



Zdravotně
sociální fakulta
Faculty of Health
and Social Sciences

Jihočeská univerzita
v Českých Budějovicích
University of South Bohemia
in České Budějovice

**Tasemnice parazitující v zažívacím traktu rejnoků
Amblyraja radiata na Svalbardu**

Bakalářská práce

Studijní program:

SPECIALIZACE VE ZDRAVOTNICTVÍ

Autor: Petra Padalíková

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

České Budějovice 2017

Prohlášení

Prohlašuji, že svoji bakalářskou práci s názvem *Tasemnice parazitující v zažívacím traktu rejnoků Amblyraja radiata na Svalbardu* 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 fakultou – elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejich internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 10.08. 2017

.....

Petra Padalíková

Poděkování

Tímto bych chtěla poděkovat vedoucímu své práce doc. RNDr. Olegovi Ditrichovi, CSc. za nasbírání studijního materiálu ve Svalbardu, jeho trpělivost, odborné vedení, ochotu a cenné rady při tvorbě této práce. V neposlední řadě bych ráda poděkovala své rodině za podporu při mém studiu a přátelům, kteří mi pomohli s překladem a úpravou článků.

Tasemnice parazitující v zažívacím traktu rejnoků *Amblyraja radiata* na Svalbardu

Abstrakt

Tato bakalářská práce se zabývá tasemnicemi rejnoka *Amblyraja radiata*. Tito rejnoci žijí v arktických oblastech, včetně Svalbardu. Dosud je známo asi 5000 druhů tasemnic parazitujících u všech skupin obratlovců. Nejvyšší počet řádů tasemnic se nachází u paryb a ryb. Dospělce nacházíme v trávicí soustavě obratlovců.

V získaných vzorcích jsem identifikovala 3 rody tasemnic: *Grillotia*, *Pseudanthobothrium*, *Echeneneibothrium*. Mým úkolem bylo určit jejich druh, výsledky porovnat s literárními zdroji a charakterizovat společenstvo tasemnic rejnoků *Amblyraja radiata* na Svalbardu. Tasemnice byly identifikovány na základě morfologických znaků. Morfologické znaky (př. rozdíly v *apolýze*, maximální šířce *strobily*, délky *cirrového* vaku, počtu varlat a tvaru háčků.) Tyto znaky jsme získali pomocí barvení, světelné mikroskopie a elektronové mikroskopie.

Provedli jsme barvení karmínem jednotlivých vzorků tasemnic. Díky tomuto barvení jsme dosáhli lepšího zviditelnění vnitřních orgánů – zejména pohlavních. Povrch vzorku jsme pozorovali skenovací elektronovou mikroskopií.

Klíčová slova

Tasemnice; rejnok *Amblyraja radiata*; *Grillotia*; *Pseudanthobothrium*; *Echeneneibothrium*; morfologické znaky; barvení; světelné mikroskopie; elektronové mikroskopie

Tapeworm parasite in the gastrointestinal tract of *Amblyraja radiata* on Svalbard

Abstract

This bachelor thesis is interested in tapeworms of the stingray *Amblyraja radiata*. These rays *Amblyraja radiata* living in Svalbard. It is known about 5000 species of parasitic tapeworms which are parasites on vertebrates. The highest number of tapeworms lives in cartilaginous fish, and fish. Adults are found in the digestive system of vertebrates. In obtained samples were found three genera of tapeworms: *Grillotia*, *Pseudanthobothrium*, *Echeneneibothrium*. My objective was to determine the species.

My aim was to compare the results with the literature and characterize the community tapeworm rays *Amblyraja radiata* in Svalbard.

Identification of tapeworms was based on morphological characters. Morphological features are (eg. *strobili* maximum width, length *cirrus* sac, testes number and shape of hooks.) These characters I visualized by means of staining, light microscopy and electron microscopy.

