichna alba*, který slouží jako mezihostitel právě tohoto druhu motolic (Krupenko et al. 2020). Tento druh plže byl již dříve nalezen v několika oblastech Svalbardu (Isbjórnhamna, Brepollen, Gashamna a Horsund) (Różycki 1992). Zároveň dle Ditricha (ústní sdělení) byly na lokalitě Petunia (zkoumaná v této práci) ulity plžů *Cylichna alba* nalézány, živí jedinci však nasbírání nebyli. Dle morfologické analýzy i druhu *H. levinseni* slouží *Sagitta* sp. jako paratenický mezihostitel. Ani v tomto případě se nepodařilo získat dostatečně kvalitní DNA k provedení doplňující fylogenetické analýzy, zároveň jsou nálezy podpořeny malým počtem vzorků, které by bylo do budoucna dobré navýšit.

Nejčastěji nalezenými druhy hemiuroudních motolic u ryb v předložené práci jsou *Derogenes varicus* a *Hemiurus levinseni*. Druh *Derogenes* sp. se vyznačuje nepřítomností exsomy, semenným váčkem v přední části těla, varlaty uloženými před vaječníkem a dělohou vyplňující především zadní část těla. Od morfologicky podobného druhu *Progonus* sp. se *Derogenes* sp. liší slepým zakončením střevních větví (Gibson 2002b). Druh *Hemiurus levinseni* se vyznačuje vroubkovaným povrchem těla, dvěma symetrickými vitelinními folikuly a poměrem přísavek 1:<1.1. Morfologicky se poněkud podobá příbuznému druhu *H. communis*, na rozdíl od něj mívá větší pohlavní žlázy a méně často evaginovanou exsomu (Gibson a Bray 1986).

Nálezy výše zmíněných druhů odpovídají i jejich distribuci. *Derogenes varicus* je velmi rozšířený druh, který byl zaznamenán u více než 100 druhů kostnatých ryb, zejména mořských a příležitostně sladkovodních. Vyskytuje se v mírných, subarktických, antarktických a subantarktických vodách (Skryabin 1957). Záznamy o výskytu pochází například z Barentsova moře (Zaika a Kolesnikov 1967), Severního moře (Reimer et al. 1971), Bílého moře (Kulachkova 1972), jižního Atlantiku (Montero 1974), Lamanšského průlivu (Øresland 1986) a Atlantském oceánu (Daponte et al. 2006). Druh *Hemiurus levinseni* se jeví

jako arkticko-boreální (Gibson a Bray 1979) s pravděpodobným cirkumpolárním rozšířením, které sahá jižně do Atlantiku a Tichého oceánu, zejména potom k chladnějším západním stranám těchto oceánů. Nález *H. levinseni* v ploutvence v předložené práci je prvním záznamem z této zeměpisné šířky. Weinstein (1972) během tří let (1965, 1966, a 1968) zaznamenal infekci *Sagitta elegans* motolicí *Hemiurus levinseni* v Zálivu svatého Vavřince, Kanada. Další nález pochází ze studie z oblasti Bílého moře v Rusku (Kulachkova 1972)

Čeď Cottidae, zastoupena dvěma druhy (*Myoxocephalus scorpius* a *Gymnocanthus tricuspis*) byla jednou ze tří studovaných čeledí rybích hostitelů. Molekulárně u nich byla prokázána přítomnost dvou druhů, fylogeneticky od sebe značně vzdálených druhů motolic, a to *Derogenes varicus* a *Steringophorus furciger* (Fellodistomidae). Nález motolice *Derogenes varicus* se shoduje s dalšími nálezy tohoto druhu z Barentsova moře, jako je například záznam z Kolského Zálivu (Kuklin et al. 2012). Nález motolice *Steringophorus furciger* se shoduje s nálezem Novotného, který zaznamenal infekci u vranky severní (*Gymnocanthus tricuspis*) ze zátoky Petunia na Svalbardu (Novotný 2019).

