

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta

Bakalářská práce



Diverzita, hostitelská specifičnost a fylogenetické vztahy tasemnic rodu *Monobothrioides* (Cestoda: Caryophyllidea), parazitů sumcovitých ryb Afriky

KATEŘINA HRUBÁ



Školitel Prof. RNDr. **Tomáš Scholz**, CSc.

České Budějovice

2012

Bakalářská práce

Hrubá K., 2012: Diverzita, hostitelská specifita a fylogenetické vztahy tasemnic rodu *Monobothrioides* (Cestoda: Caryophyllidea), parazitů sumcovitých ryb Afriky.

[Diversity, host specificity and phylogenetic relationships of tapeworms of the genus *Monobothrioides* (Cestoda: Caryophyllidea), parasites of catfishes in Africa. Bc. Thesis, in Czech.] – 63 pp., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace: Taxonomic and morphological evaluation of tapeworms of the genus *Monobothrioides* (Cestoda: Caryophyllidea) and their hosts, catfishes of the genera *Auchenoglanis* and *Clarias* from Africa, provided new data on four species of the genus *Monobothrioides*, two of them being new for science. Based on a phylogenetic analysis, relationships between the species of *Monobothrioides* were assessed.

Financování: Projekty laboratoře helmintologie Parazitologického ústavu BC AV ČR, v.v.i. v Českých Budějovicích podporované Grantovou agenturou ČR: „Revize monozoických (nesegmentovaných) tasemnic řádu Caryophyllidea: klíč k poznání evoluce tasemnic?“ (524/08/0885; řešitel T. Scholz) a „ECIP – Evropské centrum ichtyoparazitologie“ (P505/12/G112; řešitel M. Gelnar, spoluřešitel T. Scholz).

Prohlašuji, že svoji 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 bakalářské 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.

V Českých Budějovicích, dne 07. 12. 2012

.....

PODĚKOVÁNÍ

Chtěla bych poděkovat svému školiteli Tomáši Scholzovi za odborné vedení a zasvěcení do tématu mé bakalářské práce. Mé díky také patří Anirbanu Ashovi a Blance Škoríkové, kteří mi pomohli při přípravě materiálu na SEM, dále Evě Bazsalovicsové za pomoc při molekulární analýze, Romanu Kuchtovi za pomoc při zpracování textu, Janu Brabcovi za odbornou konzultaci a pomoc při studiu fylogenetických vztahů a sestavení fylogenetického stromu a Martině Borovkové za technickou pomoc.

OBSAH:

1. ÚVOD	1
2. CÍLE PRÁCE.....	1
3. LITERÁRNÍ PŘEHLED	2
3.1 CESTODA – tasemnice	2
3.1.1 Základní charakteristika	2
3.1.2 Morfologie	3
3.1.3 Vývoj	7
3.2 ŘÁD CARYOPHYLLIDEA van Beneden in Carus, 1863	9
3.2.1 Morfologie	10
3.2.2 Vývoj	13
3.2.3 Taxonomie	14
3.3 ROD <i>MONOBOTHRIOIDES</i> Fuhrmann et Baer, 1925.....	16
3.3.1 Taxonomické znaky druhů rodu <i>Monobothrioides</i>	16
3.3.2 <i>Monobothrioides chalmersius</i> (Woodland, 1924).....	16
3.3.3 <i>Monobothrioides cunningtoni</i> Fuhrmann et Baer, 1925.....	17
3.3.4 <i>Monobothrioides woodlandi</i> Mackiewicz et Beverley-Burton, 1967	18
3.3.5 <i>Monobothrioides tchadensis</i> Troncy, 1978	19
3.3.6 Identifikační kritéria druhů rodu <i>Monobothrioides</i>	20
3.4 ŘÁD SILURIFORMES	21
3.4.1 Clariidae	21
3.4.2 Claroteidae.....	24
3.4.3 Heteropneustidae	25
3.5 ŘÁD CYPRINIFORMES (Cyprinidae).....	26
4. MATERIÁL A METODIKA.....	28
4.1 Morfologicko-taxonomické zpracování dat.....	28
4.2 Molekulární data	29
4.2.1 Izolace DNA	29
4.2.2 Polymerázová řetězová reakce (PCR)	30

4.2.3	Agarózová elektroforéza.....	30
4.3	Příprava vzorků na skenovací elektronový mikroskop (SEM).....	30
5.	VÝSLEDKY	34
5.1	Druhové složení druhů rodu <i>Monobothrioides</i>	34
5.2	<i>MONOBOTHRIOIDES CHALMERSIUS</i> (Woodland, 1924).....	34
5.3	<i>MONOBOTHRIOIDES CUNNINGTONI</i> Fuhrmann et Baer, 1925	37
5.4	<i>MONOBOTHRIOIDES WOODLANDI</i> Mackiewicz et Beverley-Burton, 1967	38
5.5	<i>MONOBOTHRIOIDES TCHADENSIS</i> Troncy, 1975.....	38
5.6	<i>MONOBOTHRIOIDES SP. 1</i>	43
5.7	<i>MONOBOTHRIOIDES SP. 2</i>	46
5.8	Fylogenetické vztahy druhů rodu <i>Monobothrioides</i>	51
6.	DISKUZE	52
6.1	Druhové složení rodu.....	52
6.2	Spektrum definitivních hostitelů.....	54
6.3	Fylogenetické vztahy druhů rodu <i>Monobothrioides</i>	55
7.	ZÁVĚR	57
8.	POUŽITÁ LITERATURA	58

1. ÚVOD

Tasemnice řádu Caryophyllidea (Platyhelminthes: Eucestoda) jsou významní endoparaziti sladkovodních ryb v Africe, především sumců rodů *Auchenoglanis* a *Clarias* z čeledí Claridae a Claroteidae (Siluriformes) (Schmidt, 1986). Tento řád monozoických tasemnic zahrnuje i rod *Monobothrioides* Fuhrmann and Baer, 1925, který je charakteristický velmi variabilní morfologií skolexu, specifickým uspořádáním vitelinních folikulů a varlat a dobře vyvinutým cirovým vakem (Fuhrmann a Baer, 1925; Mackiewicz, 1994). Tato bakalářská práce se zaměřuje na zástupce zmíněného rodu parazitujícího ve sladkovodních rybách řádů Siluriformes a Cypriniformes v Africe (Mackiewicz, 2003). Tito paraziti byli studováni pomocí morfologických a molekulárních metod na základě nově získaného materiálu. I přes široké rozšíření zástupců této skupiny, kritické zhodnocení jejich druhového složení hostitelské specifičnosti a fylogenetických vztahů dosud chybí.

2. CÍLE PRÁCE

- I. Pomocí literární rešerše získat údaje o dosud popsáných druzích *Monobothrioides*, jejich hostitelích a rozšíření.

- II. Získat údaje o morfologii nově získaného materiálu tasemnic rodu *Monobothrioides* z Afriky (Egypt, Keňa, Kongo, Súdán) a provést jejich srovnání s dosud popsány druhy rodu.

- III. Na základě molekulárních údajů (sekvence D1–D3 28S rDNA) posoudit příbuzenské vztahy jednotlivých druhů.

3. LITERÁRNÍ PŘEHLED

3.1 CESTODA – tasemnice

3.1.1 Základní charakteristika

Tasemnice (Cestoda) představují vysoce diverzifikovanou, výlučně parazitickou skupinu ploštěnců (Platyhelminthes: Neodermata) lékařského a veterinárního významu, unikátní morfologie a se složitými životními cykly (Littlewood a kol., 2001). Jako dospělci cizopasí v zažívacím traktu všech skupin obratlovců a společně se zástupci skupin (často označovaných jako třídy) Monogenea a Trematoda tvoří skupinu Neodermata. S 5 000 popsány druhy v 740 rodech představují tasemnice druhou největší skupinu v rámci neodermat a ve skutečnosti i celého kmenu Platyhelminthes (Georgiev a Vaucher, 2003; Waeschenbach a kol., 2012).

Tasemnice byly doposud popsány z prakticky všech skupin obratlovců, přičemž nejvyšší počet řádů tasemnic cizopasí u paryb a ryb, zatímco nejvyšší počet druhů u ptáků a savců (Schmidt, 1986). Až na výjimečné případy jde o parazity, kteří mají vícehostitelské životní cykly a místem lokalizace dospělců je trávicí soustava obratlovců (Wardle a McLeod, 1952). Druhová a morfologická rozmanitost tasemnic je obrovská. Je mnoho druhů potencionálních hostitelů, kteří byly intenzivně studováni, ale stále ještě existuje obrovské množství hostitelů, které doposud nikdy prozkoumání nebyli (Schmidt, 1986). Unikátní morfologie tasemnic v důsledku jejich extrémního přizpůsobení k parazitismu (např. absence trávicí trubice, strobilární růst, asexuální množení u některých druhů) z nich dělá skupinu významnou také z hlediska studia biochemie, embryologie, fyziologie a molekulární biologie. Některé z nich jsou proto významnými modelovými organismy, které jsou nezbytné pro studium řady biologických jevů (Smyth a McManus, 1989).

Třída Cestoda je dnes považována za monofyletickou skupinu. Většina klasifikačních členění tasemnice na tzv. evolučně starší Cestodaria, zahrnující monozoické bazální řády Gyrocotylidea a Amphilinidea, které mají larvu s deseti háčky (lykofora nebo dekant) a tzv. vlastní tasemnice, Eucestoda, sdružující většinou zástupce s článkovaným tělem (strobilou) s výjimkou řádů Caryophyllidea a Spathebothriidea (Khalil a kol., 1994), které jsou unikátní vajíčkem opatřeným vaječným obalem, embryoforem bez cílů, absencí protonefridií u hexakanta a polylecitalními vajíčky (Beveridge, 2001). Velikost tasemnic je velmi různorodá, nejmenší druhy měří kolem několika milimetrů a největší až desítky metrů (Volf a kol., 2007).

3.1.2 Morfologie

Nejcharakterističtějšími morfologickými znaky tasemnic jsou hlavička (skolex) s přichycovacími orgány a strobila (obr. 1). Strobila (segmentované tělo tasemnice) je unikátní struktura mezi mnohobuněčnými živočichy (Metazoa). Obvykle se skládá ze samostatných reprodukčních orgánů obou pohlaví. Tasemnice s mnoha proglotidy (obr. 1) se označují jako polyzoické (zástupci Eucestoda), zatímco tasemnice s pouze jedním pohlavním komplexem (či jednou proglotidou) se označují jako monozoické (zástupci řádu Caryophyllidea). Pokud se nedozrálé články odtrhnou od strobily a pohlavně dozrávají mimo mateřskou strobilu s hlavičkou, tak se tento proces nazývá apolýza. U některých druhů, např. u druhů rodu *Diphyllobothrium*, jsou vajíčka uvolňována děložním pórem (pseudopolýza), nebo prostřednictvím štěrbin v segmentu, jak je tomu např. u řádu Trypanorhyncha (anapolýza). Pokud předcházející článek překrývá svým okrajem článek následující strobila, nazývá se kraspedotní, pokud tomu tak není a řazení je jednoduché, tak se nazývá akraspedotní (Roberts a Janovy, 2006; Volf a kol., 2007). Většina dosud známých tasemnic jsou hermafroditi (s výjimkou čeledí Dioecocestidae a Dioecotaeniidae) a k oplození může dojít i mezi jednotlivými články těla stejného jedince (Ryzhikov a kol., 1985; Khalil a kol., 1994).

U tasemnic existuje velmi široké spektrum různých přichycovacích orgánů, které lze rozdělit na pět základních typů. U evolučně starších skupin (řády Caryophyllidea a Spathebothridea) nebo u tasemnic, které žijí ve střevě definitivního hostitele krátkou dobu (*Ligula*, *Schistocephalus*), jsou přichycovací orgány vyvinuty velmi slabě a jsou tvořeny mělkými zářezy nebo rýhami (významnou roli hraje také přichycení produkty četných žlázek na skolexu). Druhým typem, typickým pro tasemnice řádu Bothriocephalidea a Diphyllobothriidea, je přítomnost přísavných rýh, zvaných botrie (Kuchta a kol., 2008). Botrie jsou obvykle dvě, nacházejí se na dorzální i ventrální straně skolexu a liší se tvarem a hloubkou (Wardle a McLeod, 1952). Třetím typem jsou přichycovací orgány zvané botridie, které se vyskytují u zástupců řádů cizopasících u paryb obvykle v počtu dvou nebo čtyř, především u tasemnic řádu Tetrphyllidea. Jsou poměrně svalnaté a velice pohyblivé a mohou mít nejrůznější tvary od mělkých prohlubní až po samostatné útvary listovitého tvaru (Schmidt, 1986; Khalil a kol., 1994). Čtvrtým typem, vyskytujícím se u výše zmíněného řádu Trypanorhyncha a u zástupců skupiny Haplobothridea, jsou čtyři zasunovatelné tentakule (chapadélka), opatřené četnými háčky. Posledním typem jsou přísavky u největšího řádu skupiny Cyclophyllidea a také u řádů Proteocephalidea a Tetrbothriidea a druhů rodu *Mesocestoides*, které jsou vždy čtyři a jsou umístěny na

apikální části skolexu. Někdy je přítomná i pátá, apikálně umístěná nepárová přísavka (tasemnice řádu Nippotaeniidea). Přísavky jsou miskovitého tvaru, kruhové či oválné se silnou svalnatou stěnou. Někteří zástupci řádu Cyclophyllidea mají v apikální části hlavičky (skolexu) svalnatý útvar zvaný rostelum, často opatřený háčky (Roberts a Janovy, 2006).

Během evoluce tasemnic došlo k úplné redukci jejich střeva a potrava je přijímána povrchem těla přes tegument (neodemis), který hraje důležitou roli v molekulárních interakcích mezi cizopasníkem a hostitelem. Nejpozoruhodnější morfologickou charakteristikou tegumentu tasemnic je přítomnost apikálních povrchových struktur, mikrotrichů, které slouží k adsorpci živin, nebo přichycení k hostiteli (Levron a kol., 2007). Mikrotrichy jsou zejména u evolučně odvozených skupin, především tasemnic paryb (řády Trypanorhycha a Tetrephyllidea), velmi rozmanité (Chervy, 2002). Vnější povrch tegumentu je pokryt glykokalyxem, který má schopnost vázat enzymy hostitele; díky této funkci může částečně nahradit funkci střeva (Smyth a McManus, 1989). Glykokalyx ovlivňuje řadu aktivit, např. zvýšení amylázové aktivity a inhibici trávicích enzymů hostitele jako trypsinu, chymotrypsinu a pankreatické lipázy (absorpce kationtů a žlučových solí) (Roberts a Janovy, 2006). Pod mikrotrichy leží vrstva označovaná jako distální cytoplasma. Distální cytoplasma je spojená s těly tegumentálních buněk, tzv. cytony, cytoplazmatickými výběžky, které procházejí skrz povrchovou svalovou vrstvu a laminou basalis. Tegument tasemnic má syncytiální epitel, nejspíše mesodermálního původu (Ehlers, 1985).

Subtegumentální svalovina je tvořena okružními a podélnými svalovými svazky, zatímco šikmá svalovina chybí (Volf a kol., 2007). Silnější svalstvo se nachází pod povrchovou svalovinou. Jsou zde početná dorzoventrální a příčná vlákna a také některá radiální vlákna. Vnitřní svalovina skolexu je velmi složitá a umožňuje mu tak mimořádnou pohyblivost (Roberts a Janovy, 2006). Vnitřní část těla je vyplněna parenchymatickou tkání, která je houbovitá a snadno stlačitelná. Orgány nervové, vylučovací a pohlavní soustavy jsou umístěny právě v parenchymu (Smyth a McManus, 1989).

Základem nervového systému tasemnic jsou centrální složky (párové ganglium v blízkosti skolexu spojené příčnou spojkou), na ně navazující podélné svazky a periferní nervová vlákna. Základem vylučovací soustavy je protonefridiální systém s plaménkovými buňkami a především podélné ventrální a dorzální kanály. Z cerebrálního ganglia vystupuje pár předních a podélných nervů, které pokračují dozadu skrz strobilu. Cirus (samčí kopulační orgán) a vagina jsou bohatě inervované a sensorická zakončení kolem

genitálního póru jsou bohatší než v jiných oblastech tegumentu strobily (Roberts a Janovy, 2006).

U mnoha rodů tasemnic vedou hlavní exkreční kanály po celé délce strobily od skolexu až k zadnímu konci. Jsou zde obvykle dva páry, jeden ventrální složený z tenkostěnných, širokých kanálů a druhý dorzální s úzkými, silnostěnnými kanály. Tyto kanály jsou vždy zakončeny exkrečním pórem (obr. 1). V parenchymu jsou uloženy plaménkové buňky, protonefridie, jejichž kanálky se spojují a ústí do hlavních kanálů (Smyth a McManus, 1989).

Osmoregulace je další funkcí tegumentálního povrchu. Ačkoliv jsou tasemnice považovány za organismy osmocomformní s malou schopností regulovat svůj tělesný objem, jejich osmotická koncentrace se pohybuje mezi 210–335 mOsm/l a lze jí vyvažovat solným roztokem, pokud je přítomno 5 mM glukosy (Roberts a Janovy, 2006).

Mnoho tasemnic obsahuje v tkáních zvláštní struktury označované jako vápenitá tělíska. Jsou vylučovány v jádře nebo v cytoplazmě z různorodých buněk. Tyto útvary měří od 12 μm do 32 μm v průměru a skládají se z anorganické složky, především z iontů vápníku, hořčíku a hydratované formy vápenatých fosfátů vestavěných do organického matrixu. Funkce těchto tělísek není dosud uspokojivě vysvětlena, ale předpokládá se, že slouží k deponování iontů oxidu uhličitého nebo vylučovacích produktů (Mackiewicz a kol., 1982).

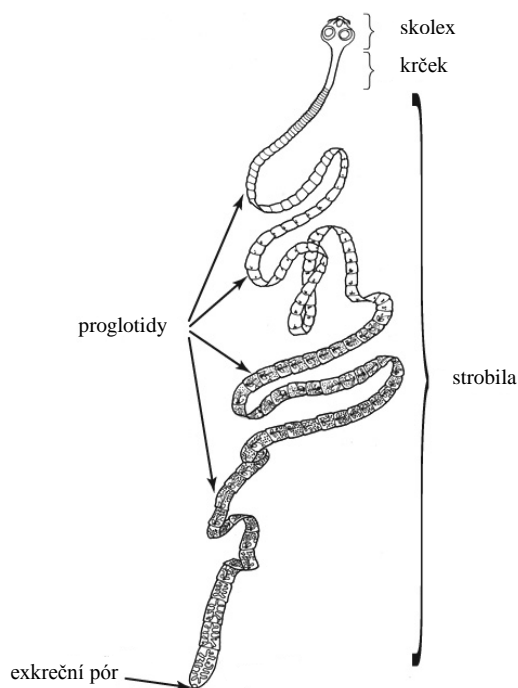
Pohlavní soustava tasemnic je velmi dobře vyvinutá a svou stavbou obdobná ostatním parazitickým plathelminům (Khalil a kol., 1994). Obvykle má každý segment kompletní sadu samčích i samičích pohlavních orgánů. Některé druhy mohou mít dvě i více sad genitálií v každém segmentu. Ve většině případů dozrávají nejdříve samčí orgány a produkují spermie, které jsou uloženy v semenném váčku, dokud nedozrají také vaječníky. Tento jev se nazývá protandrie nebo androgynie. U několika druhů dozrávají vaječníky jako první (protogynie či gynandrie) (Robert a Janovy, 2006).

Samčí pohlavní soustavu tvoří různý počet varlat. Varlata jsou navzájem propojena semennými kanálky (*vasa efferentia*), ústícími do chámovodu (*vas deferens*), který přechází do cirového vaku. *Vas deferens* může být jednoduchý kanál nebo může tvořit vnější semenný váček (Roberts a Janovy, 2006). *Vas deferens* ústí do cirového vaku, který kromě vnitřního semenného váčku (*vesicula seminalis interna*) obsahuje cirus s ejakulačním kanálem – *ductus ejaculatorius*. Pokud je vnější váček vyvinut, je vždy v proximální části *vas deferens*, tedy před vstupem do cirového vaku. Cirus ústí do pohlavního atria nebo vyúsťuje samčím gonoporem. Atrium je buď jednoduché, nebo může

být pokryto trny, nebo velkými mikrotrichy a zuby. Občas může také sloužit jako doplňkový vak (Chervy, 2002). Základem samičí pohlavní soustavy je vaječník (ovarium), z něhož ústí vejcovod (ovidukt), semenný rezervoár, žlutkové folikuly, rozšířená část vejcovodu (ootyp), kde se formují vajíčka, Mehlisovy žlázy, děloha (trubicovitá nebo vakovitá) a vagina, často vyústující společně s cirovým vakem (Smyth a McManus, 1998). Děloha může být síťovitá, laločnatá, kruhovitá, ve tvaru jednoduchého vaku nebo jednoduché či stočené trubice. Celý komplex se nazývá oogenotyp. Zralé oocyty (v meiotické profázi) odcházejí oviduktem, který je často opatřen svěračem (ookapt). Průnik spermií do oocytu v proximální části oviduktu stimuluje obnovení a dokončení meiotického cyklu. Jedna či více buněk z vitelinních žláz prochází skrz společný vitelinní kanál. Společně pronikají do oblasti oviduktu označované jako ootyp. Tato oblast je obklopena jednobuněčnými Mehlisovými žlázami, jejichž produkty se podílejí na formování obalu vajíčka a spojují vitelinní buňky (Roberts a Janovy, 2006).

Během rané embryogeneze se některé buňky shlukují a ze zbytku embrya vytvářejí vnější obal (vitelinní buňky). Ostatní buňky vytvářejí vnitřní obal. Vnější vrstva vajíčka se formuje ve vnějším obalu a doplňuje či nahrazuje kapsuli. Embryofor a onkosférická membrána se formují ve vnitřním obalu. Zygota a žlutkové buňky prostupují ootypem, ve kterém jsou vylučovány sekrety Mehlisových žláz. Produkty těchto žláz se podílejí na tvorbě obalu vajíčka (Roberts a Janovy, 2006).

Struktura vajíček je velmi různorodá. U „nižších“ tasemnic jsou vajíčka protáhlá, s mírným zploštěním na jednom z pólů; dlouhý pól je často opatřen víčkem (operkulun). U „vyšších“ tasemnic jsou vajíčka obvykle sférická a pokrytá mnohočetnými vaječnými obaly. Vajíčko obsahuje embryo, onkosféru, která obsahuje 3 páry embryonálních háčků (Chervy, 2002).



Obrázek 1. Základní stavba těla polyzoické tasemnice.

(Zdroj: <https://tapeworms.uconn.edu/glossary.html>)

3.1.3 Vývoj

S výjimkou zástupců rodu *Archigetes* (Caryophyllidea), kteří jsou schopni dokončit vývojový cyklus v tělní dutině či v semenném vaku nitěnek, jsou vývojové cykly tasemnic nepřímé. Vývoj většiny tasemnic probíhá s účastí jednoho mezihostitele (nejčastěji bezobratlý, u zástupců čeledi Taeniidae obratlovec) (Beveridge, 2001). Pohlavně zralé tasemnice žijí až na nepočtené výjimky v zažívacím traktu (přední části střeva) různých tříd obratlovců (Freeman, 1973). Zralé tasemnice se mohou dožít až několika let v závislosti na druhu. Během pohlavního cyklu produkují velký počet, často i několik milionů vajíček týdně (Roberts a Janovy, 2006).