I used a carmine staining into individual samples tapeworms. Thanks to this coloring I achieved better visibility of internal organs, particularly genitals. Thanks to scanning electron microscopy I was allowed to observe the specimen surface.

Key words

Tapeworm; *Amblyraja radiata*; *Grillotia*; *Pseudanthobothrium*; *Echeneneibothrium*; morphological features; dyeing; light microscopy; electron microscopy

Obsah

Úvod.....	9
1 Teoretická část.....	10
1.1 Svalbard.....	10
1.1.1 Historie.....	10
1.1.2 Geografie	10
1.1.3 Norská správa	10
1.1.4 Klima	11
1.1.5 Oceánografie.....	11
1.1.6 Ochrana životního prostředí.....	11
1.2 Helminti.....	12
1.3 Třída Cestoda (tasemnice).....	13
1.4 Rejnok – Amblyraja radiata	15
1.5 Parazitismus	17
1.6 Druhy chrupavčitých tasemnic.....	18
1.6.1 Echeneibothrium třída Diphyllidea.....	18
1.6.2 Pseudanthobothrium třída Rhinebothriidea	19
1.6.3 Grillotia brayi třída Trypanorhyncha	19
1.6.4 Grillotia.....	20

2	Praktická část.....	22
2.1	Cíle práce a výzkumné otázky	22
2.1.1	Cíle práce	22
2.1.2	Hypotézy.....	22
2.2	Materiál	22
2.3	Barvení kyselým karmínem – modifikováno.....	23
2.4	Skenovací elektronová mikroskopie (SEM)	23
2.5	Porovnání <i>Pseudanthobothridium hansenii</i> s <i>Pseudanthobothridium purtoni</i> ... 25	
2.5.1	<i>Pseudanthobothrium hansenii</i> (Bear, 1956).....	26
2.5.2	<i>Pseudanthobothrium purtoni</i>	27
2.6	Porovnání <i>Grillotia brayin</i> s <i>Grillotia dollfusi</i>	28
2.6.1	<i>Grillotia brayin</i>	28
2.6.2	<i>Grillotia dollfusi</i>	30
2.7	Vyhodnocení výsledků.....	32
2.8	SEM metoda.....	33
2.9	Metoda barvení karmínem.....	37
2.9.1	Porovnávání <i>Grillotia brayi</i> s <i>G. dollfusi</i>	38
2.10	Zobrazovací povrch <i>Grillotia</i> sp. pomocí SEM.....	39
2.11	Metoda barvení karmínem.....	43

2.12	Porovnání háčků <i>G.brayi</i> a <i>G.dollfusi</i>	43
2.13	Porovnání <i>Echeneibothrium dubium abyssorum</i> s <i>Echeneibothrium variabile</i> a <i>Echeneibothrium canadensis</i>	44
2.13.1	<i>Echeneibothrium dubium abyssorum</i>	44
2.13.2	<i>Echeneibothrium variabile</i>	45
2.13.3	<i>Echeneibothrium canadensis</i>	46
2.14	SEM metoda našeho vzorku	47
2.15	Diskuse	51
3	Závěr	54
4	Seznam tabulek a obrázků	55
5	Seznam použité literatury	57
6	Seznam použitých zkratek	64

Úvod

Tématem bakalářské práce je tasemnice parazitující v zažívacím traktu rejnoků *Amblyraja radiata* z norského souostrovní Svalbardu. Životní cykly mořských tasemnic, zejména u žraloků a rejnoků, jsou málo známe. Jedním z hlavních faktorů, které přispívají k nedostatku informací je ten, že larvální stádia mořských tasemnic nepřipomínají jejich dospělé protějšky. Cílem této bakalářské práce je morfologicky charakterizovat získané třídy tasemnic, výsledky porovnat s literárními údaji a charakterizovat společenstvo tasemnic rejnoků *Amblyraja radiata* na Svalbardu.