Druhou studovanou hostitelskou čeledí ryb byla čeď Gadidae zastoupená třemi druhy (*Gadus morhua*, *Boreogadus saida* a *Melanogrammus aeglefinus*). Za pomoci molekulárních metod byla u této čeledi prokázána infekce dvěma druhy motolic patřících do nadčeledi Hemiuroidea. Šlo o již dříve zmíněné, hojně se vyskytující druhy *Derogenes varicus* a *Hemiurus levinseni*. Nálezy odpovídají výsledkům z Barentsova moře (Hemmingsen et al. 1991, Sobecka 2011), které zaznamenávají poměrně vysoké prevalence těchto druhů u treskovitých ryb.

Čeď Pleuronectidae byla zastoupena pouze jedním druhem *Hippoglossoides platessoides*. Sekvence motolic získaných z tohoto hostitele byly identifikovány jako *Steringophorus furciger*. Jak je již výše zmíněno, tento druh byl na Svalbardu nalezen u vranky *Gymnocanthus tricuspis*. Výskyt této motolice u platýse bylo možné očekávat, jelikož již byla nalezena u jiné platýsovité ryby *Limanda limanda* (Bray et al. 1999). Sekvenci publikovanou v uvedené práci srovnal Novotný se sekvencí z vranky mořské (Novotný 2019). Distribuce *S. furciger* zároveň koreluje s distribucí plže *Buccinum undatum*, jednoho ze známých mezihostitelů.

Sekvence druhu *Derogenes varicus* byla získána i z motolic nalezených v parybě, rejnokovi *Amblyraja radiata*. Jde o první nález této motolice v rejnokovi. Gibson (1996) zaznamenal druh *D. varicus* v žralokovi ostrounu obecném (*Squalus acanthias*), který patří do nadřádu Squalea spojujícího žraloky a rejnoky. Hemiuroidním motolicím nejpříbuznějším druhem motolic nalezeným v parybách je druh *Otodistomum cestoides* (Hemiurata, Azygiidae) v kanadských vodách z paryby *Centroscyllium fabricii* (Gibson 1996) a rejnoka *Bathyraja eatonii* v antarktických vodách (Zdzitowiecki 1991).

V rámci budoucí práce by bylo vhodné zaměřit se na zadožábřého plže *Cylichna alba*, jako možného mezihostitele hemiuroidních motolic na Svalbardu, zaměnit sekvenační primery a kít na čištění PCR produktů a celkově získat větší množství dat k porovnání morfologických a fylogenetických analýz. Další analýzy dospělců i larválních stádií a jejich porovnání přispějí k poznání životních cyklů příslušníků této dosud málo prostudované nadčeledi.

6. Závěr

1. U vranky *Myoxocephalus scorpius* (Cottidae) byla prokázána infekce jedním druhem motolic čeledi Derogenidae (*Derogenes varicus*).
2. Na základě genu 28S rDNA byla potvrzena nákaza vranky *Gymnocanthus tricuspis* (Cottidae) motolicí *Steringophorus furciger* (Fellodistomidae).
3. Z motolic izolovaných z ryb *Boreogadus saida*, *Gadus morhua* a *Melanogrammus aeglefinus* (Gadidae) byly získány sekvence genu 28S rDNA patřící dvěma druhům hemiuroidních motolic, a to *Derogenes varicus* a *Hemiurus levinseni*.
4. Infekce tresky *Boreogadus saida* motolicí *Hemiurus levinseni* byla také potvrzena pomocí morfologické analýzy.
5. U platýsů *Hippoglossoides platessoides* (Pleuronectidae) byla pomocí molekulárních analýz prokázána přítomnost motolice *Steringophorus furciger* (Fellodistomidae).
6. U rejnoka *Amblyraja radiata* byla na základě genu 28S rDNA prokázána infekce motolicí *Derogenes varicus* (Derogenidae). Jde o první záznam v tomto hostiteli.
7. Molekulární analýzou se podařilo prokázat ploutvenky *Sagitta* sp. a plže *Euspira pallida* jako mezihostitele motolice *Derogenes varicus* na Svalbardu.