Všechny tasemnice jsou oviparní a mají vajíčka ektolecitálního typu. Vajíčka se do vnějšího prostředí uvolňují spontánně se stolicí definitivního hostitele (Scholz, 1991). První larvou je tzv. lykofora neboli dekakant (podle přítomnosti deseti embryonálních háčků) u skupin Gyrocotylidea a Amphilinidea, nebo onkosféra (hexakant) (obr. 2) u Eucestoda. Onkosféra může být někdy obklopena ciliárním obalem pro pohyb ve vodě, pak je označována jako koracidium (obr. 3) (Volf a kol., 2007). U tasemnic s volně plovoucí larvou musí být koracidium pozřeno mezihostitelem ve velmi krátkém časovém intervalu. Po pozření mezihostitelem odvrhne koracidium řasinky a pomocí svých šesti háčků proniká stěnou střeva do tělní dutiny. V hemocoelu probíhá metamorfóza na larvální stádium zvané metacestod, jehož morfologie se liší mezi jednotlivými skupinami tasemnic (viz Chervy,

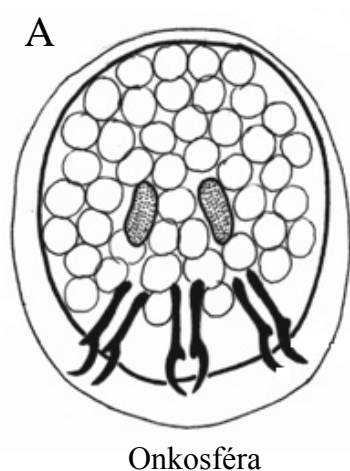
2002). Například larvální stádium, které se nazývá procerkoid, je definováno jako stadium, ve kterém jsou larvální háčky stále přítomny, ale skolex, který je přítomný u pozdějších ontogenetických stádií, ještě není zformován. Když je první mezihostitel požit dalším mezihostitelem – často rybou – procerkoid penetruje do střeva hostitele, konkrétně do jeho peritoneální dutiny a mezenteria, někdy i do kosterního svalstva (Kearn, 1998; Roberts a Janovy, 2006).

Onkosféra u ostatních druhů tasemnic (Eucestoda) proniká skrz střevo mezihostitele a dostává se do tělní dutiny nebo vnitřních orgánů, kde se metamorfuje na cysticerkoid nebo cysticerkus. Cysticerkoidy jsou larvální stádia s plně vyvinutým zatažitelným skolexem, s primární lakunou a redukováným cerkomerem (ocasní přívěsek s embryonálními háčky) (Chervy, 2002).

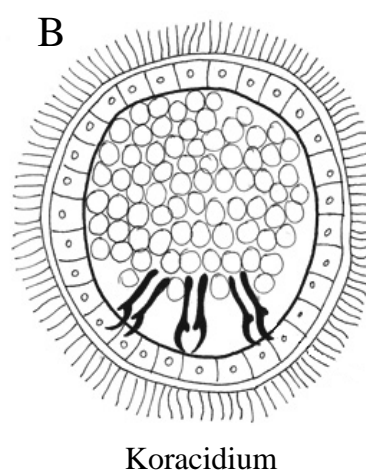
Přítomnost či absence cerkomeru může mít fylogenetický význam a je charakteristickou vlastností bazálních eucestod (Jarecka, 1970; Beveridge, 2001).

Larvy druhého (případně třetího) stádia v mezihostitelích se označují jako metacestodi a podle morfologie mají různé názvy, např. procerkoid (Bothriocephallidea), plerocerkoid (*Diphyllobothrium* nebo *Ligula*), cysticerkoid (Cyclophyllidea – Hymenolepididae), cysticerkus, hydatida, alveokok, strobilocerkus (Taeniidae), tetrathyridium (*Mesocestoides*) (Freeman, 1973; Chervy, 2002). Přenos mezi hostiteli se realizuje až na výjimky (*Hymenolepsis nana* při superautoinfekci) perorálně (Volf a kol., 2007).

Růst metacestod končí, až když je skolex plně vyvinutý nebo se podobá dospělému jedinci a když je skončen růst pohlavních primordií (Freeman, 1973).



Onkosféra



Koracidium

Obrázek 2. Larvální stádium tasemnic (A). **Obrázek 3.** Larvální stádium tasemnic (B).

(Zdroj (A, B): <https://tapeworms.uconn.edu/glossary.html>)

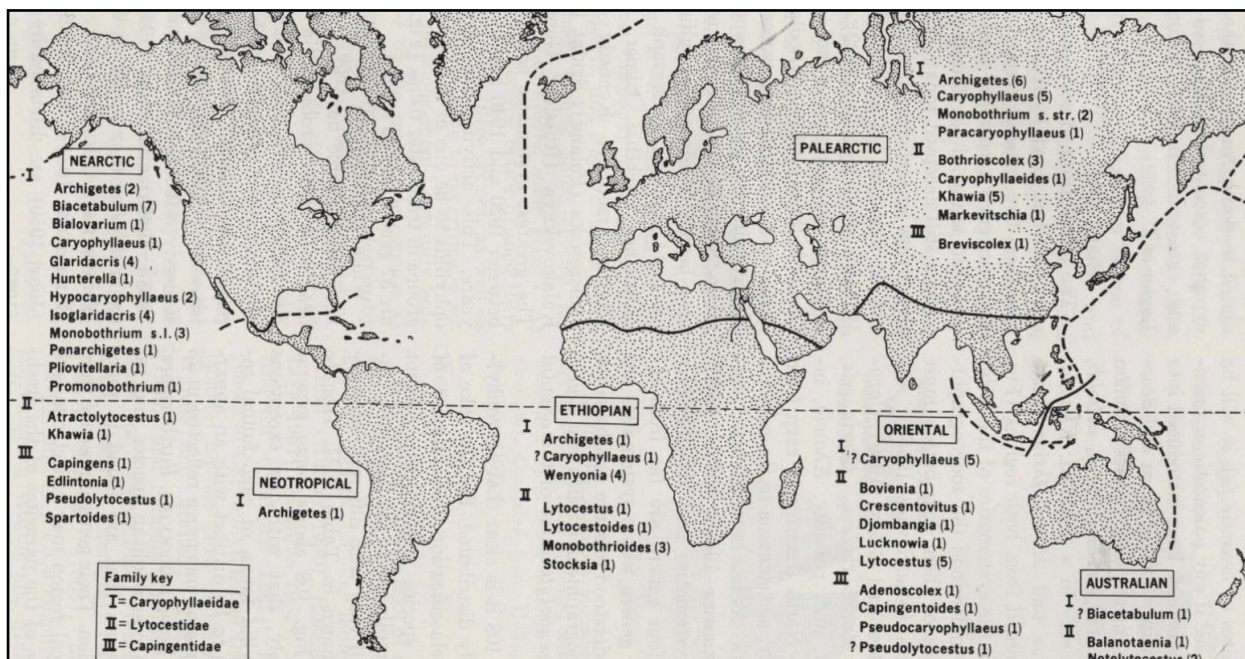
3.2 ŘÁD CARYOPHYLLIDEA van Beneden in Carus, 1863

Tasemnice řádu Caryophyllidea (Platyhelminthes: Eucestoda) jsou střevními endoparazity sladkovodních ryb s téměř celosvětovým rozšířením (Mackiewicz, 1972). Jsou výjimečné mezi tzv. „pravými“ tasemnicemi (Eucestoda) v tom, že mají monopleuroidní stavbu těla, t.j. bez vnitřní či vnější proglotidizace a pouze s jednou sadou reprodukčních orgánů (Mackiewicz, 1994). Pozoruhodnou a velmi ojedinělou vlastností mezi tasemnicemi je také schopnost některých druhů pohlavně dospět již v bezobratlém hostiteli (Mackiewicz, 1982). Doposud bylo popsáno kolem 200 druhů ze střeva bentických kaprotvarých (Cypriniformes) a sumcotvarých (Siluriformes) sladkovodních ryb v holarktické, etiopské, indomalajské a australské zoogeografické oblasti (obr. 4) (Schmidt, 1986). S výjimkou neotropické oblasti obývá tedy tento řád všechny zoogeografické oblasti. Sumci (Siluriformes), kaprovité ryby (Cyprinidae) a pakaprovci (Catostomidae) jsou nejběžnějšími hostiteli karyofylidních tasemnic (Roberts a Janovy, 2006).

U tasemnic tohoto řádu je patrný vysoký stupeň endemismu, neboť pouze 7 z 41 rodů (např. *Archigetes* a *Glaridacris*) bylo zaznamenáno ve více než jedné zoogeografické oblasti (Mackiewicz, 1982, 2003). Karyofylidní tasemnice můžeme rozdělit do 41 rodů ve čtyřech čeledích: Balanotaeniidae Mackiewicz et Blair, 1978; Capingentidae Hunter, 1930; Caryophyllaeidae Leuckart, 1878; a Lytocestidae Hunter, 1927 (Mackiewicz, 1994; Oros a kol., 2007; Brabec a kol., 2012).

Tento řád tvoří přibližně 25% tasemnic z fauny sladkovodních ryb (Mackiewicz, 1972). U druhů *Hunterella nodulosa* a *Atractolytocestus huronensis* (Jones a Mackiewicz, 1969) je známá polyploidie (Mackiewicz, 1994).

Tasemnice tohoto řádu jsou charakteristické úzkým a dlouhým tělem, které nevykazuje žádné známky vnitřní či vnější segmentace v žádném ze stádií svého vývoje. Oplození jedinci mohou měřit od 0,9 mm (*Penarchigetes oklensis*) až do 95 mm (*Khawia sinensis*) (Mackiewicz, 1970, 1972).



Obrázek 4. Zoogeografické rozšíření nejznámějších druhů karyofylidních tasemnic (počty druhů jsou uvedeny v závorkách) (Převzato z: Mackiewicz, 1972).

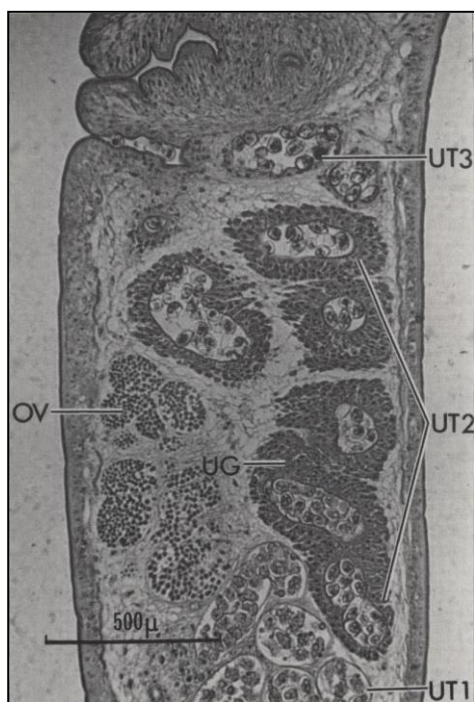
3.2.1 Morfologie

Skolex karyofylidních tasemnic je velmi variabilní, liší se mezi druhy i rody (Mackiewicz, 1970). Vzhledem k vysoké druhové rozmanitosti nelze určit jediný typ skolexu, který by mohl charakterizovat tento řád (Mackiewicz, 1972, 1994). U zástupců různých rodů či druhů lze rozlišit různé modifikace skolexu, jakými jsou např. acetabula (*Biacetabulum*), lokuly (*Glaridacris*, *Isoglaridacris*, *Spartoides*), botrie (*Archigetes*, *Capingens*), terminální vchlípeniny (*Monobothrium*), rýhy (*Caryophyllaeus*), zářezy (*Khawia*), „límce“ (*Balanotaenia*); přichytné orgány však mohou zcela chybět (*Hunterella*) (Mackiewicz, 1970, 1972). U jednoho druhu se může vyskytovat více typů skolexu (např. *Biacetabulum* a *Glaridacris*) (Mackiewicz, 1972).

Samičí pohlavní soustava tasemnic se skládá z vaječníku, vaginy, vitelinních folikulů, dělohy a přídatných pohlavních žláz. Vaječník je složen ze dvou velkých laloků, křídel či folikulárních trsů, které jsou propojeny ventrálně klenutou spojkou (komisura nebo isthmus) (Mackiewicz, 1972). Tvar vaječníku je popisován jako „osmičkový“ (*Archigetes*, *Hunterella*), „motýlovitý“ (*Breviscolex*) nebo ve tvaru písmene „U“ (*Spartoides*), „V“ (*Bialovarium*), ve tvaru převráceného písmene „A“ (*Caryophyllaeides*), nebo jako ve většině případů ve tvaru písmene „H“ (*Pseudolytocestus*) (Mackiewicz, 1970, 1972). Ve výjimečném případě se u druhů stejného rodu mohou vyskytnout dvě odlišné formy vaječníku (*Isoglaridacris*) (Mackiewicz, 1965, 1968).

Od zadního okraje vaječnickového isthmu (obvykle ve středové části) začíná vejcovod (ovidukt). Vejcovod je obklopen svěračem neboli ookaptem. Ookapt přechází ze zadní části vaječnickového isthmu do malé oplodňovací komory jako chámovod z vaginy nebo ze semenného rezervoáru, který směřuje k jedné straně těla. Obvykle se na opačné straně těla k vejcovodu připojuje vitelinní kanálek, který se postupně stává uterovitelinním kanálem ještě před tím, než je rozšířen do specializovaného ootypu, který je obklopen serózními a mukózními žlázami (Mehlisovy žlázy). Tyto žlázy se podílejí na formování vaječného obalu (Mackiewicz, 1972).

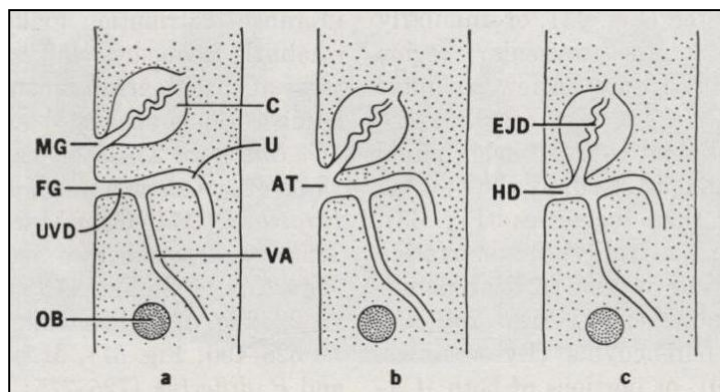
Široký uterodukt spojuje ootyp s vlastní dělohou. Dělohu lze rozdělit do 3 částí (obr. 5): První oblast, tzv. „Anfangsteil“ (obr. 5), začíná poblíž ootypu, kde je děloha ventrálně stočená a kde děložní žlázy chybějí. Postupně přechází do druhé oblasti, tzv. „eigentliche Uterus“ (obr. 5), která je dlouhá a je obklopena žlázkami (tzv. uterinní žlázy). Třetí část, tzv. „Endabschnitt“ (obr. 5), je krátká a vyúsťuje společně s vaginou do uterovaginálního kanálu (Mackiewicz, 1972).



Obrázek 5. Střední část samičí pohlavní soustavy karyofylidní tasemnice (*Glaridacris catostomi*). Zkratky: OV – vaječník; UG – uterinní žlázy; UT 1–3: části dělohy. (Převzato z: Mackiewicz a kol., 1972).

Vagina karyofylidních tasemnic se nachází mezi vejcovodem a dělohou na ventrální straně těla. Na distálním konci vaginy se může připojit děloha a společně s vaginou tvoří uterovaginální kanál, který ústí v zadní části ve společný gonopor. Gonopor je utvořen po spojení ciru (ejakulačního kanálu) spojí s uterovaginálním kanálem a následně jako jeden

obojetný kanál vyúsťuje na povrch těla. Pokud se vytvoří tímto způsobem, je definován jako genitální atrium. Gonopory jsou oddělené, pokud cirus a uterovaginální kanál vyúsťují odděleně na povrch těla nebo když společně vyúsťují v mělké genitální atrium (*Glaridacris* spp.), viz obr. 6 (Mackiewicz, 1972; 1994).



Obrázek 6. Tři typy gonopórů, které jsou schematicky zobrazeny ze střední části těla. Zkratky: AT – atrium; C – cirus; EJD – ejakulační kanál; FG – samičí gonopor; HD – obojetný kanál; MG – samčí gonopor; OB – vaječnicková spojka; U – děloha; UVD – uterovaginální kanál a VA – vagina.

Vitellaria představují velmi dobře vyvinutou soustavu vejčitých, zakulacených či laločnatých folikulů. Jsou obvykle menší než varlata. Menší vitellaria se obvykle vyskytují v oblasti krčku. Vitelinní folikuly se nacházejí ve třech uskupeních: preovariální, preovariální s oddělenými postovariálními trsy, nebo vitellaria s kontinuálním pre/postovariálním uspořádáním. Preovariální žlutkové folikuly mohou být uspořádány do dvou laterálních řad, být smíšené s varlaty, nebo mohou být prstencovitě rozprostřeny kolem testikulárního pole. Obvykle začínají v přední části těla před varlaty (Mackiewicz, 1994). Podle jednotlivých čeledí se preovariální folikuly mohou vyskytovat v kortikálním parenchymu (Lytocestidae), v medulárním parenchymu (Caryophyllaeidae) či v obou oblastech (Capingentidae). Drobné žlutkové kanálky propojují folikuly a sbíhají se do páru velkých kanálů (viteloduktů) po stranách těla, které se v oblasti vaječníku spojují a tvoří žlutkový rezervoár, z něhož jsou postupně uvolňovány žlutkové buňky při tvorbě vajíček (Mackiewicz, 1972).

Samčí pohlavní soustava karyofylidních tasemnic se skládá z varlat, semenných kanálků (vasa efferentia), chámovodu (vas deferens), cirového vaku obsahujícího ejakulační kanál a vychlípitelného orgánu zvaného cirus. Varlata se nacházejí v širokém pásu mezi cirovým vakem a krčkem, v dorzoventrálních a laterálních řadách, ale nejčastěji bez specifického uspořádání (Mackiewicz, 1982). Občas mohou zasahovat více dopředu než

vitelaria. Počet varlat se pohybuje od 8 do 775. Maximální počet varlat se vyskytuje u *Khawia iowensis* (328–490), *Monobothrium ulmeri* (355–643) a u *Pseudolytocestus differtus* (725–775). Nejmenší počet varlat můžeme pozorovat u druhu *Glaridacris oligorchis* (1–8) a u *Atractolytocestus huronensis* (6–22) (Mackiewicz, 1970).

Z každého varlete vede příslušný semenný kanálek, který se spojuje s dalšími semennými kanálky a nakonec vytváří větší stočený chámovod (vas deferens), který se nachází před cirovým vakem. Tenkostěnný chámovod může vstoupit do cirového vaku také přímo (*Caryophyllaeus*, *Wenyonia*) a vždy vytváří ejakulační kanál, který může mít funkci vnitřního semenného váčku (*Caryophyllaeus laticeps*). Tato úzká trubice se nachází vždy přímo v cirovém vaku. Vnější semenný váček chybí s výjimkou některých severoamerických druhů a zástupců rodu *Archigetes* (Mackiewicz, 1972).

Velikost cirového vaku je různá u jednotlivých druhů, ale jeho stavba je v rámci celého řádu poměrně uniformní. Výjimečně může cirový vak zabírat celou šířku medulárního parenchymu, obecně však zabírá šířku od 1/5 do 1/2 šířky těla. Zatímco u mnoha druhů je v cirovém vaku přítomná silná svalovina, u některých (např. u druhů rodů *Wenyonia* a *Penarchigetes*) je poměrně slabá. Nejsou zde přítomny předstojné (prostatické) žlázy. Vnitřní struktura cirového vaku je obvykle svalnatá (Nybelin, 1922; Mackiewicz, 1963). Cirus je vychlípitelný, bez trnů (Mackiewicz, 1972).

Velmi ojedinělou a výjimečnou strukturou u karyofylidních tasemnic jsou tzv. „jaderné vakuoly“. Tyto vakuoly se nacházejí v jádrech zralých žloutkových buněk, které mají jednotlivé velké glykogenní vakuoly, které slouží jako energetická rezerva k výživě vajíček (Mackiewicz, 1982). Je zajímavé, že ostatní druhy tasemnic (Eucestoda) mají pouze tukové vakuoly či pouze tukové a zároveň i glykogenní, nicméně u karyofylidních tasemnic byly prokázány pouze vakuoly s glykogenem (Mackiewicz, 1982; Kearns, 1998).

3.2.2 Vývoj

Životní cyklus karyofylidních tasemnic zahrnuje pouze jednoho mezihostitele, kterými jsou máloštětinatci čeledi Tubificidae (nitěnky). Většina tasemnic pohlavně dospívá až ve střevě kaprovitých nebo sumcovitých ryb (čeledi Cyprinidae a Catostomidae řádu Cypriniformes a několika čeledí řádu Siluriformes). Výjimkou je rod *Archigetes*, jehož zástupci mohou pohlavně dospět již v bezobratlém mezihostiteli (Mackiewicz 1972, 1982; Khalil a kol., 1994).

Většina druhů z čeledi Tubificidae obvykle žije ve sladké vodě, kde jsou významnou složkou bentosu. Žijí v bahně a sedimentech na dně, ze kterého filtrují organický materiál. Nitěnky pravděpodobně zaujímají hlavní roli v evoluci karyofylidních tasemnic právě proto,

že jsou schopné snášet i nízké koncentrace kyslíku, mají velký coelom a relativně dlouhý životní cyklus (Mackiewicz, 1982).

Vajíčka, která jsou opatřena víčkem (operculum), se dostávají do prostředí spolu s rybími výkaly a usazují se na dně. Při filtrování potravy jsou nakažená vajíčka pozřena vodním máloštetinatcem (Oligochaeta – čeledi Tubificidae a patrně i Naididae), ze kterých se následně uvolní neobruvená onkosféra opatřená šesti háčky (Mackiewicz, 1972, 1982). S pomocí háčků onkosféra penetruje střevní stěnu a proniká do tělní dutiny (Kearn, 1998) nebo semenného vřívku nitěnky (Mackiewicz, 1982). Zde se onkosféra mění v a za několik týdnů (záleží zejména na druhu a teplotě) z ní vyrostou metacystod, zvaný plerocerkoid (Freeman, 1973; Scholz, 1991; Chervy, 2002).

Infekční plerocerkoid charakterizujeme skolex bez primární lakuny, s nebo bez cercomeru a se zárodky jednotlivých pohlavních orgánů (Mackiewicz, 1972; Chervy, 2002). Plerocerkoid se dostane do trávicího traktu hostitelské ryby, ztrácí cercomer (v oblasti rozšířeného vylučovacího póru) a pohlavně dospívá (Kearn, 1998).

Vajíčka karyofylidních tasemnic mají tenký vaječný obal a jsou opatřena víčkem. Velikost vajíček se pohybuje v rozmezí od $17 \times 11 \mu\text{m}$ do $111 \times 80 \mu\text{m}$. Uvnitř vajíčka se nachází oocyt a několik žlutkových buněk. Vajíčka tasemnic dokončují svůj vývoj až ve vodě (Mackiewicz, 1972). Definitivními hostiteli jsou ryby z nadřádu Ostariophysi se 75% zastoupením hostitelů z čeledi Cyprinidae (kaprovití) a Catostomidae (pakaprovci). Dalšími definitivními hostiteli jsou sumci čeledi Bagridae, Clariidae, Heteropneustidae, Mochokidae, Plotosidae a Schilbeidae z řádu Siluriformes, kteří společně zahrnují kolem 17% hostitelů karyofylidních tasemnic. Tyto dvě třídy dohromady představují více než 90% karyofylidních hostitelů. Z dosavadních údajů vyplývá, že zde pravděpodobně existuje určitá souvislost (koevoluce) mezi hostitelem a parazitem (Mackiewicz, 1982).