1 Teoretická část

1.1 Svalbard

1.1.1 Historie

Souostroví Svalbard v Norsku bylo objeveno v roce 1596 nizozemským kapitánem Williamem Barentsem, ale první historické zmínky pocházejí již z roku 1191 z Islandu. Od roku 1611 začala být tato oblast velmi atraktivní pro rybaření, zejména lov velryb a těžbu uhlí (Conway, 1906). V roce 1980 byl však velrybářský průmysl zakázán. Lovili se také mroži, kteří jsou již od roku 1952 též chráněni a jejich výskyt je neustále monitorován. Pro svou kožešinu byli loveni další přísně chráněná zvířata, jako jsou lední medvědi, kteří jsou chráněni od roku 1973. Těžba uhlí se dnes nachází pouze na dvou místech v místech Svea a Barentsburgu (Gulliksen a Svensen, 2004).

1.1.2 Geografie

Souostroví Svalbard se nachází v Severním ledovém oceánu v severozápadním rohu Barentsova moře. Souostroví leží mezi 74° a 81° severní šířky a 10° a 35° východní délky. Je složen z osmi ostrovů Špicberky, Nordaustlandet, Barentsøya, Kong Karls Land, Hopen, Prins Karls Forland, Bjørnøya (Lydersen et al., 2010). Bjørnøya je část Svalbardu, prostřední ostrov mezi Špicberky a Norskem. Je bohatá především na faunu a důkazem je to, že v okolí vod hnízdí mnoho druhů ptactva. Ostrov se stal v nedávné době přírodní rezervací. Svalbard se rozkládá na území 61 299 km², ledová plocha tvoří 60 % země a 10 % vegetace (Gulliksen a Svensen, 2004).

1.1.3 Norská správa

Souostroví, které se norský nazývá Svalbard neboli ledová krajina, v které žije téměř 3000 lidí. Většina lidí žije v západní části ostrova Špicberky. Zbytek obyvatel se nachází na hranici ve správním středisku Longyearbyen. Většina zvířat na Svalbardu žije na pobřeží a v moři (Gulliksen a Svensen, 2004).

1.1.4 Klima

Klima je mírnější než v jiných zeměpisných šířkách, a to z důvodů nízkého tlaku a teplých proudů z Atlantického oceánu. Průměrná roční teplota se pohybuje kolem -4 °C. Nejvyšší zaznamenaná teplota byla v roce 1979 a to 21,3 °C a nejnižší v roce 1986 -49,2 °C (Førland a kol., 1997). Léto je typické výskytem mlh a zima se vyznačuje silnými větry. Ročních srážek a sněhových srážek je pouze 200-300 mm. Střední část je sušší než západní část Svalbardu díky vlivu oceánu (Liestøl, 1980).

1.1.5 Océanografie

Fjordy a pobřeží jsou ovlivňovány arktickými a atlantskými vodami. Atlantické vody jsou slané a převážně mají teplotu vyšší než 3 °C. Na západě jsou vody chladnější a mají v tomto období -1,8 °C (Gulliksen a Svensen, 2004).

1.1.6 Ochrana životního prostředí

Arktická tundra, sladké vody a moře jsou domovem pro více než 21.000 známých druhů organismů. Jako jsou rostliny, houby, desítky tisíc prvoků a jiných zajímavých živočichů (Caff, 2013). Svalbard je významným místem pro rozmnožování ptactva. Asi 30 druhů hnízdí každoročně na Špicberkách, ale jen bělokur zůstává přes zimu (Kovacs a Lydersen, 2006). Žijí zde 4 druhy savců: hraboš, polární liška, špicberský sob a lední medvěd. Mořští savci jsou zastoupeni: 12 druhů velryb, delfínů, 5 druhů tuleňů, mrožů a narvalů (Kovacs a Lydersen, 2006).