7. Literatura

- Ankel W.E.** (1936). Prosobranchia-Die Tierwelt der Nordund Ostsee. In: G. Grimpe, u. E. Wagler. Akademische Verlagsgesellschaft. Germany. 240pp.
- Atopkin D.M., Besprozvannykh V.V., Ha N.V., Ngo H.D., Tang N.V., Yu Beloded A.** (2017). Phylogenetic relationships of Hemiuridae (Digenea: Hemiuroidea) with new morphometric and molecular data of *Aphanurus mugilis* Tang, 1981 (Aphanurinae) from mullet fish of Vietnam. *Parasitology International*. 66:824–830.
- Besprozvannykh V.V., Atopkin D.M., Ngo H.D., Ermolenko A.V., Van Ha N., Van Tang N., Beloded A.Y.U.** (2017). Morphometric and molecular analyses of two digenean species in mugilid fish: *Lecithaster mugilis* Yamaguti, 1970 from Vietnam and *L. sudzuhensis* n. sp. from southern Russian Far East. *Journal of Helminthology*. 91:326–331.
- Bilqees F.M., Haseeb M.F., Khalil B., Khan A.** (2009). *Microvesicula otolithi* n. gen., n. sp. (Trematoda: Hemiuridae: Lecithastirinae) from the fish *Otolithus argenteus* (C.V.) of Karachi coast, Pakistan. *International Journal of Biology and Biotechnology*. 6:99–101.
- Blacker R.W.** (1957). Benthic animals as indicators of hydrographic conditions and climatic change in Svalbard waters. *Fisheries Investigations*. 20:1–4.
- Blair D., Bray R.A., Barker S.C.** (1998). Molecules and morphology in phylogenetic studies of the Hemiuroidea (Digenea:Trematoda:Platyhelminthes). *Molecular Phylogenetics and Evolution*. 9:15–25.
- Brand M., Fischer P.** (2016). Species composition and abundance of the shallow water fish community of Kongsfjorden, Svalbard. *Polar Biology*. 39:2155–2167.
- Bray R.A., Campbell R.A.** (1995). Fellodistomidae and Zoogonidae (Digenea) of deepsea fishes of the NW Atlantic. *Systematic Parasitology*. 31:201–213.
- Bray R.A., Gibson D.I.** (1986). The Zoogonidae (Digenea) of fishes from the northeast Atlantic. *Bulletin of British Museum of Natural History. Zoology*. 51:127–206.
- Bray R.A., Nahhas F.M.** (2002). *Synaptobothrioides sardinellae* n. g., n. sp. (Digenea: Hemiuridae) from the blacktip sardinella *Sardinella melanura* (Clupeidae) from Fiji and records of two other hemiuroids in Fijian waters. *Systematic Parasitology*. 52:227–230.

- Bray R.H., Henderson R.E., Herniou E.A., Littlewood D.T., Williams B.** (1999). Digenean parasites of deepsea teleosts: a review and case studies of intrageneric phylogenies. *Parasitology*. 119:125–144.
- Burse C.R., Goldberg S.R., Kraus F.** (2008). *Saurokoilophilia kinsellai* n. gen., n. sp. (Trematoda: Hemiuridae) in the lizard *Papuascincus stanleyanus* (Sauria: Scincidae) from Papua New Guinea. *Comparative Parasitology*. 75:24–27.
- Calhoun D.M., Curran S.S., Pulis E.E., Provaznik J.M., Franks J.S.** (2013). *Hirudinella ventricosa* (Pallas, 1774) Baird, 1853 represents a species complex based on ribosomal DNA. *Systematic Parasitology*. 86:197–208.
- Claxton A.T., Fuehring A.D., Andres M.J., Moncrief T.D., Curran S.S.** (2017). Parasites of the vermilion snapper, *Rhomboplites aurorubens* (Cuvier), from the Western Atlantic Ocean. *Comparative Parasitology*. 84:1–14.
- Combes C., Fournier A., Moné H., Théron A.** (1994). Behaviours in trematode cercariae that enhance parasite transmission: Patterns and processes. *Parasitology*. 109:3–13.
- Craig P.C., Griffiths W.B., Haldorson, L., McElderry H.** (1982). Ecological studies of Arctic cod (*Boreogadus saida*) in Beaufort Sea coastal waters. *Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences*. 39: 395–406.
- Cribb T.H., Bray R.A., Chisholm L.A.** (2002). Invited review diversity in the Monogenea and Digenea: Does lifestyle matter. *International Journal for Parasitology*. 32:321–328.
- Cui X., Cooper L.W., Grebmeier J.M.** (2012). Feeding ecology of dominant groundfish in the northern Bering Sea. *Polar Biology*. 35:1407–1419.
- Čihař J.** (1996). *Mořské ryby v evropských vodách: Moře: Mořské rybaření* / Fritz T., Claus M, Rebourgeon D. 1. vyd. Ikar. Knižní klub. Praha. 287pp.
- Daase M., Eiane K.** (2007). Mesozooplankton distribution in northern Svalbard waters in relation to hydrography. *Polar Biology*. 30:969–981.
- Daponte M., Gil de Pertierra A., Núñez M., Palmieri M.** (2006). Parasite infections (Trematoda, Digenea) of *Sagitta friderici* (Chaetognatha) from the southwestern Atlantic Ocean: Prevalence and distribution. *Diseases of aquatic organisms*. 71:225–32.
- Gibson D.I., Bray R.A.** (1979). The Hemiuroidea: terminology, systematic and evolution, *Bulletin of the British Museum (Natural History)*. Zoology series. 36:35–146.