3.2.3 Taxonomie

Fylogenetické a taxonomické postavení řádu Caryophyllidea v rámci nižších tasemnic (Eucestoda) není doposud jednoznačně určeno (Brabec a kol., 2006, 2012; Oros a kol., 2007; Waeschenbach a kol. 2007, 2012). Otázkou zůstává, zda je řád Caryophyllidea se svou monozoickou stavbou těla, která nevykazuje žádné stopy segmentace, předkem ostatních tzv. „pravých“ tasemnic (Eucestoda), nebo je výsledkem sekundární redukce z původně polyzoické tasemnice (Mackiewicz, 2003; Waeschenbach a kol., 2012). Při vysvětlení existence jednohostitelského (přímého) vývojového cyklu druhů rodu *Archigetes*, kteří mohou dospět v tělní dutině bezobratlého hostitele (nitěnky), se nabízí možnost, že

jednu z klíčových rolí v evoluci skupiny mohla hrát progeneze (schopnost některých helmintů včetně tasemnic dosáhnout pohlavní dospělosti již v bezobratlém hostiteli – Mackiewicz, 2003).

Na základě srovnávacích morfologických a ontogenetických studií je řád Caryophyllidea považován za bazální skupinu tvořící sesterskou skupinu všech ostatních pravých tasemnic (Eucestoda). Monozoická stavba těla by byla v tomto případě původním znakem tohoto řádu (Hoberg a kol., 1997). Na druhé straně některé molekulárně fylogenetické analýzy založené na analýze kompletních sekvencí genů kódujících velkou (28S rDNA) a malou podjednotku jaderné ribozomální DNA (18S rDNA) bazální postavení řádu Caryophyllidea jednoznačně nepodporují (Hoberg a kol., 1999; Kodedová a kol., 2000; Brabec a kol., 2006, 2012).

Další molekulární analýzy naopak naznačují, že se na bázi tasemnic (Eucestoda) nachází řád Spathebothriidea, zatímco řád Caryophyllidea spolu se sesterskými skupinami Diphylobothriidea a Haplobothriidea je evolučně odvozenější (Kodedová a kol., 2000; Littlewood a kol., 2001; Waeschenbach a kol., 2007, 2012). Výsledky Olsona a kol. (2001) sice naznačují bazální pozici tasemnic řádu Caryophyllidea, zároveň ale také připouští, že výsledky mohou být ovlivněny výběrem sekvenovaných taxonů, které byly reprezentovány pouze omezeným množstvím rodů. Současným největším problémem při určování fylogenetické pozice řádu Caryophyllidea, vycházejícím z převážné části z analýz rDNA, tak zůstává nedostatek fylogeneticky relevantní informace obsažené v těchto genech, na jejímž základě by bylo možné na pozici mezi ostatními skupinami tasemnic usuzovat.

Na základě mitochondriálních dat a na nich provedených kombinovaných fylogenetických analýz bylo zjištěno, že řád Caryophyllidea je v rámci podtřídy Eucestoda zřejmě evolučně původnější než řád Spathebothriidea a současně také zbytek skupin tasemnic skupiny Eucestoda. Karyofylidní tasemnice by tak tvořily logický mezičlánek mezi tasemnicemi skupiny Cestodaria (Gyrocotylidea a Amphilinidea) a zbývajícími skupinami pravých tasemnic Eucestoda (Waeschenbach a kol., 2012). Právě zmíněná práce Waeschenbach a kol. (2012) se na základě analýz mitochondriálních genů a současně také nejobsáhlejšího datasetu molekulárních znaků přiřklání k vývoji strobilace jako k postupnému procesu, který vedl od původních neproglotizovaných nesegmentovaných tasemnic (Caryophyllidea) k proglotizovaným nesegmentovaným tasemnicím (Spathebothriidea) a následně k proglotizovaným segmentovaným vyšším tasemnicím ostatní skupiny podtřídy (Eucestoda), což by podporovalo původní představy o evoluci tasemnic vycházejících z analýz morfologických znaků (Hoberg a kol., 1997).

3.3 ROD *MONOBOTHRIOIDES* Fuhrmann et Baer, 1925

Tasemnice rodu *Monobothrioides*, které patří do skupiny monozoických, nesegmentovaných tasemnic řádu Caryophyllidea (Cestoda) jsou poměrně neprobádanou skupinou endohelminů, cizopasících převážně u sladkovodních ryb řádu Siluriformes (*Auchenoglanis*, *Clarias*) a Cypriniformes (vyjíměčně v parmách rodu *Labeobarbus*). Zástupci rodu dosahují rozměrů od 4 do 40 mm (Mackiewicz, 1982).

3.3.1 Taxonomické znaky druhů rodu *Monobothrioides*

Skolex opatřen apikální vchlípeninou a podélnými rýhami, postrádající botrie a lokuly. Apikální část skolexu může být zatažitelná a formovat se do určitého trychtýře (terminal pit). Samčí a samičí pohlavní gonopory jsou oddělené. Uterovaginální kanál je krátký. Velký semenný rezervoár je přítomný. Cirový vak je dobře vyvinut. Vnější semenný váček chybí. Vaječník je zformovaný do tvaru písmene H, s dlouhými štíhlými kortikálními laloky a s centrální komisurou (příčná spojka neboli isthmus). Postovariální vitelinní folikuly nejsou přítomny. Děloha nikdy nezasahuje před samičí gonopor. Vitelinní folikuly jsou umístěny v kortikálním parenchymu a nikdy nedosahují za vaječník. Dospělí jedinci parazitují v sumcovitých (Siluriformis), a výjíměčně i v kaprovitých (Cypriniformis) rybách v Africe (Fuhrmann a Baer, 1925; Khalil a kol., 1994).

3.3.2 *Monobothrioides chalmersius* (Woodland, 1924)

Délka těla tasemnice *Monobothrioides chalmersius*, původně popsané Woodlandem (1924) jako *Caryophyllaeus chalmersius*, se značně liší u juvenilních a dospělých jedinců. Juvenilní jedinci měří 3,6 (3,0–4,5) × 1,0 (0,9–1,2) mm, zatímco dospělí jedinci měří 21 (20–23) × 3,7 (3,4–4,1) mm. Skolex měří 2,0 (1,0–3,4) × 1,9 (1,0–2,6) mm (Hamada a kol., 2004). Velikost skolexu dosahuje až 1/7 celkové délky těla. Rozšířený skolex juvenilních a dospělých jedinců má apikální vchlípeninu a podélné hluboké botriální rýhy, které jsou obzvláště výrazné u juvenilních stádií tasemnic (Woodland, 1924; Troncy, 1978). Povrch skolexu je hladký, s póry, které mohou představovat vyústění tegumentálních žlázek.

Za určitých podmínek se na skolexu může objevit „báze“, která je viditelná jako tmavý příčný pruh v zadní části skolexu (Woodland, 1924). Vnitřní a vnější podélné svaly na skolexu jsou si vzájemně podobné. Povrch těla pokrývá tegument, který tvoří početná příčná svaštění, zejména ve střední třetině těla.

Exkrece (osmoregulační) systém je tvořen deseti podélnými exkrecními kanály (Woodland, 1924). Centrální nervový systém se u dospělců a larválních stádií skládá z pěti

párů podélných nervových vláken, spojených mnoha příčnými spojkami (komisurami) (Hamada a kol., 2004).

U samčí pohlavní soustavy jsou nejnápadnější strukturou varlata. Jsou větší než vitelinní folikuly, ale je jich méně (kolem 400). Každé varle měří kolem $210 \times 180 \mu\text{m}$. Rozprostírají se v zadní části těla až k zadní části cirového vaku k úrovni vitelinních folikulů, 20 až 24 varlat se nachází na každé straně cirového vaku (Hamada a kol., 2004). Cirový vak je zakončen svalnatým cirem, který vyúsťuje na ventrální straně těla. Samčí pohlavní gonopor se nachází před samičím gonoporem (Hamada a El-Naggar, 2003).

U samičí pohlavní soustavy je velmi nápadný vaječník ve tvaru písmene H. Tento folikulární orgán leží v zadní části těla, kde jsou dva vaječnickové laloky spojeny středovým můstkem (isthmus). Ovidukt spojuje isthmus s ootypem, který je obklopen Mehlisovými žlázami (Hamada a kol., 2004).

Vitelinní folikuly jsou oválného až sférického tvaru a rozprostírají se v zadní a centrální (kortikální) části těla tasemnice. Rozšiřují se od zadní oblasti krčku až k přední části vaječníku. V předních a podélných oblastech je jejich počet větší než v centrální oblasti. Několik desítek vitelinních folikulů se rozprostírá na úrovni zadní části cirového vaku. Vitelinní folikuly, které jsou lokalizovány v přední třetině těla, jsou menší než ty, které se nacházejí v zadní části těla. Postovariální vitelinní folikuly chybějí (Woodland, 1924; Hamada a kol., 2004).

Děloha vychází ze zadní části ootypu a tvoří řadu kliček směrem k přednímu konci těla. Vagina se rozšiřuje ze semenného rezervoáru do přední části těla, spojuje se s děložním kanálem a vytváří velmi krátký uterovaginální kanál, ústící na povrch těla ventrálním uterovaginálním (samičím pohlavním) otvorem (Hamada a kol., 2004).

Oválná vajíčka tohoto druhu měří v průměru $57 \times 34 \mu\text{m}$ (Hamada a kol., 2004).

3.3.3 *Monobothrioides cunningtoni* Fuhrmann et Baer, 1925

Monobothrioides cunningtoni má velmi variabilní délku těla, měří od 14 mm do 40 mm, šířka těla je od 0.5 do 0.7 mm. Skolex je polymorfní, nejsou zde patrné žádné známky ventrálního ani dorzálního stlačení, které by mohly připomínat botrie. Na skolexu je velké množství podélných a příčných rýh a v přední části skolexu je apikální vchlípenina. Velikost skolexu je variabilní délky, od $93 \mu\text{m}$ do $130 \mu\text{m}$ a šířky od $70 \mu\text{m}$ do $160 \mu\text{m}$. Krček je relativně dlouhý, ale pouze o trochu užší než je skolex. Šířka těla je téměř po celou svou délku stejná (Fuhrmann a Baer, 1925).

Svalový systém je dobře vyvinutý, vnitřní parenchymatická část (medulla) krčku a skolexu je obklopena svalovými podélnými vlákny. V oblasti vaječníků a dělohy je svalovina slabě vyvinuta (Fuhrmann a Baer, 1925).

Samčí gonády jsou početné a tvoří dvojitou vrstvu varlat, která vyplňuje celý medulární parenchym. První varlata jsou situována mírně vzadu za prvními vitelinními folikuly. Cirový vak je protáhlý a zaujímá celý medulární parenchym (Fuhrmann a Baer, 1925).

Vaječník sestává ze dvou předních a dvou zadních postranních laloků. Struktura vaječnicku je folikulární. Folikuly jsou situovány vně podélné svaloviny. Přední lalok vaječnicku je 90 μm až 120 μm dlouhý, zadní lalok měří od 60 μm až do 70 μm . Příčná spojka měří 160 μm až 180 μm . Vitelinní folikuly se rozprostírají pouze do přední oblasti cirového vaku, vzácně do jeho 2/3. Jsou složeny z trsů (folikulů), které jsou umístěny mezi podélným svalstvem a periferními vylučovacími kanály. Zasahují dopředu až k varlatům a rozšiřují se směrem dozadu až k cirovému vaku. Vagina se v přední části spojuje s dělohou a tvoří uterovaginální kanál, který se otevírá samičím gonoporem do společného genitálního atria. Na úrovni předních vaječnicku se nacházejí Mehlisovy žlázy, které tvoří až 9 μm silnou vrstvu, obklopují dělohu a později se stáčí směrem dopředu. Tato glandulární zóna je 250 μm až 300 μm dlouhá a 280 μm až 340 μm široká. Vajíčka měří 54 \times 36 μm (Fuhrmann a Baer, 1925).

3.3.4 *Monobothrioides woodlandi* Mackiewicz et Beverley-Burton, 1967

Tasemnice *Monobothrioides woodlandi* měří 4,2–4,5 mm na délku a 1,1–1,3 mm na šířku (pohlavně zralí jedinci). Skolex je dobře ohraničený, dorzoventrálně stlačený s podélnými rýhami. Skolex zabírá 1/4 z celkové délky těla jedince. Vnější podélné svaly jsou slabě vyvinuté a skládají se z malých svazků. Vnitřní podélné svaly mají hřbetní a břišní pruhy těsně uspořádané do svazků (Mackiewicz a Beverley-Burton, 1967).

Počet varlat se pohybuje od 177 do 203. Jsou kulovitá a měří 56 až 96 μm . Testikulární oblast sahá od cirového vaku až k základu skolexu. Cirový vak je oválného až hruškovitého tvaru. Vnější semenný váček chybí (Mackiewicz a Beverley-Burton, 1967).

Vitelinní folikuly se nacházejí pouze v preovariální oblasti, kde jsou prstencovitě uspořádané kolem varlat a sahají od vaječnicku až k základu skolexu. Vaječník je folikulární, „motýlovitého“ tvaru a dosahuje až k zadnímu konci těla tasemnice. Děloha je nejméně dvakrát delší než vaječník a vajíčka měří 62 \times 41 μm (Mackiewicz a Beverley-Burton, 1967).

3.3.5 *Monobothrioides tchadensis* Troncy, 1978

Tasemnice malé velikosti, délky těla od 7 do 10 mm a maximální šířky 1,5 mm. Skolex má velmi variabilní morfologii, zpravidla je kuželovitého tvaru a od zbytku těla je oddělen záhybem z pseudosegmentace nebo dlouhým úzkým krčkem, který zabírá kolem 1/5 až 1/4 celkové délky těla. Na skolexu je velké množství podélných rýh a záhybů; jejich počet je proměnlivý. Apikální vrchol skolexu je buďto zakulacený nebo lehce vchlípený a není opatřen žádnými speciálními apikálními strukturami (Troncy, 1978).

U samčího pohlavního ústrojí jsou nejnápadnější strukturou početná varlata, která se rozprostírají převážně v medulární části v několika nepravidelných řadách. Začínají v přední části přibližně v 1/3 těla u žlutkových folikulů a táhnou se až k postranním okrajům cirrového vaku. Cirrový vak měří 630 μm do délky a 150 μm do šířky. Je svalnatý, prodloužený a „slzovitě“ tvarovaný. Vnější semenný váček chybí. Samčí a samičí gonopory jsou odděleny (Troncy, 1978).

Samičí pohlavní soustava se skládá z vaječníku, který je složený z početných folikul, utvářejících dva postranní laloky, které jsou spojeny můstkem (isthmus). Dvoulaločný vaječník je ve tvaru písmene H. Vaječnickové folikuly jsou kortikální. Vitelinní folikuly se rozprostírají převážně v přední části těla tasemnice a vzájemně se překrývají s varlaty. Dosahují až k zadní části cirrového vaku, konkrétně do 1/3 až 1/7 oblasti dělohy. Jsou výhradně preovariální a kortikální. Oblast vitelinních folikulů měří 180 μm na délku a 55 μm na šířku. Děloha je krátká, trubicovitě stočená a preovariální. Je rozdělena do tří částí, střední část dělohy obsahuje děložní žlázy. Vajíčka měří 55 \times 35 μm (Troncy, 1978).

3.3.6 Identifikační kritéria druhů rodu *Monobothrioides*

Přehled morfologických znaků, které umožňují druhovou identifikaci zástupců rodu *Monobothrioides*, je uveden v tabulce 1. Použité údaje pocházejí z následujících prací: Woodland (1924), Fuhrmann a Baer (1925), Mackiewicz a Beverley-Burton (1967), Troncy (1978), Hamada a El-Naggar (2003), Hamada a kol. (2004).

Tabulka 1. Porovnání mezidruhových znaků tasemnic rodu *Monobothrioides*.

Druh	Délka těla (mm)	Tvar skolexu	Pohlavní soustava	Vajíčka (průměr) (d×š) (μm)	
<i>M. cunningtoni</i>	4–40	Polymorfní, podélné a příčné rýhy, žádné botrie, apikální jamka, dlouhý krček (široký jako skolex)	Pozice vitelinních folikulů a varlat: vitelinní folikuly se nacházejí před varlaty	54 × 36	
			Vitelinní folikuly: dosahují k přední části cirového vaku (až do 2/3)		
			Varlata: dosahují k přední části cirového vaku		
			Děloha: velmi dlouhá (preovariální oblast)		
			Cirový vak: protáhlý		
<i>M. chalmersius</i>	3.6–21	Rozšířený, botridiální vyvýšeniny, apikální vchlípenina, do 1/7 délky těla, dlouhý krček (široký jak tělo)	Pozice vitelinních folikulů a varlat: vitelinní folikuly se nacházejí před varlaty	57 × 34	
			Vitelinní folikuly: dosahují k vaječníku (až k 1/3)		
			Varlata: dosahují k děloze		
			Děloha: dlouhá		
			Cirový vak: krátký, kulovitý		
<i>M. tchadensis</i>	7–10	Kuželovitý, záhyb z pseudosegmentace, proměnlivý počet rýh, dlouhý štíhlý krček	Pozice vitelinních folikulů a varlat: vitelinní folikuly se nacházejí před varlaty	55 × 35	
			Vitelinní folikuly: dosahují k zadní části cirového vaku (až 1/3–1/2 dělohy)		
			Varlata: dosahují k přední části cirového vaku		
			Děloha: velmi krátká (preovariální oblast)		
			Cirový vak: prodloužený, kapkovitého tvaru		
<i>M. woodlandi</i>	4.5–4.6	Ohraničený, stlačený s podélnými hřebeny, do 1/4 délky těla	Pozice vitelinních folikulů a varlat: vitelinní folikuly se nacházejí před varlaty	62 × 41	
			Vitelinní folikuly: dosahují k vaječníku		
			Varlata: dosahují k zadní části cirového vaku		
			Děloha: dlouhá (nejméně 2 × delší než vaječník)		
			Cirový vak: protáhlý, hruškovitého tvaru		

3.4 ŘÁD SILURIFORMES

Součástí této bakalářské práce je studium tasemnic z řádu Caryophyllidea, které se vyskytují u ryb řádu Siluriformes (čeledi Claridae, Claroteidae a Heteropneustidae) výjimečně, patrně jako náhodné nálezy, u kaprovitých ryb, tj. řádu Cypriniformes (čeleď Cyprinidae). Sumci a parmy zmíněných čeledí, které mohou hostit tasemnice rodu *Monobothrioides*, jsou rozšířeni po velké části Afriky.

3.4.1 Clariidae

V této čeledi je 13 popsáných rodů se 100 druhy. Tito sumci jsou rozšířeni po celé Africe, Sýrii, jižní a východní Asii (Filipíny a Jáva). Mezi charakteristické znaky této čeledi patří dlouhá hřbetní ploutev, zaoblené ocasní ploutve, široké žaberní otvory a 4 páry vousků. Dýchání probíhá skrz labyrintový orgán, zvedající se k žaberním obloukům („labyrintoví sumci“). Některé druhy jsou schopny krátké chůze po zemi („chodící sumci“) (Nelson, 1994). Mezi nejvýznamnější druhy této čeledi patří *Clarias anguillaris*, *C. batrachus* a *C. gariepinus*.

Dospělci *Clarias batrachus* (L.) (obr. 7) se vyskytují v jihovýchodní Asii, konkrétně v povodí Mekongu a řeky Chao Phraya, na Malajském poloostrově, Jávě, Sumatře, Borneu a Srí Lance. Dosahují délky až 47 cm a obývají nížinné toky, močály, rybníky, příkopy, rýžová pole a rybníky, které jsou nízko položené a byly vytvořené zatopením řek při povodních. Obvykle osídlují stojaté, bahnitě vody. Vyskytují se také ve středních až velkých řekách, zaplavených polích a stojatých vodách, včetně pomalu tekoucích kanálů. Občas mohou žít i mimo vodu a přesouvat se na krátké vzdálenosti po souši. Živí se larvami hmyzu, žížalami, krevetami, malými rybami a zbytky organického materiálu. Je to důležitá ryba z hlediska výživy lidí v některých oblastech (Rahman, 1989).



Obrázek 7. *Clarias batrachus* (Linnaeus, 1758) – keříčkovec žabí

(Zdroj: [http:// www.fishbase.org](http://www.fishbase.org))

Dalším významným druhem je *Clarias gariepinus* (Burchell) (obr. 8), který je považován za nejvíce rozšířený druh chovaný v akvakulturách. Tento sumec, který přežívá i v málo příznivých podmínkách, může být nalezen jak ve sladkovodní, tak brakické vodě, často i špatně okysličené (Adebayo a kol., 2012). Dorůstá délky až 170 cm (běžněji však kolem 90 cm) a může vážit až 60 kg. Dožívá se 8 let. Je rozšířen téměř po celé Africe (s výjimkou Maghrebu, horní a dolní Guinei a Kapské provincie), Asii (Jordánsko, Izrael, Libanon, Sýrie a severní Turecko). V současné době se díky importu rozšiřuje do dalších částí Afriky, Evropy a Asie (Froese a Pauly, 2012).

Dospělci tohoto druhu se vyskytují především v klidných vodách jezer a rybníků, ale občas mohou přebývat v rychle tekoucích řekách a v peřejích. Jsou schopni tolerovat a velmi dobře snášet extrémní podmínky prostředí. V období sucha přečkávají nepříznivé období v bahnitých substrátech a občas polykají vzduch ústy (Teugels, 1986). Na lov se vydávají v noci a loví hmyz, plankton, bezobratlé organismy a ryby, občas také malé ptáky a tlející maso a rostliny. V období rozmnožování migrují do řek a potoků, kde se třou. V rámci specifických agresivních interakcí mohou vytvářet jednofázové elektrické výboje, které mohou trvat 5–260 ms. Tento sumec je v akvakultuře známý jako „ostrozubý“ a je to důležitá potravinová ryba v Africe (Baron a kol., 1994).

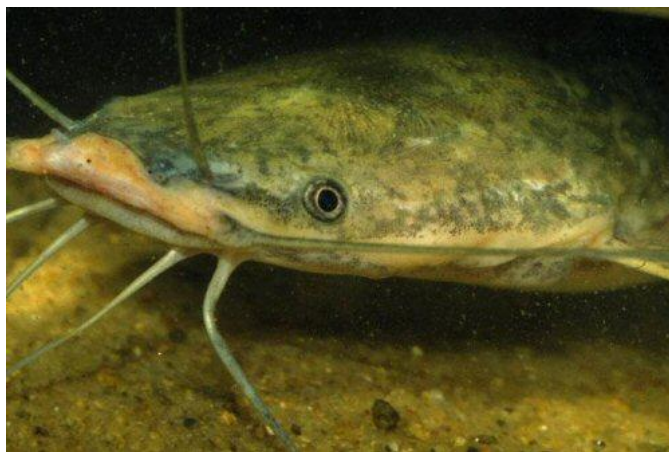


Obrázek 8. *Clarias gariepinus* (Burchell, 1822) – keříčkovec červenolemý
(Zdroj:<http://www.fishbase.org>)

Dalším hostitelem karyofylidních tasemnic rodu *Monobothrioides* je sumec *Clarias anguillaris* (L.) (= synonymum *Clarias lazera*) (obr. 9), který dosahuje maximální délky až 100 cm a hmotnosti 7 kg. Obývá většinu území Afriky a to zejména v povodí dolního a středního Nilu, v jezeře Čad (včetně řek Logone a Shari), dále v povodí řek Niger a Benoue, pobřežních řekách Beninu, Toga, Ghany, Pobřeží slonoviny a dolních tocích řek Gambie a Senegalu. Reliktní populace se vyskytují v Mauretánii a v jižním Alžírsku (Froese a Pauly,

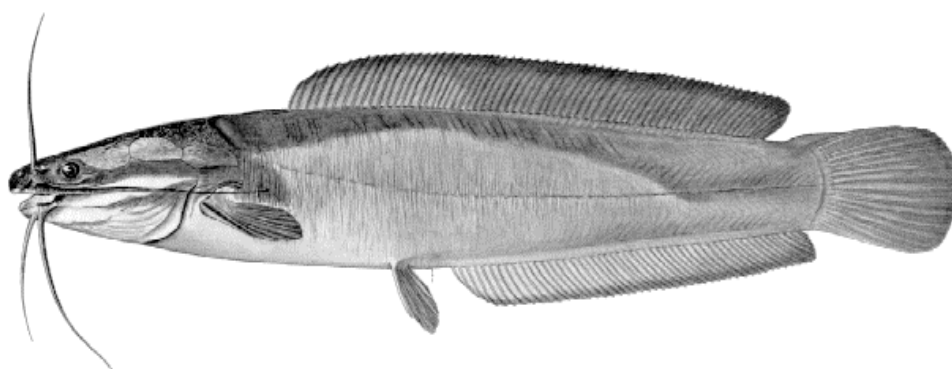
2012). Tento druh sumce je velmi častý v povodňových oblastech, ale jinak žije hlavně v hlubokých vodách, na bahnitěm dně. Pokud jezera či kaluže za suchých období vysychají, tak většinou umírá v blátě. Mezi jeho běžnou potravu patří ryby, měkkýši, korýši, rozsivky, organické zbytky a různé organismy na dně (Teugels, 1986).

C. anguillaris je ohrožen nadměrným komerčním rybolovem. Možné hrozby pro tento druh představují přehrad, znečištěné vody (zemědělství, domácí a komerční /průmyslové znečištění), podzemní těžba a sucho (Azeroual a kol., 2010).



Obrázek 9. *Clarias anguillaris* (Linnaeus, 1758) – keříčkovec africký
(Zdroj: <http://www.scotcat.com>)

Specifickým hostitelem tasemnice *Monobothrioides woodlandi* je sumec *Clarias ngamensis* (Boulenger) (= synonymum druhu *Clarias mellandi*) (obr. 10). Tento druh sumce dorůstá velikosti 73 cm a váží až 4 kg. Obývá téměř celou Afriku (Froese a Pauly, 2012). Žije na bahnitých dnech v bažinatých a vegetací zarostlých oblastech. Jeho hlavní potravou jsou měkkýši, suchozemský a vodní hmyz, krevety, krabi a ryby. *C. ngamensis* je používán v akvakultuře, ve východní Africe je ohrožen z důvodu ubývání vhodných biotopů. Tyto ryby se mohou dožít 5 až 6 let (Skelton, 1993).



Obrázek 10. *Clarias ngamensis* (Boulenger, 1905) – keříčkovec
(Zdroj: <http://www.fishbase.org>)

3.4.2 Claroteidae

V této čeledi je popsáno 7 rodů s 59 druhy. Tělo těchto sumců je mírně prodloužené. Hřbetní a prsní ploutve mají velmi silné trny. Tuková ploutvička je přítomná.

Tasemnice rodu *Monobothrioides* se vyskytují v sumecích rodu *Auchenoglanis*, zejména druhu *A. biscutatus* (Geoffroy Saint-Hilaire) (obr. 11) z této čeledi. *Auchenoglanis biscutatus* dosahuje délky až 54 cm a hmotnosti 4,4 kg. Je rozšířen téměř po celé Africe, v povodí řek Nil, Niger, Senegal, Gambie a v jezeře Čad (Froese a Pauly, 2012).

A. biscutatus se vyskytuje v tekoucí vodě, v jezerech zarostlých vegetací, vzácně v méně zarostlých jezerech. Živí se organickým odpadem, hmyzem, zejména larvami pakomárů a měkkýši. Rozmnožování probíhá v průběhu celého roku, s vrcholem v obdobích sucha (Bailey, 1994).



Obrázek 11. *Auchenoglanis biscutatus* (Geoffroy Saint - Hilaire, 1809) – sumíček dvojitý
(Zdroj: <http://www.seriouslyfish.com>)

Dalším druhem z čeledi Claroteidae, v němž se vyskytují tasemnice rodu *Monobothrioides*, je sumec *Auchenoglanis occidentalis* (Valenciennes) (obr. 12). Je to tropická, sladkovodní, komerčně využívaná ryba, která dosahuje délky až 70 cm. Je rozšířena ve většině velkých řek západní Afriky, v jezeře Čad, po celém povodí Konga, Nilu, v jezerech ve východní Africe a v řece Omo (Froese a Pauly, 2012).

Tento druh sumce obývá jezera a velké řeky. Vyskytuje se v mělkých vodách s bahnitým dnem. Je to všežravec a živí se planktonem, měkkýši, semeny a dendritem. Je oviparní a vejce jsou střeženy samcem (Ochi a kol., 2001).



Obrázek 12. *Auchenoglanis occidentalis* (Valenciennes, 1840) – sumíček západní
(Zdroj: <http://www.biolib.cz>)

3.4.3 Heteropneustidae

U těchto sumců je popsán jeden rod a dva druhy, které jsou rozšířeny od Pákistánu až po Thajsko. Jejich společným znakem je prodloužené a stlačené tělo se sníženou hlavou. Mají dlouhé vzdušné vaky, které slouží jako plíce a dosahují až za zadní stranu žaberní komory. Krátké hřbetní ploutve jsou bez předních trnů. Nemají žádnou tukovou ploutev. Prsní trny s jedovou žlázou mohou být pro člověka nebezpečné (Nelson, 1994).

Nejvýznamnější z této čeledi je bodající sumec *Heteropneustes fossilis* (Bloch) (obr. 13) dosahující délky až 30 cm a vyskytující se v oblasti Srí Lanky, Pákistánu až po Myanmar (Froese a Pauly, 2012). V této rybě bylo zaznamenáno celkem 19 druhů karyofylidních tasemnic (Ash a kol., 2011(a)). Tento sumec má dobře stravitelné, chutné a velmi výživné rybí jídlo, které navíc obsahuje málo kostí a ostnů a má nízký obsah tuku. Toleruje mírně brakickou vodu a je oviparní. Má široké komerční využití a představuje důležitou složku jídla v mnoha částech Indického subkontinentu a v dalších zemích Asie (Shirai a kol., 2002; Ahmed, 2012).

Keříčkovec dvouosý je díky svému širokému areálu rozšíření a dýchacím orgánům široce rozšířený po celém Indickém subkontinentu. Nalézá se hlavně v rybnících, příkopech, bažinách a močálech. Občas se vyskytuje také v bahnitých řekách (Ahmed, 2012), které jsou často pokryté makrovegetací, jako jsou vodní hyacinty. Ty jsou charakteristické nízkou hladinou rozpuštěného kyslíku, velkým množstvím hydrogenuhličitanu a amoniaku (Saha a Ratha, 2007). Svaly této ryby obsahují velké množství železa ($226 \text{ mg } 100\text{g}^{-1}$) a vápník, který je velmi užitečný pro zdraví člověka (Pillay, 1990).



Obrázek 13. *Heteropneustes fossilis* (Bloch, 1794) – keříčkovec dvouosý
(Zdroj: <http://www.biolib.cz>)

3.5 ŘÁD CYPRINIFORMES (Cyprinidae)

V této početné čeledi je doposud popsáno 210 rodů s 2010 druhy. Hlavním charakteristickým znakem jsou 4 masité vousky a zakřivená ústa pod předním koncem hlavy. Ústa jsou občas přísavkovitého typu. Trup je protáhlý, ze stran smáčklý a pokrytý drobnými šupinami, které jsou největší na ocase. Ploutve jsou krátké, ale dosti vysoké. Hřbetní ploutev má ostnité paprsky. Vlastní požerákové kosti s 1–3 řadami zubů, každá řada může mít maximálně 8 zubů. Maximální délka těla je nejméně 2,5 m až 3 m, některé druhy však měří méně než 5 cm. Tyto ryby jsou rozšířeny po celé Severní Americe (severní Kanada až jižní Mexiko), Africe a Eurasii. Některé druhy si mohou stavět hnízda a/nebo chránit vejce (Nelson, 1994).

Nejvýznamnějším hostitelem karyofylidních tasemnic jsou kaprovité ryby, tj. zástupci řádu Cypriniformes, především čeledi Cyprinidae a Catostomidae. Z parmy druhu *Labeobarbus nedgia* (Rüppell) (= synonymum druhu *Barbus nedgia*) (obr. 14) pochází nepublikovaný nález tasemnice rodu *Monobothrioides*, která nepochybně patří druhu *M. chalmersius*. Tato parma dorůstá maximální délky až 71 cm a váží kolem 1 kg. Vyskytuje se na celém území Afriky, nejčastěji však v jezeře Tana a na dalších lokalitách v Etiopii (Froese a Pauly, 2012).

Tento druh parmy se vyskytuje především na skalnatých substrátech ve vodě do 6 m hloubky. Živí se hlavně larvami hmyzu, ale i mnohem rozmanitější stravou, jakou může být dospělý hmyz, měkkýši a dendritus. Velké exempláře, které se nacházejí v jezeře Tana, požírají sladkovodní kraby rodu *Potamonautes* a ryby (Nagelkerke a Sibbing, 1997).



Obrázek 14. *Labeobarbus nedgia* (Rüppell, 1835) – parma gorazanská
(Zdroj: <http://www.fishbase.org>)

4. MATERIÁL A METODIKA

Výsledky jsou založeny na morfologicko-taxonickém zpracování standardně nafiřovaných vzorků, mikrofotografií ze SEM a molekulárních analýz (izolace DNA, PCR amplifikace, sekvenování 28S rDNA a fylogenetické analýzy).

4.1 Morfologicko-taxonické zpracování dat

Zkoumaný materiál tasemnic byl nasbíráán Tomášem Scholzem a Miloslavem Jirků a jejich spolupracovníky z více než 2000 sladkovodních ryb 120 druhů 23 tříd. Tasemnice byly nalezeny převážně v sumcích rodu *Clarias* (*C. anguillaris*, *C. gariepinus* a jeden neidentifikovatelný druh) a sumcích rodu *Auchenoglanis*. Ryby byly získány v Demokratické republice Kongo (dříve Zair), Egyptě, Etiopii, Senegal a Súdánu v letech 2001–2008. Počty vyšetřených ryb jsou uvedeny v tabulce 3.

Dále je tato studie založena na materiálu z muzejních sbírek, včetně dostupného typového materiálu. Uvedené typové a další materiály jsou uloženy v The Natural History Museum v Londýně, UK (akronym BMNH), v Muséum d'histoire naturelle Genève, Switzerland (MHNG) v Parazitologickém ústavu Biologického centra AV ČR v Českých Budějovicích (IPCAS).

Nový materiál byl získán z následujících lokalit: Egypt: El-Minia horní Egypt, řeka Nil (28°05'N, 30°45'E), Demokratická republika Kongo: dolní tok řeky Kongo v Bulu (5°1'S, 14°1'E), Pioka (4°54'23"S, 14°23'55"E), Keňa: jezero Turkana – El-Molo Bay (2°50'N, 36°42'E), Kalokol (3°33'N, 35°53'E) a Todonyang (4°26'N, 35°57'E), Súdán: řeka Nil v Khartoumu (15°37'N, 32°31'E), Bílý Nil v Kostí (13°11'N, 32°40'E), Modrý Nil v Sennaru (13°32'N, 33°38'E) a řeka Atbarah v Khashm el-Girba (14°57'N, 35°54'E).

Trvalé preparáty byly prohlíženy prostřednictvím mikroskopu Olympus BX 51. Ilustrace tasemnic byly zhotoveny za použití kreslicího aparátu při použití Nomarského interferenčního kontrastu (viz výsledky, obr. 1, 2, 3 a 4). Mikrofotografie byly pořizeny v programu Quick Photo Micro 2.1 s použitím kamerového zařízení Olympus DP 71 (viz výsledky, obr. 6). V tomto programu bylo provedeno i následné měření tělesných rozměrů a orgánů měřených exemplářů. Rozměry jsou uvedeny v mikrometrech, pokud není uvedeno jinak (např. délka děla v milimetrech) a jsou zaznamenány v tabulkách 4, 5, 6 a 7 (viz výsledky).

4.2 Molekulární data

4.2.1 Izolace DNA

K izolaci DNA byly použity vybrané vzorky tasemnic rodu *Monobothrioides* fixované v 96–99% etanolu (tabulka 1). DNA byla extrahována pomocí komerčního kitu (DNeasy Blood and Tissue Kit) od firmy QIAGEN. Postup byl proveden dle návodu dodaného výrobcem. Nejdříve byla tkáň rozstříhána na malé kousky a umístěna do 1.5 ml mikrocentrifugační zkumavky. Tkáň byla poté zhomogenizována v 180 µl pufru ATL a zlyzována přidáním 20 µl proteinázy K, směs byla promíchána pomocí vortexu a inkubována při teplotě 56 °C s občasným protřepáváním 2 hodiny v Dry Block Heating Thermostat (Thermal Cycler). Po uplynutí této doby bylo ke směsi přidáno 200 µl pufru AL a 200 µl etanolu (96–100%) a tato směs byla po každém kroku opět dobře promíchána vortexem. Získaný homogenát byl přenesen pomocí pipety do Spin kolony o objemu 2 ml. Poté byla směs zcentrifugována při 8000 rpm (otáčkách za minutu) po dobu 1 minuty. Následovalo promytí kolony, nejdříve bylo použito 500 µl pufru AW1 (centrifugace probíhala 1 minutu při 8000 rpm) a poté 500 µl AW2 (centrifugace 3 minuty při 14000 rpm). Poté byla DNA eluována 50 µl deionizované H₂O centrifugací při 8000 rpm po dobu 1 minuty. Koncentrace izolované DNA byla stanovena spektrofotometricky, pomocí přístroje NanoDrop a DNA byla poté uskladněna při teplotě -20°C.

Tabulka 1. Vzorky tasemnic rodu *Monobothrioides* použité k izolaci DNA.

Druh (řád Caryophyllidea)	Hostitel	Lokalita	Označení vzorku
<i>Monobothrioides chalmersius</i>	<i>Clarias anguillaris</i>	Khartoum, Súdán	Sud 59 TS06/60
<i>M. chalmersius</i>	<i>Clarias</i> sp.	Kosti, Súdán	Sud 114 TS06/68
<i>M. chalmersius</i>	<i>Clarias</i> sp.	Kosti, Súdán	Sud 151 TS06/70
<i>M. chalmersius</i>	<i>Clarias</i> sp.	Kosti, Súdán	Sud 153 TS06/71
<i>M. chalmersius</i>	<i>Auchenoglanis</i> sp.	Kosti, Súdán	Sud 157 TS06/73
<i>M. chalmersius</i>	<i>Clarias</i> sp.	Kostí, Bílý Nil, Súdán	Sud 216 TS08/403a
<i>M. chalmersius</i>	<i>Clarias anguillaris</i>	Kostí, Bílý Nil, Súdán	Sud 286 TS08/423
<i>M. tchadensis</i>	<i>A. occidentalis</i>	Sennar, Modrý Nil, Súdán	Sud 398 TS09/141
<i>M. tchadensis</i>	<i>A. occidentalis</i>	Sennar, Modrý Nil, Súdán	Sud 399 TS09/142
<i>M. tchadensis</i>	<i>A. occidentalis</i>	Sennar, Modrý Nil, Súdán	Sud 401 TS09/144
<i>M. chalmersius</i>	<i>Clarias gariepinus</i>	Sennar, Modrý Nil, Súdán	Sud 435 TS09/145

4.2.2 Polymerázová řetězová reakce (PCR)

Gen kódující velkou ribozomální podjednotku RNA (28S rDNA) byl amplifikován metodou PCR. Reakční směs o finálním objemu 25 μ l obsahovala 20 pmol každého forward (LSU-5; Littlewood a kol., 2000) a reverse primeru (1500R; Olson a kol., 2003), 200 μ M každého nukleotidu dNTP, 2 μ l pufru 10 \times PCR Buffer, 0.5 U TaKaRa Taq polymerázy (TaKaRa) a 1 μ l genomové DNA. PCR amplifikace probíhala v termocykleru T100TM Thermal Cycler. Cyklus PCR probíhal při počáteční teplotě 95 C° 30 sekund, při 55°C 30 sekund a při 72°C 90 sekund; cyklus proběhl celkem 35 \times .

4.2.3 Agarózová elektroforéza

Agarózová gelová elektroforéza byla použita ke kontrole úspěšnosti izolace genomové DNA z tkání tasemnic a velikosti DNA fragmentů po PCR amplifikaci. Elektroforéza probíhala v 1% agarózovém gelu s přidavkem koncentrovaného fluorescenčního barviva GelRed (Biotium) v koncentrovaném TAE pufru. Pro odečtení velikosti amplifikovaných produktů byl použit marker 1 kb DNA Ladder (New England Biolabs). Přítomnost a velikost produktů byla zjišťována prostřednictvím UV transiluminátoru (TFX-35.M Vilber Lourmat). Fotografie gelů byly pořízeny digitální kamerou a vyhodnoceny počítačovým programem Kodak Digital Science 1D.

4.3 Příprava vzorků na skenovací elektronový mikroskop (SEM)

Připravený materiál se sedmi skolexy (tabulka 2) tasemnic rodu *Monobothrioides* byl přenesen ze zkumavek s fixačními činidly do Petriho misek, které obsahovaly 70% alkohol. Po fixaci byly skolexy odvodněny v zestupnou alkoholovou řadou (70%, 80%, 90%, 96% a 2 \times 100% etanolem v intervalu 15–30 minut). Po odvodnění byly vzorky přeneseny do odsávací digestoře, kde k nim bylo přidáno pár kapek hexamethylsilazanu (HMDS). Po 4 minutách bylo toto medium odsáno a vzorek byl ponechán 15 minut v digestoři, kde byl vysušován.

Vysušené vzorky byly pomocí oboustranné lepící izolepy umístěny na nosný hliníkový terčík, který byl ve vakuových podmínkách pokoven tenkou vrstvičkou zlata. Výsledné mikrofotografie (viz obr. 2, 3 a 5) byly vyhotoveny skenovacím elektronovým mikroskopem FESEM JSM 7401F od japonské firmy JEOL při napětí 4kV a při zvětšení 10 000 krát.

Tabulka 2. Vzorky použité na SEM studium.

Druh	Hostitel	Lokalita	Označení vzorku	Počet skolexů
<i>Monobothrioides tchadensis</i>	<i>Auchenoglanis occidentalis</i>	Kongo, Pioka	LC 183/08	1
<i>Monobothrioides</i> sp. 2	<i>Auchenoglanis occidentalis</i>	Kongo, Bulu	LC 610/08	4
<i>Monobothrioides tchadensis</i>	<i>Auchenoglanis occidentalis</i>	Kongo, Pioka	LC 182/08	2
<i>Monobothrioides chalmersius</i>	<i>Clarias</i> sp.	Súdán, Kosti	SUD 216/08	2

Tabulka 3. Seznam vyšetřených ryb z Demokratické republiky Kongo (2008; CON); Etiopie (2006; ET), Gabonu (2010; GAB), Keni (2008 –2010; KET) a Súdánu (2006, 2008 a 2009; SUD). Zkratka: * larva nebo plerocercoid ve střevě. (Převzato z Kuchta a kol., 2012)

ROD	DRUH	SUD	ET	GAB	KET	CON	DRUH TASEMNICE
ALESTIDAE							
<i>Alestes</i>	<i>baremoze</i>	6	–	–	19	–	
<i>Alestes</i>	<i>dentex</i>	3	–	–	8	–	
<i>Brycinus</i>	<i>kingsleyae</i>	–	–	1	–	–	
<i>Brycinus</i>	<i>opisthotaenia</i>	–	–	1	–	–	
<i>Brycinus</i>	<i>macrolepidotus</i>	–	–	4	–	–	
<i>Brycinus</i>	<i>nurse</i>	42	–	–	–	–	
<i>Brycinus</i>	<i>minutus</i>	–	–	–	4	–	
<i>Brychonaethiops</i>	<i>microstoma</i>	–	–	2	–	–	
<i>Hydrocynus</i>	<i>brevis</i>	1	–	–	–	–	
<i>Hydrocynus</i>	<i>forskahlii</i>	1	–	–	43	–	
<i>Hydrocynus</i>	<i>vittatus</i>	1	–	–	–	–	
ANADANTIDAE							
<i>Ctenopoma</i>	<i>petherici</i>	1	–	–	–	–	
<i>Ctenopoma</i>	<i>kingsleyae</i>	–	–	2	–	–	
BAGRIDAE							
<i>Bagrus</i>	<i>bajad</i>	9	–	–	36	–	
<i>Bagrus</i>	<i>docmak</i>	8	3	–	5	–	
<i>Bagrus</i>	<i>meridionalis</i>	–	–	–	–	–	<i>Tetracampos martinae</i>
<i>Pseudobagrus</i>	<i>albomarginatus</i>	–	–	1	–	–	
CLAROTIDAE							
<i>Auchenoglanis</i>	<i>biscutatus</i>	7	–	–	–	–	
<i>Auchenoglanis</i>	<i>occidentalis</i>	28	–	–	32	1/7	<i>Polyonchobothrium polypteri</i> *
<i>Auchenoglanis</i>	sp.	10	–	–	–	–	
<i>Clarotes</i>	<i>laticeps</i>	29	–	–	–	–	
<i>Chrysichthys</i>	<i>auratus</i>	1/43	–	6	10	–	<i>Tetracampos ciliotheca</i>
<i>Chrysichthys</i>	<i>nigrodigitatus</i>	–	–	6	–	–	
<i>Chrysichthys</i>	<i>thysi</i>	–	–	2	–	–	
<i>Chrysichthys</i>	<i>thonneri</i>	–	–	–	–	–	
<i>Parauchenoglanis</i>	sp.	–	–	4	–	–	
LATIDAE							
<i>Lates</i>	<i>niloticus</i>	5	–	–	5/34	–	<i>Polyonchobothrium polypteri</i> *
<i>Lates</i>	<i>longispinis</i>	–	–	–	1	–	
CICHLIDAE							
<i>Haplochromis</i>	<i>macconneli</i>	–	–	–	4	–	
<i>Haplochromis</i>	<i>rudolfianus</i>	–	–	–	9	–	
<i>Hemichromis</i>	<i>bimaculatus</i>	3	–	–	–	–	
<i>Hemichromis</i>	<i>elongatus</i>	–	–	–	–	1	