- Gibson D.I., Bray R.A.** (1986). The Hemiuridae (Digenea) of fishes from the north-east Atlantic. *Bulletin of the British Museum (Natural History). Zoology series.* 51:1–125.
- Gibson D.I.** (1996). Trematoda. In: L. Margolis and Z. Kabata (Eds.), *Guide to the Parasites of Fishes of Canada, Part IV.* NRC Research Press, Canadian Special Publication of Fisheries and Aquatic Sciences. Ottawa. 373pp.
- Gibson D.I.** (2002a). Family Hemiuridae Looss, 1899. In Gibson, D. I., Jones, A. & Bray, R. A. (eds), *Keys to the Trematoda, vol. 1.* Wallingford: CAB International and the Natural History Museum. 37:305–340.
- Gibson D.I.** (2002b). Family Derogenidae Nicoll, 1910. In Gibson, D. I., Jones, A. & Bray, R. A. (eds). *Keys to the Trematoda, vol. 1.* Wallingford: CAB International and the Natural History Museum. 37:351–368.
- Gulliksen B., Svensen E.** (2004). *Svalbard and Life in Polar Ocean.* Kristiansund. Komforlag a/s. Norway. 160pp.
- Hájková Š.** (2019). Motolice *Aporocotyle simplex* ze svalbardských platýzů *Hippoglossoides platessoides*. Č. Budějovice, Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích. Zdravotně sociální fakulta. Česká republika. 50pp.
- Hanssen-Bauer I., Førland E.J., Hisdal H., Mayer S., Sandø A.B., Sorteberg, A.** (2018). *Climate in Svalbard 2100 a knowledge base for climate adaptation (No. 1).* The Norwegian Centre for Climate Services. Norway. 105pp.
- Hemmingsen W., Lombardo I., MacKenzie K.** (1991). Parasites as biological tags for cod, *Gadus morhua* L., in northern Norway: a pilot study. *Fisheries Research.* 12:365–373.
- Hoberg E.P., Cook J., Galbreath K.E., Kutz S.J.** (2003). Arctic biodiversity: From discovery to faunal baselines; Revealing the history of a dynamic ecosystem. *Journal of Parasitology.* 89:84–95.
- Hoberg E.P., Elkin B.T., Jenkins E.J., Kutz S. J., Polley L., Veitch A. M.** (2008). Integrated approaches and empirical models for the investigation of parasitic diseases in northern wildlife. *Emerging Infectious Diseases.* 14:10–17.
- Hoberg E.P.** (2010). Invasive processes, mosaics, and the structure of helminth parasite faunas. *Revue Scientifique et Technique, International Office of Epizootics.* 29:255–272.