<i>Hemichromis</i>	<i>exsul</i>	–	–	–	3	–	
<i>Hemichromis</i>	<i>fasciatus</i>	5	–	2	–	–	
<i>Oreochromis</i>	<i>niloticus</i>	13	2	–	72	–	
<i>Sarotherodon</i>	<i>galilaeus</i>	5	–	–	38	–	
<i>Tilapia</i>	<i>tholloni</i>	–	–	–	–	2	
<i>Tilapia</i>	<i>zillii</i>	3	–	–	27	–	
CITHARINIDAE							
<i>Citharinus</i>	<i>citharus</i>	–	–	–	45	–	
CLARIDAE							
<i>Clariallabes</i>	sp.	–	–	–	–	1	
<i>Clarias</i>	<i>anguillaris</i>	2/18	–	–	–	–	<i>Tetracampos ciliotheca</i>
<i>Clarias</i>	<i>buthupogon</i>	–	–	2	–	1	
<i>Clarias</i>	<i>garipepinus</i>	5/30	84/322	–	14/43	1	<i>Tetracampos cilliotheca</i>
<i>Clarias</i>	<i>camerunensis</i>	–	–	2	–	–	
<i>Clarias</i>	<i>weneri</i>	5	–	–	–	–	
<i>Clarias</i>	sp.	4/88	–	4	–	3	<i>Tetracampos cilliotheca</i>
<i>Heterobranchus</i>	<i>bidorsalis</i>	1/13	1/2	–	6/11	–	<i>Kirstenella gordonii</i>
<i>Platyallabes</i>	<i>tihoni</i>	–	–	–	–	1	
CYPRINIDAE							
<i>Barbus</i>	<i>bynni</i>	2	–	–	11	–	
<i>Barbus</i>	<i>holotaenia</i>	–	–	2	–	–	
<i>Barbus</i>	<i>humilis</i>	–	19	–	–	–	
<i>Barbus</i>	<i>neglectus</i>	1	–	–	–	–	
<i>Barbus</i>	sp.	2	–	–	–	–	
<i>Cyprinus</i>	<i>caprio</i>	1	–	–	–	–	
<i>Garra</i>	<i>tana</i>	–	1	–	–	–	
<i>Labeobarbus</i>	<i>brevicephalus</i>	–	2	–	–	–	
<i>Labeobarbus</i>	<i>intermedius</i>	–	7	–	–	–	
<i>Labeobarbus</i>	<i>megastoma</i>	–	1	–	–	–	
<i>Labeobarbus</i>	<i>nedgia</i>	–	1/3	–	–	–	<i>Bothriocephalus acheilognathi</i>
<i>Labeobarbus</i>	<i>platydorsus</i>	–	1	–	–	–	
<i>Labeobarbus</i>	<i>tsanensis</i>	–	4	–	–	–	
<i>Labeo</i>	<i>horie</i>	5	–	–	38	–	
<i>Labeo</i>	<i>niloticus</i>	9	–	–	4	–	
<i>Labeo</i>	sp.	1	–	–	–	–	
<i>Leptocypris</i>	<i>niloticus</i>	–	–	–	5	–	
DISTICHODONTIDAE							
<i>Distichodus</i>	<i>rostratus</i>	2	–	–	–	–	
<i>Distichodus</i>	<i>nefasch</i>	1	–	–	30	–	
<i>Distichodus</i>	<i>notospilus</i>	–	–	1	–	–	
<i>Ichthyborus</i>	<i>besse</i>	2/5	–	–	–	–	<i>Ichthybothrium ichthybori</i>
<i>Xenocharax</i>	<i>spilurus</i>	–	–	7	–	–	
GYMNARCHIDAE							
<i>Gymnarchus</i>	<i>niloticus</i>	1	–	–	2	–	
HEPSETIDAE							
<i>Hepsetus</i>	<i>odoe</i>	–	–	3	–	–	
HETEROTIDAE							
<i>Heterotis</i>	<i>niloticus</i>	19	–	–	12	–	
CHANNIDAE							
<i>Parachanna</i>	<i>obscura</i>	5	–	–	–	–	
<i>Parachanna</i>	sp.	–	–	–	–	2	
MALAPTERURIDAE							
<i>Malapterurus</i>	<i>electricus</i>	33	–	–	1	–	
<i>Malapterurus</i>	<i>gossei</i>	–	–	–	–	17	
MOCHOKIDAE							
<i>Synodontis</i>	<i>acanthomias</i>	–	–	–	–	4	
<i>Synodontis</i>	<i>batensoda</i>	5	–	–	–	–	
<i>Synodontis</i>	<i>caudovittata</i>	4	–	–	–	–	
<i>Synodontis</i>	<i>frontosa</i>	44	–	–	62	–	
<i>Synodontis</i>	<i>euptera</i>	4	–	–	–	–	
<i>Synodontis</i>	<i>filamentosa</i>	1	–	–	–	–	
<i>Synodontis</i>	<i>membranacea</i>	4	–	–	–	–	

<i>Synodontis</i>	<i>nigrita</i>	20	–	–	–	–	
<i>Synodontis</i>	<i>serrata</i>	23	–	–	–	–	
<i>Synodontis</i>	<i>schall</i>	91	1	–	104	–	
<i>Synodontis</i>	<i>sorex</i>	1	–	–	–	–	
<i>Synodontis</i>	sp.	32	–	–	–	–	
MORMYRIDAE							
<i>Hyperopisus</i>	<i>bebe</i>	4	–	–	1	–	
<i>Hyperopisus</i>	sp.	1	–	–	–	–	
<i>Marcusenius</i>	<i>cyprinoides</i>	9	–	–	–	–	
<i>Marcusenius</i>	<i>moorii</i>	–	–	1	–	–	
<i>Mormyrops</i>	<i>anguilloides</i>	4	–	–	–	1	
<i>Mormyrus</i>	<i>caschive</i>	15	–	–	–	–	
<i>Mormyrus</i>	<i>hasselquisti</i>	1	–	–	–	–	
<i>Mormyrus</i>	<i>kannume</i>	23	–	–	2	–	
<i>Mormyrus</i>	<i>niloticus</i>	4	–	–	–	–	
<i>Mormyrus</i>	sp.	16	–	–	–	–	
<i>Pollimyrus</i>	<i>isidori</i>	7	–	–	–	–	
NOTHOBRANCHIDAE							
<i>Epiplatys</i>	<i>bifasciatus</i>	2	–	–	–	–	
<i>Epiplatys</i>	<i>spilargyreus</i>	2	–	–	–	–	
POECILIIDAE							
<i>Aplocheilichthys</i>	<i>jeanneli</i>	–	–	–	4	–	
<i>Aplocheilichthys</i>	<i>rudolfianus</i>	–	–	–	2	–	
POLYPTERIDAE							
<i>Polypterus</i>	<i>bichir</i>	1/1	–	–	6/8	–	<i>Polyonchobothrium polypteri</i>
<i>Polypterus</i>	<i>endlicheri</i>	1/3	–	–	–	–	<i>Polyonchobothrium polypteri</i>
<i>Polypterus</i>	<i>ornatipinnis</i>	–	–	–	–	1	
<i>Polypterus</i>	<i>senegalus</i>	1/13	–	–	8	–	<i>Polyonchobothrium polypteri</i>
<i>Polypterus</i>	sp.	1/14	–	–	–	–	<i>Polyonchobothrium polypteri</i>
PROTOPTERIDAE							
<i>Protopterus</i>	<i>aethiopicus</i>	3	–	–	1	–	
<i>Protopterus</i>	<i>annectens</i>	4	–	–	–	–	
SCHILBEIDAE							
<i>Schilbe</i>	<i>grenfelli</i>	–	–	5	–	1	
<i>Schilbe</i>	<i>intermedius</i>	2	–	–	–	–	
<i>Schilbe</i>	<i>multitaeniatus</i>	–	–	1	–	–	
<i>Schilbe</i>	<i>mystus</i>	1	–	–	–	–	
<i>Schilbe</i>	<i>uranoscopus</i>	2	–	–	5	–	
<i>Schilbe</i>	sp.	2	–	–	–	–	
TETRAODONTIDAE							
<i>Tetraodon</i>	<i>lineatus</i>	5	–	–	13	–	
<i>Tetraodon</i>	<i>miurus</i>	–	–	–	–	1	
CELKEM							
NASBÍRÁNO	120 spp.	821	368	59	757	44	

CELKEM VYŠETŘENO

2049

5. VÝSLEDKY

5.1 Druhové složení druhů rodu *Monobothrioides*

Studium odborné literatury i nově nasbíraného materiálu ukázalo přítomnost dvou popsaných (*Monobothrioides tchadensis* a *Monobothrioides chalmersius*) a dvou pravděpodobně nových druhů (sp. 1 a sp. 2). V následující části jsou tyto druhy stručně popsány a jejich rozměry jsou uvedeny v tabulkách.

5.2 *MONOBOTHRIOIDES CHALMERSIUS* (Woodland, 1924)

Morfologický popis je založen na základě měření 10 jedinců (rozměry jsou uvedeny v tabulce 4).

Tento druh (obr. 1, 2) je charakteristický rozšířeným skolexem, který tvoří až 1/7 délky těla, hlubokými zářezy na skolexu, apikální vchlípeninou (terminal introvert) a dlouhým krčkem, který je stejně široký jako tělo. Varlata jsou větší než vitelinní folikuly a zasahují dozadu do poloviny cirového vaku nebo na úroveň zadní části cirového vaku, někdy až k děloze. Cirový vak je malý a kulovitěho tvaru. Vaječník je ve tvaru „motýlka“. První vitelinní folikuly se nacházejí před varlaty a většinou dosahují k děloze, někdy až k vaječníku. Děloha je velmi dlouhá a oblast preovariálních děložních kliček může měřit až přes 3 mm. Velikost vajíček se v průměru pohybuje kolem 63 μm na délku a 38 μm na šířku.

Typovým hostitelem tohoto druhu je *Clarias* sp. (viz kapitola 3.4.2), dalšími hostiteli tohoto druhu jsou *Clarias anguillaris*, *C. gariepinus*, *C. weneri* a *Labeobarbus negia* (viz kapitola 3.5).

Areál rozšíření tohoto druhu zahrnuje Etiopii (řeka Beshelo), jezero Čad, Senegal a dolní Nil (Káhira, Luxor).

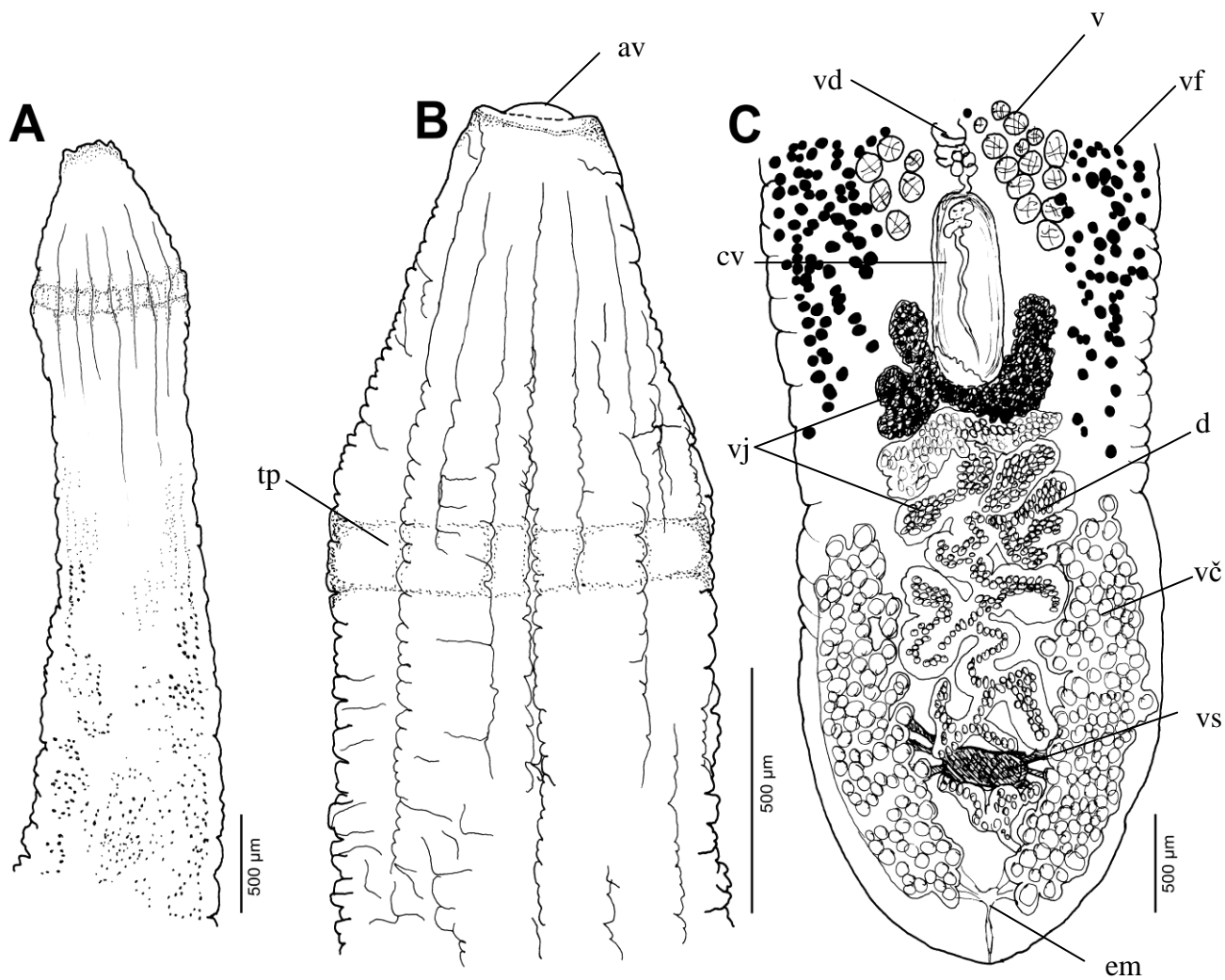
Komentář: Tento druh tasemnice je specifickým parazitem sumců rodu *Clarias*. Díky jejich geografickému rozšíření (Afrika) a biologii jsou velmi vhodnými hostiteli pro tento rod tasemnic (viz kapitola 3.4.2). Nově nalezený materiál, který byl získán Alainem de Chambrier v parmě *Labeobarbus negia* v Etiopii (řeka Beshelo) v roce 2006, naznačuje, že dalším potenciálním hostitelem druhu *M. chalmersius* mohou být kaprovité ryby. Tento rod ryb je charakteristický rozšířením po celém území Afriky; nejvíce zástupců žije v jezeře Tana a na dalších lokalitách v Etiopii.

Studovaný materiál se liší od jedinců popsaných v publikaci Hamady a kol. (2004) v několika znacích: délka a šířka varlat jsou u popsaného druhu větší než u našeho materiálu; ve tvaru vaječníku, který zmínění autoři popisují ve tvaru písmene H, zatímco v našem

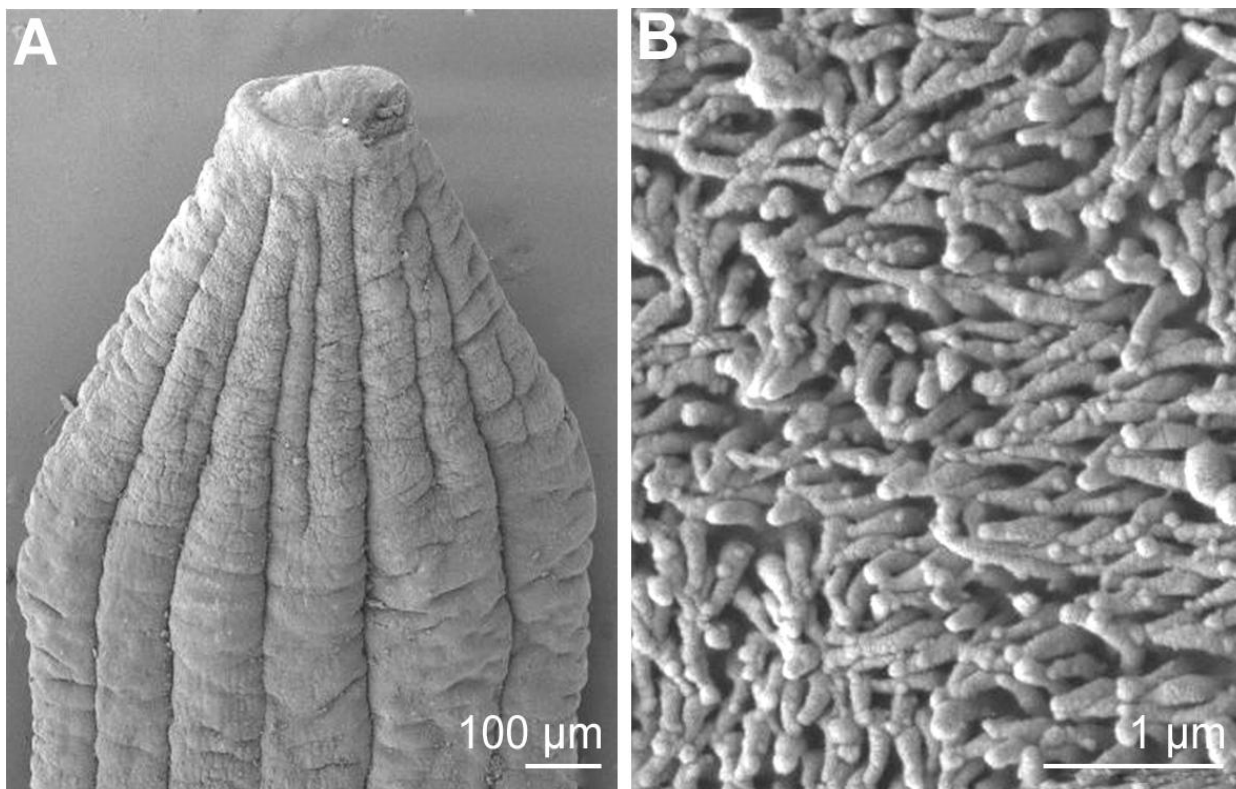
materiál je tvaru „motýlka“; velikostí vajíček, avšak popis Hamady a kol. (2004) uvádí pouze nedozrálá vajíčka.

Tabulka 4. Rozměry tasemnice *Monobothrioides chalmersius* v mikrometrech (μm), pokud není uvedeno jinak.

Typ tělesné struktury	Počet měření	Rozměry (min–max)
délka těla (mm)	10	10–38
šířka těla (mm)	11	0,1–3
šířka skolexu	10	830–1820
šířka krčku	2	1380–1540
varlata: délka (min–max)	11	64–168
šířka (min–max)	11	46–126
vzdálenost od vitelinních folikulů (mm)	8	2 – 18
vzdálenost od předního konce těla (mm)	6	4–20
dosahují k	11	k 1/2 cirového vaku nebo k děloze
délka cirového vaku	11	350–1026
šířka cirového vaku	11	212–622
poměr mezi šířkou cirového vaku a šířkou těla (%)	11	13–45
tvar vaječníku	11	motýlovitý
šířka	11	730–2187
délka křídla	11	847–2840
šířka křídla	11	187–808
délka vitelinních folikulů (min–max)	11	34–115
šířka vitelinních folikulů (min–max)	11	25 –91
vzdálenost od zadního konce těla (mm)	9	2–4
dosahuje k	11	děloze /vaječníku
poměr mezi délkou dělohy a délkou těla (%)	10	9–24
délka dělohy (mm)	11	1–4
velikost vajíček (délka×šířka) (min–max); (průměr)	8	57–41; 63 × 38
semenný rezervoár (délka)	10	1–4
vzdálenost mezi genitální póry	11	996–3061



Obrázek 1. *Monobothrioides chalmersius* Woodland, 1924 ze sumce *Clarias anguillaris*.
A – přední část těla (schematické rozmístění vitelinních folikulů a varlat); **B** – detail skolexu;
C – zadní část těla, ventrální pohled. *Zkratky:* av – apikální vchlípenina; cv – cirový vak;
d – děloha; em – exkreceční měchýř; v – varlata; vč – vaječník; vd – vas deferens (chámovod);
vf – vitelinní folikuly; vj – vajíčka; vs – vaječníková spojka (isthmus); tp – tmavý pás.



Obrázek 2. Skenovací elektronová mikrofotografie (SEM) druhu *Monobothrioides chalmersius* Woodland, 1924 (Caryophyllidea: Cestoda) ze sumce *Clarias* sp. ze Súdánu (Kosti). (A) skolex; (B) – mikrotrichy z přední části skolexu.

5.3 *MONOBOTHTHROIDES CUNNINGTONI* Fuhrmann et Baer, 1925

Tento druh nebyl mezi nově získanými tasemnicemi rodu *Monobothrioides* zastoupen. Jeho morfologický popis je uveden v literární rešerši (str. 16–17) a zde je připojena pouze morfologická diagnóza.

Tato tasemnice je charakteristická velmi polymorfním skolexem s početnými příčnými a podélnými rýhami, apikální vchlípeninou a dlouhým krčkem, který je téměř stejně široký jako skolex. Varlata dosahují k přední části cirového vaku. Cirový vak je protáhlého tvaru. Vaječník je ve tvaru písmene H. Vitelinní folikuly dosahují k přední části cirového vaku (maximálně do jeho 2/3) a nacházejí se před varlaty. Děloha je velmi dlouhá, především její preovariální oblast. Velikost vajíček se v průměru pohybuje do 54 µm na délku a 32 µm na šířku (Fuhrmann a Baer, 1925).

Typovým a dosud jediným definitivním hostitelem tohoto druhu je *Auchenoglanis occidentalis* (viz kapitola 3.4.3).

Geografické rozšíření tohoto druhu zahrnuje jezero Tanganyika ve východní Africe (Fuhrmann a Baer 1925); druh byl rovněž nalezen v neidentifikovaných sumcích v Tanzanii (Baylis, 1928; Prudhoe, 1951).

Komentář: Tasemnice *M. cunningtoni* se liší od ostatních druhů rodu *Monobothrioides* absencí vitelinních folikulů v zadní části těla podél vaječniku a velikostí těla, které dosahuje délky až 40 mm (Fuhrmann a Baer, 1925).

5.4 MONOBOTHRIOIDES WOODLANDI Mackiewicz et Beverley-Burton, 1967

Tento druh nebyl zastoupený mezi nově získanými druhy rodu *Monobothrioides*. Jeho morfologický popis je proto uveden v literární rešerši (viz str. 20).

Tento druh tasemnice je charakteristický dobře ohraničeným, dorzoventrálně stlačeným skolexem s podélnými žebry, který tvoří 1/4 celkové délky těla. Varlata dosahují až k zadní části cirového vaku. Cirový vak je protáhlého, hruškovitého tvaru. Vaječnik je folikulární. Vitelinní folikuly se nacházejí před varlaty a obvykle dosahují až k vaječniku. Děloha je dlouhá (nejméně dvakrát delší než vaječnik). Vajíčka měří v průměru 62 µm na délku a 41 µm na šířku (Mackiewicz a Beverley-Burton, 1967).

Typovým a jediným definitivním hostitelem tohoto druhu je *Clarias ngamensis* (viz kapitola 3.4.2). Tento druh byl dosud nalezen pouze v jezeře Chali v Bangweulských bažinách v severní Zambii, Afrika (Mackiewicz a Beverley-Burton, 1967).

Komentář: *M. woodlandi* se liší od *M. cunningtoni* malou velikostí a odlišným tvarem těla (*M. cunningtoni* může měřit až 40 mm). Druh *M. woodlandi* je velmi podobný druhu *M. chalmersius*, od něhož ho můžeme odlišit tím, že pohlavně zralí jedinci druhu *M. chalmersius* jsou výrazně větší a robustnější a mají odlišný tvar těla než *M. woodlandi*. Skolex *M. woodlandi* tvoří 1/3 z celkové 1/4 délky jedince, zatímco u *M. chalmersius* je to od 1/7 do 1/8 délky těla. Nejvýraznější rozdíl se týká rozvoje vnější podélné svaloviny. U *M. woodlandi* se skládají z malých svalů, které jsou zcela odlišné od vrstev vnitřní podélné svaloviny. U *M. chalmersius* jsou vnitřní a vnější podélná svalovina navzájem podobná (Mackiewicz a Beverley-Burton, 1967).