- Hop H., Pearson T., Bischof K., Cochrane S., di Prisco G., Eiane K., Falk-Petersen S., Gabrielsen G.W., Gerland S., Gulliksen B., Hegseth E. N., Kendall M., Kovacs K.M., Kovaltchouk N.A., Kowalczyk M., Kwasniewski S., Leakey R. J.G., Lønne O.J., Mehlum F., Papucci C., Poltermann M., Voronkov A.Y., Zajaczkowski M., Wängberg S.Å., Weslawski J.M., Wiencke C., Wik-tor J., Wlodarska-Lydersen C.** (2002). The marine ecosystem of Kongsfjorden, Svalbard, Polar Research. 21:167–208.
- Hop H., Tonn W.M., Welch H.E.** (1997). Bioenergetics of Arctic cod (*Boreogadus saida*) at low temperatures. Canadian Journal of Fisheries and Aquatic Sciences. 54:1772–1784.
- 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.
- Hunninen A.V., Cable R.M.** (1943). The life history of *Lecithaster confusus* Odhner (Trematoda: Hemiuridae). Journal of Parasitology. 29:71–79.
- Cheng T.C.** (1986). General Parasitology, 2nd edition. Academic Press College Division. Orlando. 827pp.
- Iversen T.** (1934). Some observations on Cod in Northern Waters. Preliminary report Fiskeridirektoratets Skrifter, Serie Havundersøkelser. 4:1–35.
- Jakobsen T., Ozhigin V.** (2011). The Barents Sea – Ecosystem, Resources, Management. Half A Century of Russian-Norwegian Cooperation, Tapir Academic Press, Trondheim. Norway. 825pp.
- Johannesen E, Dolgov A.V., Fossheim M., Høines Å.S.** (2012). Demersal fish assemblages and spatial diversity patterns in the Arctic-Atlantic transition zone in the Barents Sea. PLOS ONE. 7:34924.
- Jungblut S., Dalby M., Liebich V.** (2018). YOUMARES 8–Oceans Across Boundaries: Learning from each other Proceedings of the 2017 conference for YOUng MARine RESearchers in Kiel. Germany. 251pp.
- Justo M.C., Kohn A.** (2012). A new genus and species of the Didymozoidae (Digenea) from the skipjack tuna *Katsuwonus pelamis* (L.) (Scombridae). Systematic Parasitology. 81:195–201.
- Kabata Z.** (1985). Parasites and diseases of fish cultured in the tropics. Taylor and Francis. London. 325pp.

- Katoh K., Standley D. M.** (2013). MAFFT multiple sequence alignment software version 7: improvements in performance and usability. *Molecular biology and evolution*. 30:772–780.
- Kohn A., Cohen S., Fernandes B.M.M.** (2007). South American Trematodes parasites of fishes. Conselho Nacional de Desenvolvimento Científico e Tecnológico. Brazil. 318pp.
- Køie, M.** (1969). On the endoparasites of *Buccinum undatum* L. with special reference to the trematodes, Ophelia. 6:251–279.
- Køie M.** (1979). On the morphology and life-history of *Monascus filiformis* (Rudolphi 1819) Looss, 1907 and *Steringophorus furciger* (Olson 1868) Odhner 1905 (Trematoda, Fellodistomidae). *Ophelia*. 18:113–132.
- Køie, M.** (1985). On the morphology and life-history of *Lepidapedon elongatum* (Lebour, 1908) Nicoll, 1910 (Trematoda, Lepocreadiidae). *Ophelia*. 24:135–153.
- Køie M.** (1989). On the morphology and life history of *Lecithaster gibbosus* (Rudolphi, 1802) Lühe, 1901 (Digenea, Hemiuroidea). *Parasitology Research*. 75:361–367.
- Køie, M.** (1990a.). A new cystophorous cercaria in *Lunatia pallida* (Broderip & Sowerby) (Naticidae): Possibly the cercaria of *Hemiurus levinseni* Odhner, 1905 (Digenea, hemiuridae). *Ophelia*. 31:77–84
- Køie, M.** (1990b.). On the morphology and life-history of *Hemiurus luehei* Odhner, 1905 (Digenea, Hemiuridae). *Journal of Helminthology*. 64:193–202.
- Køie M.** (1995). The life-cycle and biology of *Hemiurus communis* Odhner, 1905 (Digenea, Hemiuridae). *Parasite*. 2:195–202.
- Køie M., Karlsbakk E., Nylund A.** (2002). A cystophorous cercaria and metacercaria in *Antalis entalis* (L.) (Mollusca, Scaphopoda) in Norwegian waters, the larval stage of *Lecithophyllum botryophorum* (Olsson, 1868) (Digenea, Lecithasteridae). *Sarsia*. 87:302–311.
- Krupenko D., Gonchar A., Krapivin V., Kremnev G., Uryadova A.** (2020). New data on life cycles for three species of Fellodistomidae (Digenea) in the White Sea. *Journal of Helminthology*. 94:255–263.
- Krupenko D.Yu., Gonchar A.G., Kremnev G.A., Uryadova A.A.** (2020). On the life cycle of *Hemiurus levinseni* Odhner, 1905 (Digenea: Hemiuridae). *Invertebrate Zoology*. 17:205–218.