5.5 MONOBOTHRIOIDES TCHADENSIS Troncy, 1975

Morfologický popis tohoto druhu je založen na měření 11 jedinců (rozměry jsou uvedeny v tabulce 5).

Tento druh je charakteristický kuželovitým tvarem skolexu se zakulaceným či mírně vchlípeným apikálním koncem, záhybem z pseudosegmentace, různým počtem příčných i podélných rýh na skolexu a dlouhým štíhlým krčkem, který zaujímá přibližně 1/5–1/4 šířky těla. Varlata jsou větší než vitelinní folikuly a dosahují k přední části cirového vaku, někdy až do jeho jedné třetiny. Cirový vak je protáhlého, kapkovitého tvaru. Vaječnik je ve tvaru

písmene „H“ nebo převráceného písmene „A“ v případě dovnitř zahnutých a navzájem spojených zadních laloků vaječníku. Vitelinní folikuly společně s varlaty začínají až v 1/3 těla, jsou v přední části těla zmenšené a obvykle dosahují až k zadní části cirového vaku, někdy až do 1/3 až 1/2 dělohy. Děloha má krátkou preovariální oblast. Velikost vajíček se pohybuje v průměru 48 μm na délku a 31 μm na šířku.

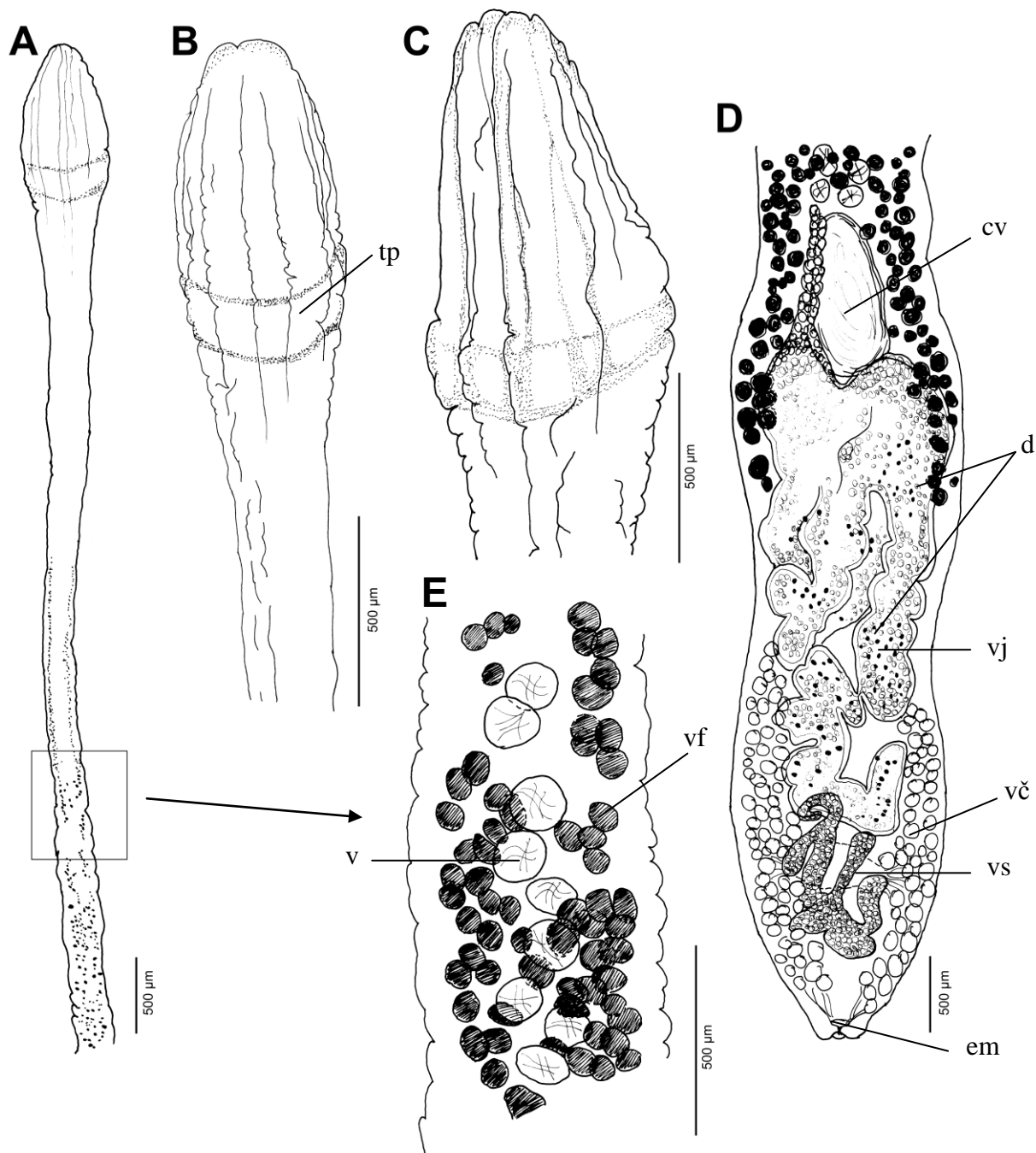
Typovým hostitelem tohoto druhu je *Auchenoglanis occidentalis* (viz kapitola 3.4.3), dalšími hostiteli tohoto druhu jsou *Auchenoglanis biscutatus* a *Auchenoglanis* sp.

Geografické rozšíření tohoto druhu zahrnuje dolní tok řeky Kongo (Pioka v Demokratické republice Kongo) a povodí řeky Nil, Súdán (Bílý Nil v Kostí a Modrý Nil v Sennaru).

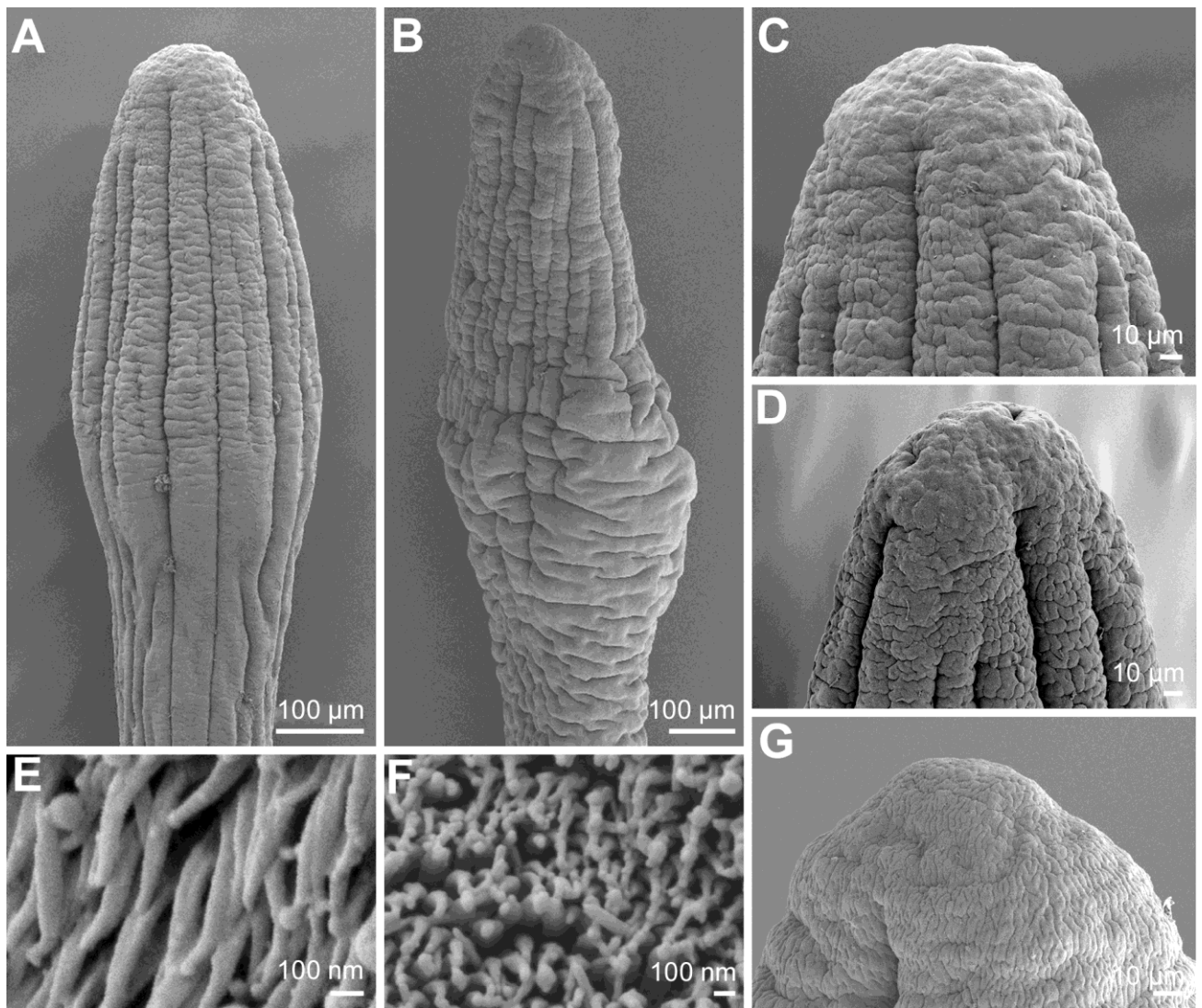
Komentář: Na základě morfologie skolexu (kuželovitý tvar, příčné a podélné rýhy, záhyb z pseudosegmentace), dlouhého štíhlého krčku, pozice vitelinních folikulů a varlat a krátké dělohy byly nově získané tasemnice identifikovány jako *M. tchadensis*, přestože se od jedinců popsanych Troncy (1978) poněkud liší rozměry skolexu, délkou těla, rozměry cirového vaku, velikostí vitelinních folikulů a vajíček (viz kapitola 3.3.2). Tasemnice, které byly popsány Troncym (1978) byly nepochybně kontrahovány a proto se jejich tvar i některé rozměry liší od nově získaného materiálu.

Tabulka 5. Rozměry tasemnice *Monobothrioides tchadensis* v mikrometrech (μm), pokud není uvedeno jinak.

Typ tělesné struktury	Počet měření	Nový materiál Rozměry (min–max)
délka těla (mm)	7	20–40
šířka těla (mm)	10	0,5–2,1
šířka skolexu	9	590–1330
šířka krčku	9	405–887
varlata: délka (min–max)	9	57–157
šířka (min–max)	9	56–178
vzdálenost od vitelinních folikulů (mm)	2	1–3
dosahují k	10	k přední části cirového vaku / do 1/3 cirového vaku
délka cirového vaku	10	625–1101
šířka cirového vaku	10	191–339
poměr mezi šířkou cirového vaku a šířkou těla (%)	10	17–44
tvár vaječníku	10	H/obrácené A (bez spojení ramen)
šířka	10	540–1549
délka křídla	10	970–1934
šířka křídla	10	110–271
délka vitelinních folikulů (min–max)	11	32–138
šířka vitelinních folikulů (min–max)	11	30–139
dosahuje k (mm)	9	k zadní části cirového vaku (0,3–37)
poměr mezi délkou dělohy a délkou těla (%)	7	69–164
délka dělohy (mm)	10	1,8–3,8
velkost vajíček (délka×šířka) (min–max); (průměr)	15	40–27; 48 × 31
vzdálenost mezi genitálními póry	9	39–81



Obrázek 2. *Monobothrioides tchadensis* Troncy, 1978 ze sumce *Auchenoglanis occidentalis*. **A** – přední část těla (detailní výřez části těla – postavení varlat a vitelinních folikulů (viz E)) **B**; **C** – detail skolexu, **D** – zadní část těla, dorzální pohled. Zkratky: cv – cirrový vak; d – děloha; em – exkreceční měchýř; v – varlata; vč – vaječník; vf – vitelinní folikuly; vj – vajíčka; vs – vaječnicková spojka (isthmus); tp – tmavý pás.



Obrázek 3. Skenovací elektronová mikrofotografie (SEM) druhu *Monobothrioides tchadensis* Troncy, 1978 (Caryophyllidea: Cestoda) ze sumce *Auchenoglanis occidentalis* z Konga (Pioka). (A–B) skolexy; (C–G) detaily skolexů; (E–F) mikrotrichy z přední části skolexu.

5.6 *MONOBOTHRIOIDES SP. 1*

Morfologický popis tohoto druhu je založen na měření 11 jedinců (rozměry jsou shrnuty v tabulce 6).

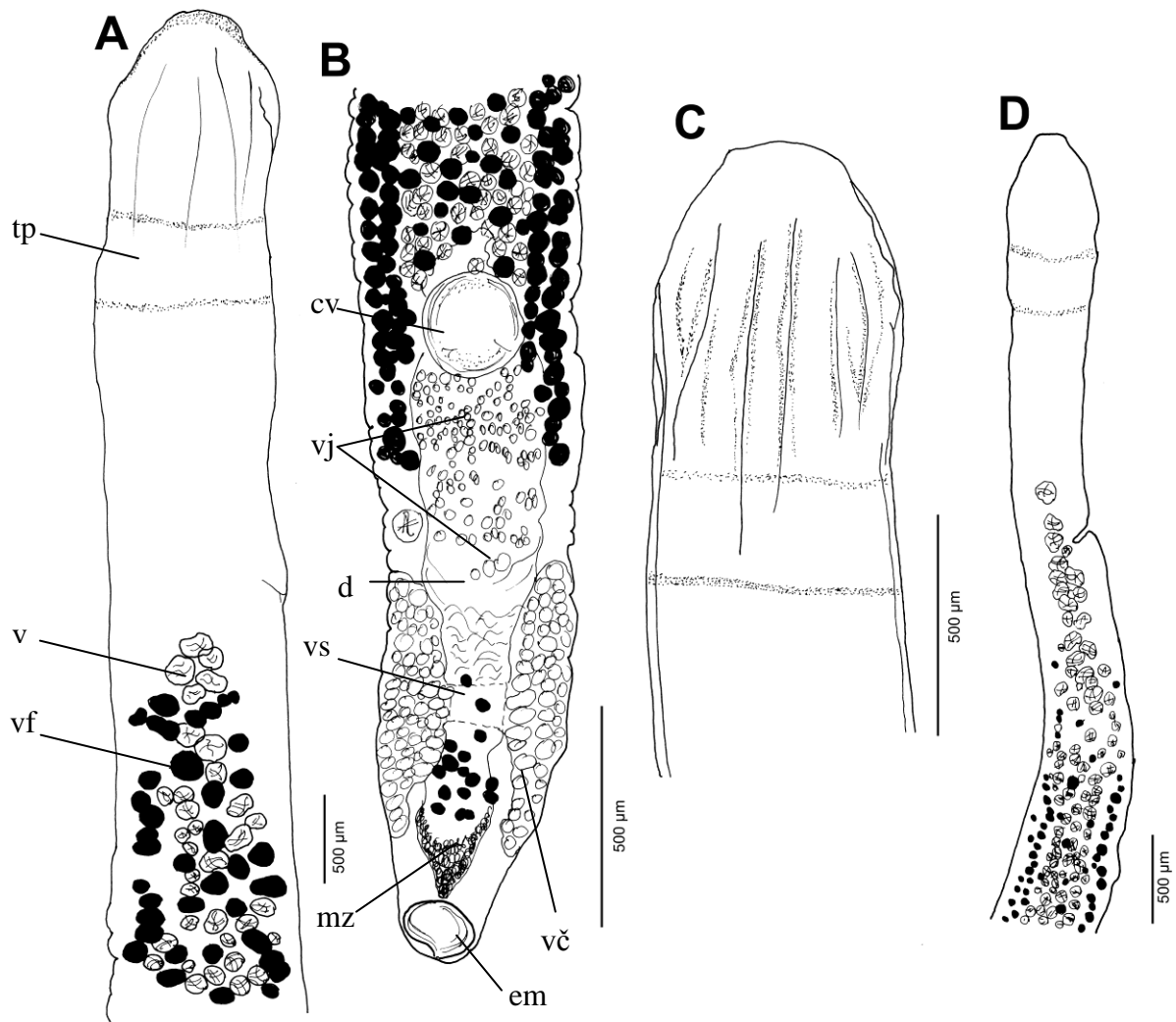
Tento druh je charakteristický válcovitým tělem, které má po celé své délce stejnou šířku a měří obvykle kolem 1 cm na délku. Skolex je jednoduchý, bez rýh a zářezů, v zadní části s tmavším pásem tvořeným silněji obarvenými buňkami. Krček je velmi krátký a široký a není zřetelně oddělen od vlastního těla. První varlata se nacházejí o něco víc vpředu než vitelinní folikuly a dozadu dosahují až k přední části cirového vaku. Cirový vak je krátký a kulovitý. Vaječník tvoří písmeno „H“. Vitelinní folikuly mohou zasahovat až k vaječníku, občas však dosahují pouze k cirovému vaku. Vitelinní folikuly tvoří nápadné postranní pruhy, zatímco varlata se nacházejí v centrální oblasti. Děloha má velmi krátkou preovariální oblast. Velikost vajíček se pohybuje v průměru 52 μm na délku a 36 μm na šířku.

Definitivním hostitelem tohoto druhu je sumec *Auchenoglanis* sp. (viz kapitola 3.4.3). Tasemnice byla doposud nalezena pouze v Súdánu (Bílý Nil v Kostí).

Komentář: Z naměřených výsledků a morfologie tohoto druhu můžeme soudit, že jde patrně o nový a doposud nepopsaný druh, který se od ostatních druhů rodu liší jednoduchým skolexem, válcovitým a po celé své délce stejně širokým tělem, tmavým pásem silněji obarvených buněk a postavením prvních varlat před vitelinními folikuly.

Tabulka 6. Rozměry tasemnice *Monobothrioides* sp. 1 v mikrometrech (μm), pokud není uvedeno jinak.

Typ tělesné struktury	Počet měření	Rozměry (min–max)
délka těla (mm)	4	10–13
šířka těla (mm)	11	0,4–0,8
šířka skolexu	5	369–580
šířka krčku	1	316
varlata: délka (min–max)	11	56–132
šířka (min–max)	11	55–95
vzdálenost od vitelinních folikulů (mm)	9	0,2–0,8
vzdálenost od předního konce těla (mm)	6	1,4–2,1
dosahují k	8	k přední části cirového vaku
délka cirového vaku	8	294–356
šířka cirového vaku	8	235–350
poměr mezi šířkou cirového vaku a šířkou těla (%)	8	43–54
tvar vaječníku	8	H
šířka	8	368–653
délka křídla	8	777–1132
šířka křídla	8	116–218
délka vitelinních folikulů (min–max)	11	44–97
šířka vitelinních folikulů (min–max)	11	33–69
vzdálenost od zadního konce těla (mm)	4	1,8–2,5
dosahuje k (mm)	8	k zadní části cirového vaku/k vaječníku
poměr mezi délkou dělohy a délkou těla (%)	3	12–14
délka dělohy (mm)	8	1,2–1,8
velkost vajíček (délka \times šířka) (min–max); (průměr)	11	44–29; 52 \times 36
vzdálenost mezi genitální póry	6	82–121
vzdálenost mezi dělohou a varlaty (mm)	6	171–570



Obrázek 3. *Monobothrioides* sp. 1. ze sumce *Auchenoglanis* sp., Súdán. A; D – přední část těla (postavení vitelinních folikulů a varlat); B – zadní část těla, dorzální pohled; C – detail skolexu. Zkratky: cv – cirový vak; d – děloha; em – exkretční měchýř; mz – mehlisovy žlázy; tp – tmavý pás; v – varlata; vč – vaječník; vf – vitelinní folikuly; vj – vajíčka; vs – vaječnicková spojka.

5.7 MONOBOTHRIOIDES SP. 2

Morfologický popis tohoto druhu je založen na měření 6 jedinců (rozměry jsou uvedeny v tabulce 7).

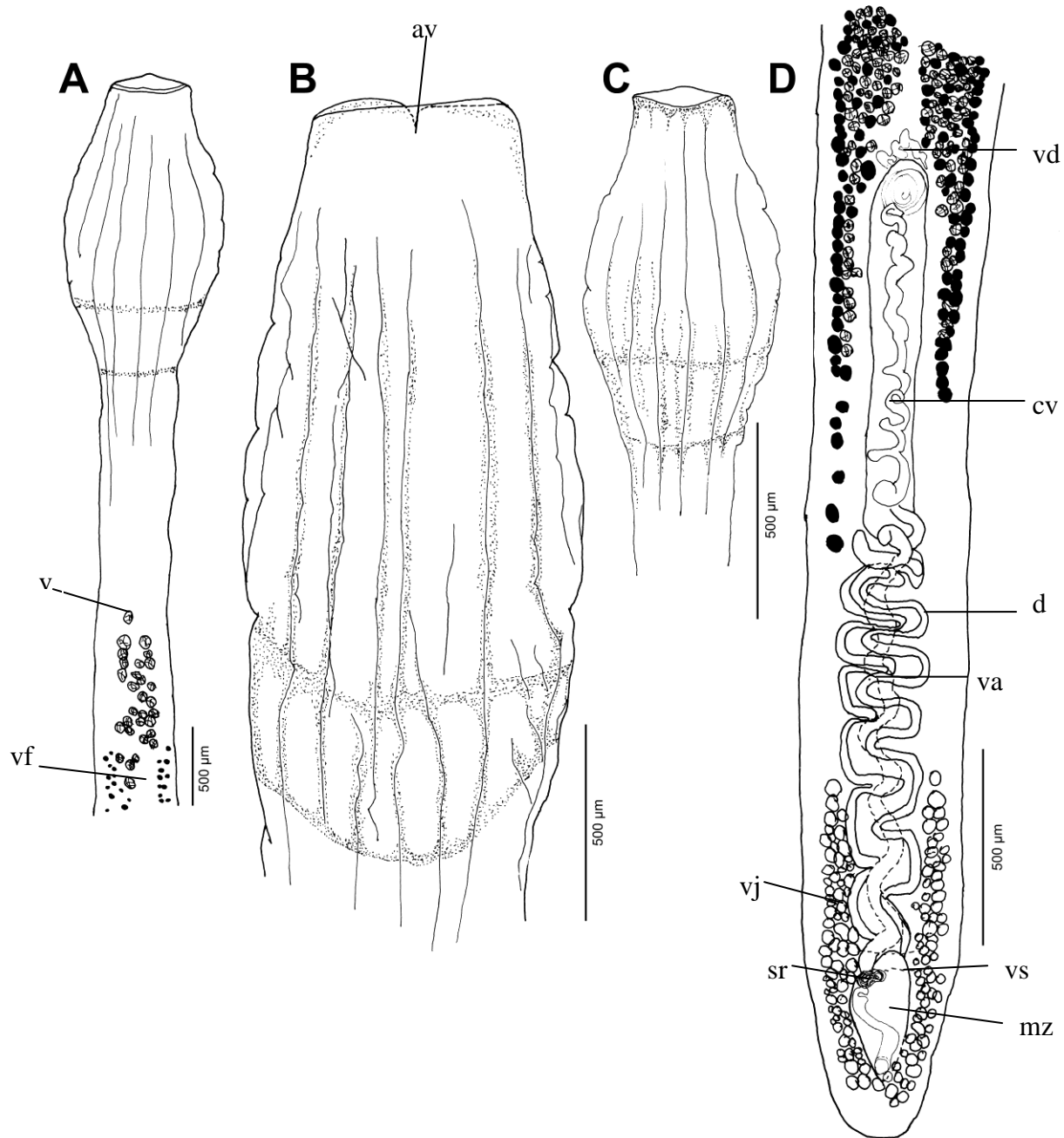
Tento druh (obr. 4, 5) je charakteristický kyjovitým tělem délky kolem 1,5 cm. Skolex je zakulacený nebo protáhlý s vchlípeným apikálním vrcholem a podélnými rýhami, které připomínají botrie. Na skolexu je viditelný tmavý pás tvořený silněji obarvenými buňkami. Varlata jsou nepatrně větší než vitelinní folikuly. Círový vak je velmi protáhlý a úzký. Chámovod (vas deferens) není u tohoto druhu příliš patrný. Vaječník je nejčastěji zformovaný do převráceného písmene „A“ s nespojenými zadními laloky. Vitelinní folikuly začínají přibližně v 1/5 těla a jsou jen o 100–200 µm před varlaty. Vitelinní folikuly mohou dosahovat jen k zadní části círového vaku, většinou však až k děloze. Děloha je velmi dlouhá a trubicovitě stočená. Genitální póry jsou oddělené a dobře viditelné. Velikost vajíček dosahuje v průměru 45 µm na délku a 30 µm na šířku.