- Kuklin V., Kuklina M., Kisova N.** (2012). Species composition and seasonal dynamics of the helminthofauna of the bullroak (*Myoxocephalus scorpius*, Cottidae) from Kola Bay of the Barents Sea. *Russian Journal of Zoology*. 91:131–137.
- Kulachkova V.G.** (1972). Helminths of *Sagitta elegans* Verrill from the White Sea. *Parazitologiya*. 6:297–304.
- Kutz S. J., Ducrocq J., Elkin B., Jenkins E. J., Lair S., Polley L., Veitch A.M.** (2009). The arctic as a model for anticipating, preventing, and mitigating climate change impacts on host-parasite interactions. *Veterinary Parasitology*. 163:217–228.
- Leon-Regagnon V., Hebert P., Hogg I.** (2018). The distribution and abundance of parasites in harvested wildlife from the Canadian North: A review. *Polar Knowledge: Aqhaliat Report*. 4:20–13.
- Madhavi R., Bray R.** (2018). *Digenetic Trematodes of Indian Marine Fishes*. Springer. Netherland. 704pp.
- Manter H.W.** (1966). Parasites of fishes as biological indicators of recent and ancient conditions. In: J.E. McCauley (Ed.), *Host-Parasite Relationships*. Oregon State University Press, Oregon. 59–71.
- Manter H.W.** (1970). The terminology and occurrence of certain structures of digenetic trematodes, with special reference to the Hemiuroidea. In: Singh, K.S. & Tandan, B.K. H.D. *Srivastava Commemoration Volume*. Izatnagar. 27–33.
- Markell E.K., John D. T., Krotoski W.A.** (1999). *Markell & Vogle's Medical Parasitology* 8th Edition, Saunders. 501pp.
- Marlétaz F., Goto, T., Peijnenburg K., Rokhsar, D., Satoh N.** (2019). A New Spiralian Phylogeny Places the Enigmatic Arrow Worms among Gnathiferans. *Current Biology*. 29:312-318.
- Marzoug D., Rim M., Boutiba Z., Georgieva S., Kostadinova A., Perez-del-Olmo A.** (2014). A new species of *Saturnius manter*, 1969 (Digenea: Hemiuridae) from *Mediterranean mullet* (Teleostei: Mugilidae). *Systematic Parasitology*. 87:127–134.
- Matthews B., Matthews R.** (1988). The tegument in Hemiuridae (Digenea: Hemiuroidea): structure and function in the adult. *Journal of Helminthology*. 62:305–316.