Definitivním hostitelem tohoto druhu je sumec *Auchenoglanis occidentalis* (viz kapitola 3.4.3). Tasemnice byla nalezena v dolním toku řeky Kongo (Bulu) v Demokratické republice Kongo.

Komentář: Z rozměrů a morfologie tasemnic z Bulu můžeme soudit, že je to patrně nový, dosud nepopsaný druh, který se od popsanych druhů liší kyjovitým skolexem, protáhlým a úzkým círovým vakem, krátkým chámovodem, vaječníkem ve tvaru převráceného písmene „A“ s nespojenými laloky a velmi dlouhou dělohou.

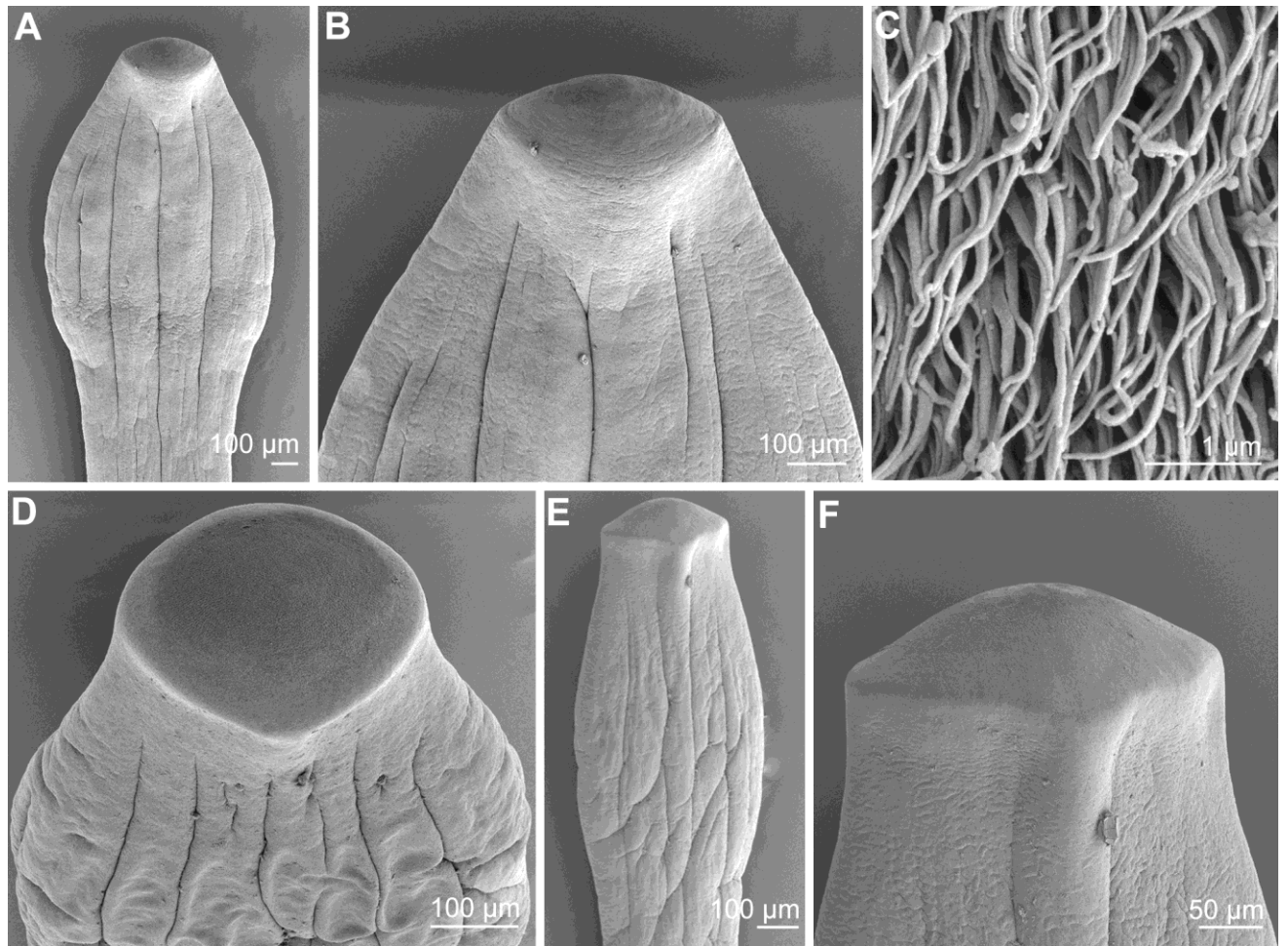
Tabulka 7. Rozměry tasemnice *Monobothrioides* sp. 2. v mikrometrech (μm), pokud není uvedeno jinak.

Typ tělesné struktury	Počet měření	Rozměry (min–max)
délka těla (mm)	6	13–21
šířka těla (mm)	6	0,6–1,0
šířka skolexu	6	830–1055
šířka krčku	6	499–911
varlata: délka (min–max)	6	47–106
šířka (min–max)	6	52–73
vzdálenost od vitelinních folikulů (mm)	6	0–0,9
vzdálenost od předního konce těla (mm)	6	3–4
dosahují k	6	k vas deferens
délka cirového vaku	6	904 –1192
šířka cirového vaku	6	164–282
poměr mezi šířkou cirového vaku a šířkou těla (%)	6	24–30
tvar vaječnicku	6	obrácené A
šířka	6	333–512
délka křídla	6	1016–1695
šířka křídla	6	64–168
délka vitelinních folikulů (min–max)	6	27–66
šířka vitelinních folikulů (min–max)	6	34–70
vzdálenost od zadního konce těla (mm)	6	3–4,3
dosahuje k (mm)		k zadní části cirového vaku/ k děloze
poměr mezi délkou dělohy a délkou těla (%)	6	126–156
délka dělohy (mm)	6	1,8–3
velkost vajíček, (délka x šířka) (min–max); (průměr)	9	39–23; 45×30
vzdálenost mezi genitální póry	3	49–50
vzdálenost mezi dělohou a varlaty (mm)	6	1–1,6

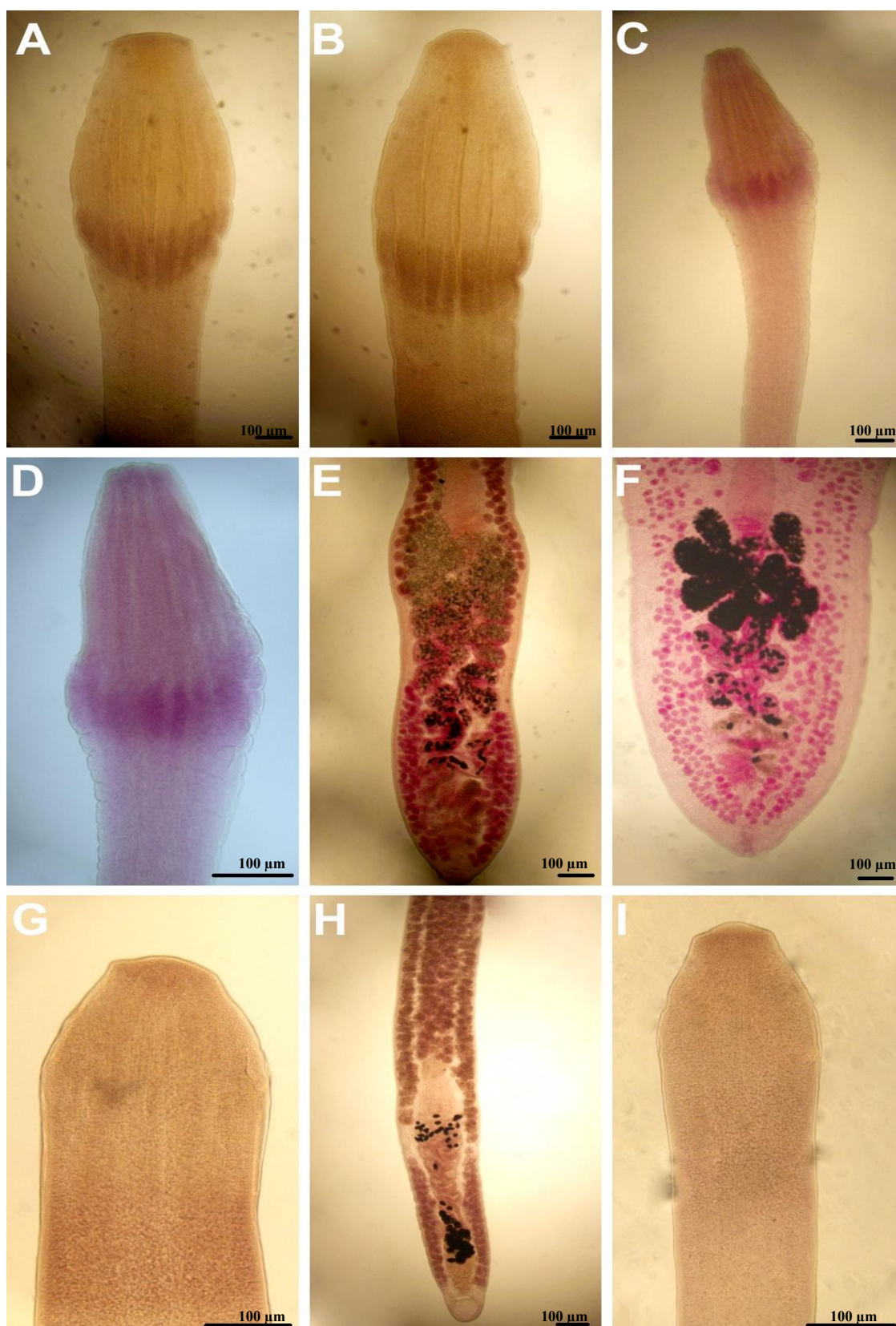


Obrázek 4. *Monobothrioides* sp. 2. ze sumce *Auchenoglanis occidentalis*, Kongo.

A – přední část těla (postavení varlat a vitelinních folikulů); **B, C** – detail skolexu, **D** – zadní část těla, dorzální pohled. Zkratky: av – apikální vrchol; cv – cirový vak; d – děloha; mz – mehlisovy žlázy; sr – semenný rezervoár; v – varlata; va – vagina; vd – vas deferens; vf – vitelinní folikuly; vj – vaječník; vs – vaječnicková spojka.



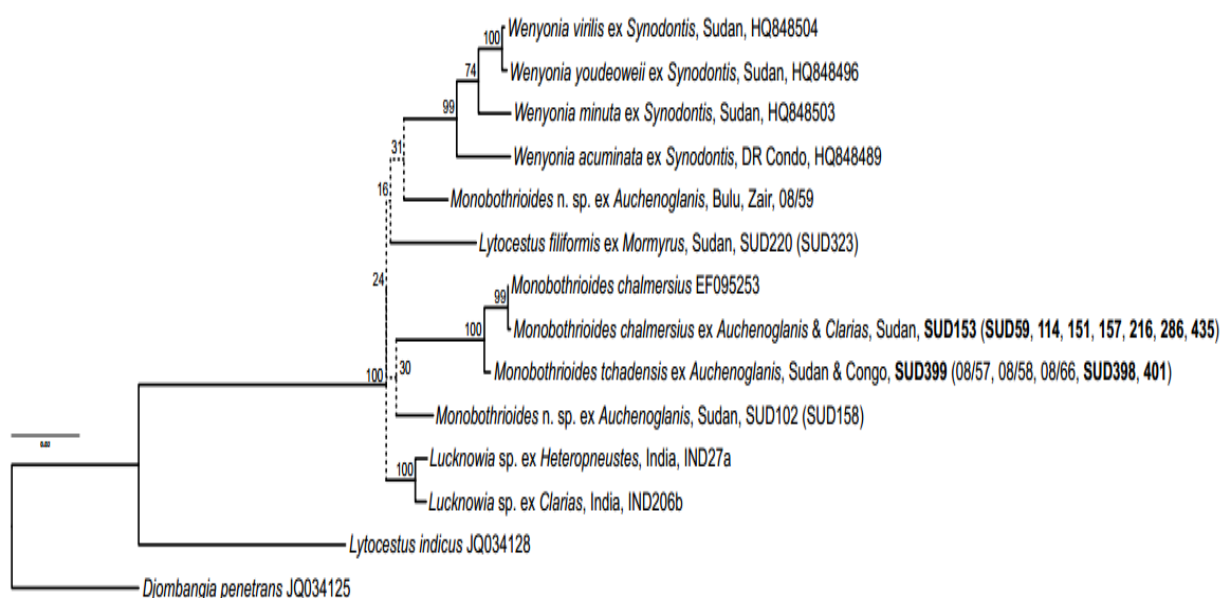
Obrázek 5. Skenovací elektronová mikrofotografie (SEM) druhu *Monobothrioides* sp. 2 (Caryophyllidea: Cestoda) ze sumce *Auchenoglanis occidentalis* z Konga (Bulu). (A–E) skolexy; (B–D) detaily skolexů; (C) mikrotrichy z přední části skolexu.



Obrázek 6. Mikrofotografie tasemnic rodu *Monobothrioides*. (A – B) skolex *Monobothrioides* sp. 2; (C – D) skolex a detail skolexu *Monobothrioides tchadensis*; (E) zadní část *Monobothrioides tchadensis*; (F) zadní část *Monobothrioides chalmersius*; (G) skolex *Monobothrioides* sp. 1; (H) zadní část *Monobothrioides* sp. 1; (I) přední část těla *Monobothrioides* sp. 1.

5.8 Fylogenetické vztahy druhů rodu *Monobothrioides*

V rámci této práce bylo získáno celkem dvanáct částečných sekvencí genu kódujícího velkou podjednotku ribozomální DNA tasemnic rodu *Monobothrioides* (viz tab. 1), které byly zkombinovány s dalšími nově získanými sekvencemi 28S rDNA blízce příbuzných druhů karyofylidních tasemnic. Vzájemným porovnáním všech nově získaných 28S rDNA sekvencí o celkové délce 1580–1634 párů bazí (počet nukleotidů mezi forward a reverse primerem použitým k PCR amplifikaci) byla prokázána přítomnost celkem čtyř genetických linií tasemnic rodu *Monobothrioides* na úrovni druhů, včetně dvou dosud nepopsaných. Dva haplotypy odpovídají popsáným druhům *M. chalmersius* a *M. tchadensis* a zbývající dva haplotypy (sp. 1, sp. 2) můžeme označit jako nové druhy. Následná fylogenetická analýza (obrázek 1) potvrdila monofyletický status všech čtyř osekvenovaných druhů a poukázala na blízkou příbuznost druhů *M. chalmersius* a *M. tchadensis*, které na fylogenetickém stromu tvořily statisticky vysoce podpořené sesterské skupiny.



Obrázek 1. Fylogenetický strom zkonstruovaný metodou maximum likelihood v programu RAxML ver. 7.2.8 založený na analýze částečných sekvencí 28S rDNA evolučním modelem GTR+ Γ . Zakořeněný fylogram. Čísla u vnitřních uzlů vyjadřují statistickou podporu získanou ze 100 bootstrapových opakování v programu RAxML. Jednotlivé koncové uzly mohou představovat několik zástupců s identickými sekvencemi 28S rDNA (identické sekvence jsou uvedené v závorce). Tučně zvýrazněné sekvence byly osekvenovány v rámci této bakalářské práce.

6. DISKUZE

Tasemnice rodu *Monobothrioides* jsou neprobádanou skupinou, jejíchž zástupci cizopasí v rybách rodu *Clarias* a *Auchenoglanis* (Siluriformes) (Schmidt, 1986), výjimečně v parmách (Cypriniformes). Areál rozšíření zástupců tohoto rodu zahrnuje Afriku (Etiopskou zoogeografickou oblast). Doposud byly popsány čtyři druhy (*Monobothrioides chalmersius*, *M. cunningtoni*, *M. woodlandi* a *M. tchadensis*). Naše výsledky naznačují, že pravděpodobně existují další dva dosud nepopsané druhy (*Monobothrioides* sp. 1 a *Monobothrioides* sp. 2). Naopak platnost druhu *M. woodlandi* je diskutabilní vzhledem k jeho velké podobnosti s druhem *M. chalmersius*.

6.1 Druhovité složení rodu

Studiem trvalých preparátů, které byly zapůjčeny z muzejních sbírek (viz kapitola 4.1), se potvrdilo, že dva zástupci nově získaných tasemnic z Demokratické republiky Kongo, Egypta a Súdánu odpovídají druhům *M. chalmersius* a *M. tchadensis*. Dva zbývající druhy (*M. cunningtoni* a *M. woodlandi*) nebyly v našich materiálech zastoupeny.

Tasemnice *M. tchadensis*, která byla popsána Troncym (1978), se výrazně liší od našeho materiálu v rozměrech (cirový vak, vitelinní folikuly a především délka těla), což bylo zřejmě způsobeno tím, že Troncy (1978) měl materiál značně zkomprimovaný, zatímco nový materiál byl v přirozeném stavu po fixaci horkým formalínem, což zabraňuje posmrtné deformaci nebo smrštění (Oros a kol., 2010). Troncy (1978) měl k dispozici pouze jedince menšího vzrůstu než u našeho materiálu. Tento druh byl doposud nalezen pouze u sumce *Auchenoglanis occidentalis* (viz kapitola 3.4.3), který byl popsán v Troncyho studii (1978) z jezera Čad v Africe. Nový materiál pochází i z dalších sumců rodu *Auchenoglanis*, tj. druhu *A. biscutatus* a neidentifikovaného druhu *Auchenoglanis* sp. Tyto nálezy rozšiřují zeměpisný areál druhu *M. tchadensis*, který byl nově nalezen v dolním toku řeky Kongo (Pioka) v Demokratické republice Kongo, v Bílém Nilu v Kostí a Modrém Nilu v Sennaru v Súdánu. Je pravděpodobné, že výzkum v dosud nestudovaných oblastech prokáže výskyt tasemnice na větším území.

Tasemnice *M. chalmersius*, která byla poprvé popsána jako *Caryophyllaeus chalmersius*, Woodlandem (1924) ze Súdánu, se od jedinců popsáných Hamadou a kol. (2004) z Egypta liší v několika znacích, jako jsou např. délka a šířka varlat. Varlata popsána Hamadou a kol. (2004) jsou větší než u našeho naměřeného materiálu. Dále se odlišují ve tvaru vaječníku, který je u jedinců nalezených v Egyptě (Hamada a kol., 2004) ve tvaru H, zatímco v našem měření bychom ho označili spíše jako tvar „motýlka“. Velmi výrazným

rozdílem je velikost vajíček, a to z toho důvodu, že u studovaného materiálu Hamadou a kol. (2004) se uvádí pouze rozměry nezralých vajíček, zatímco v našem měření byla měřena plně dozralá vajíčka. Tasemnice *M. chalmersius* byla doposud nalezena Woodlandem (1924) v Khartoumu (Súdán) v sumci *Clarias anguillaris* (viz kapitola 3.4.2), který obývá převážně povodí Konga a Nilu, Troncy (1978) v jezeře Čad (Afrika) ve stejném druhu sumce a Hamadou a kol. (2003, 2004) v řece Nil v Egyptě v sumci *Clarias gariepinus* (viz kapitola 3.4.1).

Naše výsledky však prokázaly přítomnost tasemnice tohoto druhu u dalších sumcovitých ryb, a to u keříčkovců *Clarias weneri* a *Clarias* sp. Nově nalezený materiál, který byl získán v Etiopii (řeka Beshelo), naznačuje, že parma *Labeobarbus negia* by mohla sloužit jako další definitivní hostitel tasemnice *M. chalmersius*, pokud se ovšem nejedná pouze o náhodného nebo postcyklického hostitele. Exempláře z naší studie byly navíc nalezeny v řece Nil (Egypt), v Etiopii (řeka Beshelo) a v Senegal (Richard Toll). Nabízí se zde otázka, zda druh *M. chalmersius* není identický s druhem *M. woodlandi*, který se od *M. chalmersius* liší pouze robustnější stavbou, tvarem těla a velikostí skolexu (Mackiewicz a Beverley-Burton, 1967). Potvrzení této hypotézy však bude vyžadovat podrobnější studium a více materiálu pro porovnání, kterým jsme bohužel nedisponovali.

Další druh, který byl zastoupený v našich materiálech, byl označen jako *Monobothrioides* sp. 1. Z naměřených rozměrů a morfologie těchto tasemic vyplývá, že jde patrně o nový, dosud nepopsaný druh. Tato tasemnice se od ostatních druhů liší jednoduchým skolexem (bez rýh či zářezů), válcovitým a po celou délku stejně širokým tělem, „tmavým pásem“ v zadní části skolexu tvořeným silněji obarvenými buňkami a postavením prvních varlat před vitelinními folikuly (celý popis viz kapitola 5.6). Tasemnice byla doposud nalezena pouze v Súdánu (Bílý Nil v Kostí) u jediného definitivního hostitele, kterým je sumeček *Auchenoglanis* sp. (viz kapitola 3.4.3). Je možné, že se jedná o endemický druh. Vzhledem k odlišným znakům bude tato tasemnice popsána jako nový druh.

Čtvrtý druh, který byl zastoupený v našich materiálech, bude pravděpodobně také nový a v našem měření je pojmenován jako *Monobothrioides* sp. 2. Tento druh se od ostatních druhů rodu odlišuje kyjovitým tělem, zakulaceným nebo protáhlým skolexem s vchlípeným apikálním vrcholem a podélnými rýhami, které připomínají botrie. Na skolexu je viditelný tmavý pás silněji obarvených buněk. Vitelinní folikuly začínají v 1/5 těla a jejich pás končí těsně před varlaty (celý popis viz kapitola 6.7). Tasemnice byla dosud nalezena pouze v pravém rameni dolního toku řeky Kongo (Bulu) v Demokratické republice

Kongo u sumečka *Auchenoglanis occidentalis* (viz kapitola 3.4.3). Tak jako u předchozího druhu může být i tento druh endemický pro oblast řeky Kongo.