- Misund O., Falck E., Gjørseter H., Heggland K., Lønne O., Skogseth R., Sundet J., Watne J.** (2016). Norwegian fisheries in the Svalbard zone since 1980. Regulations, profitability and warming waters affect landings. *Polar Science*. 10:312–322.
- Montero R.** (1974). Primer hallezgo de metacercarias parasitando Chaetognatha en el Atlantico. *Revista de Biología del Uruguay*. 9:31–35.
- Naisira K., Bilqees F.M., Huma S., Khatoon N., Sadia H.** (1998). Histopathological changes caused by trematode *Stomachicola muraenesocis* (Yamaguti 1934) in the stomach of fish *Muraenesox cinereus* (Forsk 1775). *Proceedings of Pakistan Congress of Zoology*. 18:181–186.
- Nguyen L. Minh B., Q., Schmidh T., H., A., von Haeseler A.** (2015). IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum likelihood phylogenies, *Molecular biology and evolution*. 32:268–274.
- Noble E. R.** (1971). *Parasitology: the biology of animal parasites*. 6th ed. Philadelphia: Lea. 617pp.
- Novotný D.** (2019). Životní cyklus a diverzita motolic čeledi Opecoelidae na Svalbardu. České Budějovice. Bakalářská práce. Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích. 50pp.
- Olson P., Bray, R., Cribb T., Littlewood D.T.J., Tkach, V.** (2003). Phylogeny and classification of the Digenea (Platyhelminthes: Trematoda). *International journal for parasitology*. 33:733–55.
- Øresland V.** (1986). Parasites of the chaetognath *Sagitta setosa* in the western English Channel. *Marine Biology*. 92:87–91.
- Orlova E.L., Dolgov A., Rudneva G.B., Oganin I.A., Konstantinova L.L.** (2009). Trophic relations of capelin *Mallotus villosus* and polar cod *Boreogadus saida* in the Barents Sea as a factor of impact on the ecosystem. *Deep-Sea Research*. 56:2054–2067.
- Palreud R., Brattegard T., Gulliksen B., Vader W.** (2004). The marine macroorganisms in Svalbard waters. Norwegian Polar Institute, Skrifter. 201:1–56.
- Pankov P., Balbuena J.A., Blasco-Costa I., Gibson D.I., Kostadinova A., Webster B.L., Littlewood D.T.J.** (2006). *Robinia aurata* n. g., n. sp. (Digenea: Hemiuridae) from the mugilid *Liza aurata* with a molecular confirmation of its position within the Hemiuroidea. *Parasitology*. 133:217–227.

Peréz-Ponce de Leon G., Anglade T., Randhawa H.S. (2018). A new species of *Steringotrema* Odhner, 1911 (Trematoda: Fellodistomidae) from the New Zealand sole *Peltorhamphus novaezeelandiae* Günther off Kaka point in the Catlins, South Island, New Zealand, *Systematic Parasitology*. 95:213–222.

Pethon P. (1994). *Aschehougs Store Fiskebok*. Oslo. 447pp.

Petkeviciute R., Stunžėnas V., Stanevičiūtė G. (2014). Differentiation of European freshwater bucephalids (Digenea: Bucephalidae) based on karyotypes and DNA sequences. *Systematic parasitology*. 87:199–212.

Rausch R.L. (1974). Tropical problems in the Arctic: Infectious and parasitic diseases, a common denominator. In *Industry and tropical health VIII*, Pelizzon, R. (ed.), Boston: Harvard School of Public Health, Cambridge. 7:63–70.

Reimer L.W., Berger Ch., Heuer B., Lainka H., Rosenthal I., Scharnweber I. (1971). On the distribution of larvae of helminths in plankton animals of the North Sea, *Parazitologija*. 5:542–550.

Robins C.R., Ray G.C. (1986). *A field guide to Atlantic coast fishes of North America*. Houghton Mifflin Company. Boston. 354pp.

Rolbieckii L., Walkusz W. (2005). *Derogenes varicus* (Müller, 1784) from chaetognaths (Chaetognatha) caught in Kongsfjorden, West Spitsbergen. *Oceanological and Hydrobiological Studies*. 34:131–134.

Różycki O. (1993). Shallow-water molluscs of Isfjorden (West Spitsbergen, Svalbard). *Polish polar research*. 14:55–64.

Ryšavý B. (1989). *Základy parazitologie*. 1. vyd. Státní pedagogické nakladatelství. Praha. 215pp.

Sakshaug E., Johnsen G., Kovacs K. (2009). *Ecosystem Barents Sea*. Tapir Academic Press, Trondheim. Norway. 587pp.

Scott W.B., Scott M.G. (1988). *Atlantic fishes of Canada*. University of Toronto Press, Scholarly Publishing Division. Canada. 730pp.

- Schrandt M.N., Andres M.J., Powers S.P., Overstreet R.M.** (2016). Novel infection site and ecology of cryptic *Didymocystis* sp. (Trematoda) in the fish *Scomberomorus maculatus*. *Journal of Parasitology*. 102:297–305
- Skryabin K.I., Gushanskaya J.K.** (1957). Suborder Hemiurata (Markevitsch, 1951) in Trematody zhivotnykh i cheloviekaj Osnovy trematodologii. Izdatel'stvo Akademii nauk SSSR. 3:725–779.
- Smrž J.** (2013). *Základy biologie, ekologie a systému bezobratlých živočichů*. Charles University in Prague, Karolinum Press. Prague. 194pp.
- Sobecka E., Antoszek A., Łuczak E., Wiecek B.** (2011). Parasite community structure of cod from Bear Island (Barents Sea) and Pomeranian Bay (Baltic Sea). *Polish Polar Research*. 32:253–262.
- Sokolov S.G., Atopkin D.M., Gordeev., Urabe M.** (2018). Phylogenetic analysis of the superfamily Hemiuroidea (Platyhelminthes, Neodermata: Trematoda) based on partial 28S rDNA sequences. *Parasitology*. 146:596–603.
- Stange R.** (2018). *Spitsbergen-Svalbard: The Complete Guidebook Around the Arctic Archipelago: Natural and Human History: Routes and Regions: Useful and Important Information*. Stange. 608pp.
- Stunkard H.W.** (1980). The morphology, life history, and systematic relations of *Tubulovesicula pinguis* (Linton, 1940) Manter, 1947 (Trematoda, Hemiuridae). *Biological Bulletin, Woods Hole*. 59:737–751.
- Thomas L.J.** (1939). Life cycle of a fluke *Halipegus eccentricus* n. sp. found in the ears of frogs. *Journal of Parasitology*. 25:207–221.
- Umbreit A.** (2005). *Spitsbergen: Svalbard, Franz Josef Land, Jan Mayen*. 3. edition. Chalfont St. Peter, Bucks. Bradt Publications. Norway. 288pp.
- Urabe M., Shimazu T.** (2013). *Allogenarchopsis* gen. nov. (Digenea, Derogenidae, Halipeginae) parasitic in the intestine of freshwater fishes: a molecular and morphological study of adult and cercarial forms. *Bulletin of the National Museum of Nature and Science*. 39:119–130.
- Volf P., Horák P.** (2007). *Paraziti a jejich biologie*, Triton. Praha, 320pp.

Walsh S.J. (1996). Ecology, resource surveys and management of Long Rough Dab (American Plaice), *Hippoglossoides platessoides*, (Fabricius) in the Barents Sea and the Newfoundland-Labrador shelf. Department of Mathematics and Natural Science, University of Bergen. Norway. 185pp.

Wardle W.J. (1975). *Cercaria anadarae* sp. n. parasitizing a bivalve mollusc, *Anadara brasiliiana* (Lamarck), from the northwest Gulf of Mexico. Journal of Parasitology. 61:1048–1049.

Wee, N. Q. X., Cribb, T. H., Bray, R. A., Cutmore, S. C. (2017). Two known and one new species of *Proctoeces* from Australian teleosts: Variable host-specificity for closely related species identified through multi-locus molecular data. Parasitology International. 66:16–26.

Weinstein M. (1972). Studies on the relationship between *Sagitta elegans* Verrill and its endoparasites in the southwestern Gulf of St. Lawrence. PhD thesis, Dalhousie University. Halifax. 202pp.

Wetzel E., Esch. (1997). Infrapopulation Dynamics of *Halipegus occidualis* and *Halipegus eccentricus* (Digenea: Hemiuridae): Temporal Changes within Individual Hosts. The Journal of parasitology. 83:1019–24.

Zaika V.E., Kolesnikov A.N. (1967). On mass infection of *Sagitta elegans arctica* Aurivillius by sexually mature trematodes. Zoologicheskii Zhurnal. 46:121–1124.

Zdzitowiecki K. (1991). Antarctic Acanthocephala. In J. H. Wägele and J. Sieg (eds). Synopses of the Antarctic benthos, 3, Koeltz Scientific Books. Koenigstein. 116pp.

Internetové zdroje:

Norsk polarinstitutt (Online) TopoSvalbard (cit. 3.9.2020).

Dostupné z: <https://toposvalbard.npolar.no/>

Google (Online) Googlemaps (cit. 30.11.2020).

Dostupné z: <https://www.google.cz/maps/place/Svalbard>

National Center for Biotechnology Information (Online) GenBank (cit. 25.11.2020).

Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>