6.2 Spektrum definitivních hostitelů

Nejčastějšími hostiteli tasemnic rodu *Monobothrioides* jsou sumci *Auchenoglanis occidentalis* a *Auchenoglanis* sp. První druh je typovým hostitelem druhu *M. cunningtoni* a *M. tchadensis*. Sumec *Auchenoglanis* sp. je také hostitelem tasemnice *Monobothrioides* sp. 1. a tasemnice *Monobothrioides* sp. 2, která byla nalezena v sumčíkovi *A. occidentalis*. Druhým nejčastějším hostitelem jsou sumci *Clarias* sp. a *Clarias anguillaris*, u kterých byla nalezena a popsána tasemnice *M. chalmersius* (Woodland, 1924; Troncy, 1978). U některých hostitelů, jako je např. parma *Labeobarbus negia* (viz kapitola 3.5), která byla nalezena v roce 2006 v Etiopii u tasemnice *M. chalmersius*, není jisté, zda slouží jako definitivní nebo spíše jako náhodný hostitel tasemnic tohoto rodu. Mezi další, ne zcela běžné hostitele patří sumeček *Auchenoglanis ballayi* (Claroteidae) a péřovec *Synodontis schall* (Mochokidae), u kterých byl v Kamerunu a v Egyptě nalezen nederminovaný druh tasemnice rodu *Monobothrioides* (Khalil a kol., 1973; El-Askalany a kol., 1991). Zejména v případě nálezu *S. schall* není jisté, zda nešlo o záměnu vzorků nebo chybnou determinaci tasemnice. Dokladový materiál těchto nálezů neexistuje. U sumečka *A. ballayi* však můžeme vzhledem k jeho rodové příslušnosti předpokládat, že se jedná o dalšího potencionálního hostitele tasemnic rodu *Monobothrioides*.

Tasemnice *M. woodlandi*, která nebyla v nově nalezeném materiálu zahrnuta, byla dosud popsána pouze z jezera Chali v severní Zambii (Mackiewicz a Beverley-Burton, 1967) ze sumce *Clarias ngamensis* (viz kapitola 3.4.1). Vzhledem k tomu, že byla nalezena pouze u tohoto druhu sumce, je možné, že je to její specifický hostitel. Není však vyloučeno, že *M. woodlandi* je synonymem druhu *M. chalmersius*. K vyjasnění této otázky je však zapotřebí podrobnější studie a více zkoumaného materiálu daného druhu.

Další tasemnicí, která nebyla v novém materiálu zjištěna, je *Monobothrioides cunningtoni*, která byla popsána ze sumce *Auchenoglanis occidentalis* z jezera Tanganyika (Fuhrmann a Baer, 1925) a poté nalezena u dvou neidentifikovaných sumcovitých ryb v Tanzanii (Baylis, 1928; Prudhoe, 1951).

Na základě našich výsledků můžeme tedy shrnout, že rod *Monobothrioides* je svým výskytem omezen na africký kontinent (Etiopskou zoogeografickou oblast) a hlavními hostiteli jeho druhů jsou sumci (Siluriformes) z čeledí Clariidae a Claroteidae.

6.3 **Fylogenetické vztahy druhů rodu *Monobothrioides***

Srovnávací analýza dvanácti částečných sekvencí genu kodujícího velkou podjednotku ribozomální RNA tasemnic rodu *Monobothrioides* charakterizovaných v rámci této práce s již existujícími a dalšími nově získanými sekvencemi 28S rDNA tasemnic rodu *Monobothrioides* a jim blízké příbuzným druhům karyofylidních tasemnic (*Djombangia* Bovien, 1926; *Lucknowia* Gupta, 1961; *Lytocestus* Gupta, 1961; *Wenyonia* Woodland, 1923) ze sumcovitých ryb v Indomalajské oblasti a z afrických sumečků rodu *Synodontis* umožnila posoudit vzájemné vztahy studovaných druhů. Výsledky fylogenetické analýzy vycházející ze sekvencí 28S rDNA zřetelně podpořily sesterský status druhů *M. chalmersius* a *M. tchadensis*, které jsou morfologicky výrazně odlišné a cizopasí u rozdílných hostitelů (*Clarias* versus *Auchenoglanis*). Zároveň ale současné výsledky nedovolují vyvozovat žádné další závěry o příbuzenských vztazích všech zástupců rodu *Monobothrioides*, neboť statistické podpory vnitřních uzlů popisujících tyto vztahy jsou velmi nízké (viz obr. 1). Současná fylogenetická analýza také postrádá zástupce dvou zbývajících popsáných druhů rodu *Monobothrioides* – *M. cunningtoni* a *M. woodlandi*.

Do výsledného fylogenetického stromu byly zahrnuty i další, rodu *Monobothrioides* molekulárně blízké příbuzné karyofylidní tasemnice, které v celkovém počátečním porovnání všech dostupných sekvencí 28S rDNA karyofylidních tasemnic vytvořily se zástupci rodu *Monobothrioides* jasně monofyletickou linii. Jednalo se o zástupce rodů *Lucknowia* a *Wenyonia* a druhu *Lytocestus filiformis*. Tasemnice rodu *Wenyonia* Woodland, 1923 (*W. acuminata*, *W. minuta*, *W. virilis*, *W. youdeowei*) (Caryophyllidea; Caryophyllaeidae) jsou rovněž paraziti sumcovitých ryb (*Synodontis*) v Africe a mají mnoho společných morfologických znaků s tasemnicemi rodu *Monobothrioides*. Jako hlavní můžeme jmenovat např. chybějící postovariální vitellária, folikulární vaječník, velmi dobře vyvinutou vnitřní podélnou svalovinu, variabilní skolex s hlubokými a/nebo mělkými podélnými rýhami a apikální vchlípeninou, absenci vnějšího semenného váčku, oddělené genitální póry nebo mělké genitální atrium (Schaeffner a kol., 2011). Tasemnice rodu *Lucknowia* (Caryophyllidea: Lytocestidae) má s tasemnicemi rodu *Monobothrioides* společné např. tyto morfologické znaky: dlouhé a štíhlé tělo s největší šířkou v oblasti cirového vaku, dlouhý a jednoduchý skolex, varlata v centrální oblasti těla, dosahující až k přední části cirového vaku, velmi dobře vyvinutou vnitřní podélnou svalovinu, vaječník ve tvaru H a oválná vajíčka s víčkem (Ash a kol., 2011 (b)).

Výsledný fylogenetický strom naznačuje možnou parafylii celého rodu *Monobothrioides*. Druh *Monobothrioides* sp. 2 z Demokratické republiky Kongo vytváří

sesterskou skupinu karyofylidních tasemnic rodu *Wenyonia*. Tento vztah však také není dostatečně statisticky podpořen hodnotami bootstrapu, a nelze tak na jeho základě činit jakékoliv závěry. Na vnitřní fylogenezi současnými molekulárními daty jinak vysoce podpořené skupiny tasemnic tvořené zástupci rodů *Monobothrioides*, *Lucknowia*, *Wenyonia* a druhu *Lytocestus filiformis* tak musí být nadále nahlíženo jako na neobjasněnou.

V budoucnu by měl být získán nový materiál v současné analýze nezahrnutých druhů *Monobothrioides cunningtoni* a *M. woodlandi* a posouzeny jejich fylogenetické vztahy s ostatními druhy rodu. V budoucnu budou také připraveny popisy obou druhů, které představují druhy patrně doposud nepopsané a také sběr nového materiálu z více afrických lokalit a jejich vzájemně porovnání.

7. ZÁVĚR

1. Byla provedena literární rešerše o dosud popsaných druzích *Monobothrioides*, jejich hostitelích a rozšíření.
2. Byly získány údaje o morfologii nově získaného materiálu tasemnic rodu *Monobothrioides* z Afriky (Egypt, Kongo, Súdán) a provedeno jejich srovnání s dosud popsanými druhy rodu.
3. Byly nalezeny dva nové druhy rodu *Monobothrioides* z Demokratické republiky Kongo a ze Súdánu, které byly popsány, změřeny, fotograficky i graficky zdokumentovány a následně osekvenovány.
4. Byly nalezeny nové údaje z hlediska morfologie a fylogenetických vztahů čtyř studovaných druhů, které byly následně zkodumentovány.
5. Na základě molekulárních údajů byly posouzeny příbuzenské vztahy jednotlivých druhů. Byl zjištěn sesterský status rodů *M. chalmersius* a *M. tchadensis* a naznačena možná parafylie celého rodu *Monobothrioides*.
6. Bylo diskutováno zařazení a příbuzenské vztahy tasemnic rodu *Monobothrioides* vzhledem k ostatním karyofylidním tasemnicím (*Lucknowia*, *Wenyonia*).

8. POUŽITÁ LITERATURA

- ADEBAYO O.T., FSAKIN E.A., ADEWUNI J.A. 2012.** Reproductive performance of partial gonadectomized male African catfish, *Clarias gariepinus* broodstocks. *Theriogenology* 77: 1050–1055.
- AHMED I., 2012.** Dietary amino acid L-tryptophan requirement of fingerling Indian catfish, *Heteropneustes fossilis* (Bloch), estimated by growth and haemato-biochemical parameters. *Fish Physiology and Biochemistry* 4: 1195–1209.
- ASH A., SCHOLZ T., OROS M., KAR P. K. 2011 (a).** Tapeworm (Cestoda: Caryophyllidea), parasites of *Clarias batrachus* (Pisces: Siluriformes) in the Indomalayan Region. *Journal of Parasitology* 97: 435–459.
- ASH A., SCHOLZ T., OROS M., LEVRON C., KAR P. K. 2011 (b).** Cestodes (Caryophyllidea) of the stinging catfish *Heteropneustes fossilis* (Siluriformes: Heteropneustidae) from Asia. *Journal of Parasitology* 97: 899–907.
- AZEROUAL A., BOUSSO T., GETAHUN A., LALÈYÈ P., MOELANTS T. 2010.** *Clarias anguillaris*. IUCN Red List of Threatened Species. www.iucnredlist.org, version (2/2012).
- BAILEY R.G., 1994.** Guide to the fishes of the River Nile in the Republic of the Sudan. *Journal of Natural History* 28: 937–970.
- BARON V.D., ORLOV A.A., GOLUBTSOV A.S. 1994.** African *Clarias* catfish elicits long-lasting weak electric pulses. *Experientia* 50: 644–647.
- BAYLIS, H.A. 1928.** Some parasitic worms, mainly from fishes, from Lake Tanganyika. *Annals and Magazine of Natural History Series* 10 (4): 552–562.
- BEVERIDGE I. 2001.** The use of life-cycle characters in studies of the evolution of cestodes. In Littlewood D.J.T., Bray R.A. (Eds.), *Interrelationships of the Platyhelminthes. The Systematics Association Special Volume Series* 60. Taylor & Francis, London and New York, pp. 250–256.
- BRABEC J., KUČHTA R., SCHOLZ T. 2006.** Paraphyly of the Pseudophyllidea (Platyhelminthes: Cestoda): circumscription of monophyletic clades based on phylogenetic analysis of ribosomal RNA. *International Journal for Parasitology* 36: 1535–1541.
- BRABEC J., SCHOLZ T., KRÁLOVÁ-HROMADOVÁ I., BAZSALOVICSOVA E., OLSON P.D. 2012.** Substitution saturation and nuclear paralogs of commonly employed phylogenetic markers in the Caryophyllidea, an unusual group of non-segmented tapeworms (Platyhelminthes). *International Journal for Parasitology* 42: 259–267.

- CHERVY L. 2002.** The terminology of larval cestodes or metacestodes. *Systematic Parasitology* 52: 1–33.
- EHLERS U. 1985.** Das Phylogenetische System der Platyhelminthes. G. Fischer, Stuttgart, Germany, 317 pp.
- EL-ASKALANY, M. A., IMAM, E. A. E., RASHAD, S. M. 1991.** Studies on helminth parasites of *Synodontis schall* and *Bagrus bayad* from Beni-Suef water resources. *Assiut Veterinary Medical Journal* 24: 137–152.
- FREEMAN R.S. 1973.** Ontogeny of cestodes and its bearing on their phylogeny and systematics. *Advances in Parasitology* 11: 481–548.
- FROESE R., PAULY D. 2012.** FishBase. World Wide Web electronic publication. www.fishbase.org, version (10/2012).
- FUHRMANN O., BAER J.G., 1925.** Zoological results of the third Tanganyika expedition conducted by Dr. W.A. Cunningham, 1904–1905. Report on the Cestoda. *Proceedings of the Zoological Society of London* 1925: 79–100.
- GEORGIEV B.B., VAUCHER C. 2003.** Revision of the Metadilepididae (Cestoda: Cyclophyllidea) from Caprimulgiformes (Aves). *Revue Suisse de Zoologie* 110: 491–532.
- HAMADA S.F., ARAFA S.Z., EL-NAGGAR M.M. 2004.** A new record of the cestode *Monobothrioides chalmersius* (Caryophyllidea, Lytocestidae) from the catfish *Clarias gariepinus* in Egypt, with a note on the cholinergic components of the nervous system. *Invertebrate Zoology and Parasitology* 43: 159–176.
- HAMADA S.F., EL-NAGGAR M.M. 2003.** Surface topography, mode of attachment and histopathology of *Monobothrioides chalmersius* (Cestoidea: Caryophyllidea) from *Clarias gariepinus* in Egypt. *Egyptian Journal of Zoology* 40: 185–201.
- HOBERG E.P., MARIAUX J., JUSTINE J.L., BROOKS D.R., WEEKES P.J. 1997.** Phylogeny of the orders of the Eucestoda (Cercomeromorphae) based on comparative morphology: historical perspectives and a new working hypothesis. *Journal of Parasitology* 83: 1128–1147.
- HOBERG E.P., GARDNER S.L., CAMPBELL R.A. 1999.** Systematics of the Eucestoda: advances toward a new phylogenetic paradigm, and observations on the early diversification of tapeworms and vertebrates. *Systematic Parasitology* 42: 1–12.
- JARECKA L. 1970.** Phylogeny and evolution of life cycles of Cestoda from fresh water and terrestrial vertebrates. *Journal of Parasitology* 56: 169–170.

- JONES A.W., MACKIEWICZ J.S., 1969.** Naturally occurring triploidy and parthenogenesis in *Atractolytocestus huronensis* Anthony (Cestoidea, Caryophyllidea) from *Cyprinus carpio* in North America. *Journal of Parasitology* 6: 1105–1118.
- KEARN, G.C. 1998.** Parasitism and Platyhelminthes. Chapman and Hall, London, 544 pp.
- KHALIL, L.F., JONES, A., BRAY, R.A. 1994.** Keys to the Cestode Parasites of Vertebrates. CAB International, Wallingford, UK, 751 pp.
- KODEDOVÁ I., DOLEŽEL D., BROUČKOVÁ M., JIRKŮ M., HYPŠA V., LUKEŠ J., SCHOLZ T. 2000.** On the phylogenetic positions of the Caryophyllidea, Pseudophyllidea and Proteocephalidea (Eucestoda) inferred from 18S rRNA. *International Journal for Parasitology* 10: 1109–1113.
- KUCHTA R., BURIANOVA A., JIRKU M., CHAMBRIER A., OROS M., BRABEC J., SCHOLZ T. 2012.** Bothriocephalidean tapeworms (Cestoda) of freshwater fish in Africa, including erection of *Kirstenella* n. gen. and description of *Tetracampos martinae* n. sp. *Zootaxa* 3309: 1–35.
- KUCHTA R., SCHOLZ T., BRAY R. A. 2008.** Revision of the order Bothriocephalidea Kuchta, Scholz, Brabec & Bray, 2008 (Eucestoda) with amended generic diagnoses and keys to families and genera. *Systematic Parasitology* 71: 81–136.
- LEVRON C., PODDUBNAYA L.G., KUCHTA R., FREEMAN M., SCHOLZ T. 2007.** Vitellogenesis and vitelline system in the pseudophyllidean tapeworm *Paraechinophallus japonicus*: ultrastructural and cytochemical studies. *Folia Parasitologica* 54: 43–50.
- LITTLEWOOD D.T.J., BRAY R.A. (Eds.) 2001.** Interrelationships of the Platyhelminthes. The Systematics Association Special Volume Series 60. Taylor & Francis, London and New York, pp. 355.
- LITTLEWOOD, D.T.J., CURINI-GALLETTI, M., HERNIOU, E.A. 2000.** The interrelationships of Proseriata (Platyhelminthes: Seriata) flatworms tested with molecules and morphology. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 16: 449–466.
- MACKIEWICZ J.S. 1963.** *Monobothrium hunteri* sp. n. (Cestoidea – Caryophyllidea) from *Catostomus commersoni* (Lacépède) (Pisces – Catostomidae) in North America. *Journal of Parasitology* 55: 723–730.
- MACKIEWICZ J.S. 1965.** *Isoglaridacris bulbocirrus* gen. et sp. n (Cestoidea – Caryophyllidea) from *Catostomus commersoni* in North America. *Journal of Parasitology* 51: 377–381.

- MACKIEWICZ J.S. 1968.** *Isoglaridacris hexacotyle* comb. n. (Cestoidea – Caryophyllidea) from catostomid fishes in southwestern North America. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 2: 193–200.
- MACKIEWICZ J.S. 1970.** Synopsis of caryophyllidean (Cestoda) morphology. *Journal Parasitology* 56 (4): 220–221.
- MACKIEWICZ J.S. 1972.** Caryophyllidea (Cestoidea): a review. *Experimental Parasitology* 31: 417–512.
- MACKIEWICZ J.S. 1982.** Caryophyllidea (Cestoidea): evolution and classification. *Advances in Parasitology* 19: 139–206.
- MACKIEWICZ, J.S. 1994.** Order Caryophyllidea van Beneden in Carus, 1863. In Khalil, L.F., Jones, A., Bray, R.A. Check list of the helminth parasites of African freshwater fishes. University of the North, Pietersburg, Republic of South Africa, 185 pp.
- MACKIEWICZ, J.S. 2003.** Caryophyllidea (Cestoidea): molecules, morphology and evolution. *Acta Parasitologica* 48: 143–154.
- MACKIEWICZ J.S., BEVERLEY-BURTON M. 1967.** *Monobothrioides woodlandi* sp. nov. (Cestoidea: Caryophyllidea) from *Clarias mellandi* Boulenger (Cypriniformes: Clariidae) in Zambia, Africa. *Proceedings of the Helminthological Society of Washington* 34: 125–128.
- NAGELKERKE L.A.J., SIBBING F.A. 1997.** A revision of the large barbs (*Barbus* spp., Cyprinidae, Teleostei) of Lake Tana, Ethiopia, with a description of seven new species. In L.A.J. Nagelkerke (Ed.). *The barbs of Lake Tana, Ethiopia: morphological diversity and its implications for taxonomy, trophic resource partitioning and fisheries*. Wageningen University, The Netherlands, pp. 170.
- NELSON, J.S., 1994.** *Fishes of the World* (third edition). John Wiley & Sons, Inc., New York. 600 pp.
- NYBELIN, O. 1922.** Anatomisch-systematische Studien über Pseudophyllideen. *Göteborgs Kungl. Vetenskaps och Vitterhets Samhälles Handlingar* 26: 1–128.
- OCHI H., KANDA T., YANAGISAWA Y. 2001.** Nest building and brooding behavior of the bagrid catfish, *Auchenoglanis occidentalis* (Valenciennes, 1840), in lake Tanganyika. *Copeia* 2: 566–570.

- OLSON, P.D., CRIBB, T.H., TKACH, V.V., BRAY, R.A., LITTLEWOOD, D.T.J. 2003.** Phylogeny and classification of the Digenea (Platyhelminthes: Trematoda). *International Journal for Parasitology* 33: 733–755.
- OLSON P.D., LITTLEWOOD D.T.J., BRAY R.A., MARIAUX J. 2001.** Interrelationship and evolution of the tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 19: 443–467.
- OROS M., HANZELOVÁ V., SCHOLZ T., MACKIEWICZ J.S. 2007.** Phylogenetic relationships of the monozoic tapeworms (Eucestoda: Caryophyllidea) inferred from morphological characters. *Systematic Parasitology* 70: 1–14.
- OROS M., SCHOLZ T., HANZELOVA V., MACKIEWICZ J.S. 2010.** Scolex morphology of monozom cestodes (Caryophyllidea) from the Palaearctic Region: a useful tool for species identification. *Folia Parasitologica* 57: 37–46.
- PILLAY, T.V.R. 1990.** Nutrition and feeds. *Aquaculture principles and practices*. Fishing News Books, London, UK, pp. 92–155.
- PRUDHOE, S. 1951.** Trematoda, Cestoda and Acanthocephala. *Result. scient. Explor. hydrobiol. Lac Tanganyika* 3 (2): 1–10.
- RAHMAN, A.K.A. 1989.** Freshwater fishes of Bangladesh. *Zoological Society of Bangladesh, Department of Zoology, University of Dhaka*, 364 pp.
- ROBERTS L.S., JANOVY J., 2006.** *Foundations of Parasitology*. Seventh edition. McGraw Hill, Boston, pp. 702.
- RYZHIKOV K.M., RYŠAVÝ B., KHOKHLOVA I.G., TOLKATCHEVA L.M., KORNUSHIN V.V. 1985.** Helminths of Fish-Eating Birds of the Palearctic Region II. Cestoda and Acanthocephala. *Academia, Praha*, 412 pp.
- SAHA N., RATHA B.K. 2007.** Functional ureogenesis and adaptation to ammonia metabolism in Indian freshwater air-breathing catfishes. *Fish Physiology and Biochemistry* 33: 283–295.
- SHIRAI N., SUZUKI H., TOKAIRIN S., EHARA H., WADA S. 2002.** Dietary and seasonal effects on the dorsal meat lipid composition of Japanese (*Silurus asotus*) and Thai catfish (*Clarias macrocephalus* and hybrid *Clarias macrocephalus* and *Clarias gariepinus*). *Comparative Biochemistry and Physiology A – Molecular and Integrative Physiology* 3: 609–619.

- SCHAEFFNER B.C., JIRKŮ M., MAHMOUD Z. N., SCHOLZ T. 2011.** Revision of *Wenyonia* Woodland, 1923 (Cestoda: Caryophyllidea) from catfishes (Siluriformes) in Africa. *Systematic Parasitology* 79: 83–107.
- SCHMIDT, G.D. 1986.** CRC Handbook of Tapeworm Identification. CRC Press, Boca Raton, Florida, USA, 675 pp.
- SCHOLZ T. 1991.** Development of *Khawia sinensis* Hsü, 1935 (Cestoda: Caryophyllidea) in the fish host. *Folia Parasitologica* 38: 225–234.
- SKELTON P.H., 1993.** A Complete Guide to the Freshwater Fishes of Southern Africa. Southern Book Publishers (Pty), Ltd., Halfway House, Singapur, 388 pp.
- SMYTH J.D., McMANUS D.P. 1989.** The Physiology and Biochemistry of Cestodes. Cambridge University Press, Cambridge, UK, 398 pp.
- TEUGELS, G.G. 1986.** A systematic revision of the African species of the genus *Clarias* (Pisces; Clariidae). *Annales du Muséum de la République d’Afrique Central, Sciences Zoologique* 247: 199–247 .
- TRONCY, P.M. 1978.** New observation on the parasites of fish of the Chad basin. Nouvelles observation sur les parasites des poissons du bassin Tchadien. *Bulletin de l’institut Fondamental d’Afrique Noire* 40 (3): 518–552.
- WAESCHENBACH A., WEBSTER B.L., BRAY R.A., LITTLEWOOD D.T.J. 2007.** Added resolution among ordinal level relationships of tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda) with complete small a and large subunit nuclear ribosomal RNA genes. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 45: 311–325.
- WAESCHENBACH A., WEBSTER B.L., LITTLEWOOD D.T.J. 2012.** Adding resolution to ordinal level relationships of tapeworms (Platyhelminthes: Cestoda) with large fragments of mtDNA. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 63: 834–847.
- WARDLE, R. A., McLEOD, J. A. 1952.** The Zoology of Tapeworms. University of Minnesota Press, Minneapolis, USA, 750 pp.
- WOODLAND W.N.F. 1924.** On a new species of the cestodarian *Caryophyllaeus* from Egyptian siluroid. *Proceedings of the Zoological Society of London* 1924: 529–532.