Ve Svalbardu se nachází 28 chráněných přírodních rezervací. Mezi největší chráněnou oblast patří Nordaustlandet, Kvitpya and Kong Karls Land. Nejmenším chráněným územím je Edgeoya a Baretsoy. Všechny rostliny a živočichové jsou zde chráněny. Skalní útesy a nížinné mokřiny jsou domovem zejména pro racky a další mořské ptáky (Gulliksen a Svensen, 2004).

Obrázek č. 1 Mapa Svalbardu



Zdroj: webové stránky Norského polárního ústavu

1.2 *Helmini*

Helmini nejsou taxonomickou kategorií, jde o mnohobuněčné organismy, kteří parazitují u obratlovců i bezobratlých živočichů. Mezi helminty patří zástupci neodermátních platyhemintů (Cestoda, Trematoda, Monogenea), vrtejší (Acanthocephala), hlístice (Nematoda). Dále sem patří strunovci, vířníci, ploštěnky, pásnice či pijavky. Z ontogenetického hlediska vývoje jsou helminti velmi proměnlivou

skupinou. Kromě vajíček a dospělců mohou mít i poměrně rozsáhlý počet morfologicky odlišných larválních stádií. Během ontogenetického vývoje parazitují larvální stádia i u meziphostitelů. Helminti mají cykly s jedním hostitelem, ale také dvouhostitelské nebo tříhostitelské cykly. Definitivním hostitelem je takový organismus, ve kterém pohlavně dospívají a jsou sexuálně aktivní. V meziphostiteli probíhá pouze larvální vývoj helmintů (Volf, Horák a kol. 2007).

1.3 Třída Cestoda (tasemnice)

Dosud je známo asi 5000 druhů tasemnic parazitujících u všech skupin obratlovců. Nejvyšší počet řádů tasemnic se nachází u paryb a ryb. Převážně jde o parazity, kteří mají vícehostitelské životní cykly. Dospělce nacházíme v trávicí soustavě obratlovců (Volf, Horák a kol., 2007). Mohou vyvolávat vážná onemocnění, a to jak dospělci, tak i vývojová stádia.

Tělo tasemnic je dorzoventrálně zploštělé, rozlišujeme na něm hlavičku (skolex) a tělo (strobila) – pokud je rozloženo na články (proglotidy).

Na skolexu můžeme najít typické přichycovací orgány. Jsou to buď kruhovitě přísavky rozmístěné po obvodu skolexu (obvykle 4), nebo jen dvě podélné šterbiny schopné sevřít střevní sliznici hostitele. Některé druhy tasemnic z mořských ryb a žraloků mají přichycovací orgány složitější. Buď přímo na skolexu, ty se nazývají rostellární háčky, nebo na zatažitelném chapadlu (rostellum), kde jsou uspořádány do věnce v jedné nebo více řadách. Tvary a délka háčků jsou různé. Skolex přechází ve strobilum přímo nebo je mezi nimi nečlánkovaná část, které se říká krček, z jehož zadního konce se odškrucují články. Počet článku je u každého druhu individuální. Nejstarší články jsou na konci strobila, ve kterých je vyvinuta děloha se zralými vajíčky.

Délka tasemnice je od 1 mm až přes 10 m. Jejich barva bývá bílá, ale může být i nažloutlá. Tasemnice mají kožněsvalový vak. Povrch tvoří bezjaderná vrstva cytoplazmy, která je spojená tenkými proužky s částmi cytoplazmy s jádry, ponořenými

pod okružní a podélnou svalovinou. Zvláštností na povrchu těla jsou velmi jemné vláskovité povrchové výrůstky rozlišitelné pouze elektronovým mikroskopem. Tyto výrůstky mají velký význam při vstřebávání potravy celým povrchem těla. Kromě celistvého svalového vaku tvořeného okružní a podélnou svalovinou prostupují tělním *parenchymem* svalové svazečky směřující od zad. V *parenchymu* bývají rozptýlena drobná vápenitá tělíčka. Tato tělíčka mají opornou funkci. Trávicí soustava úplně chybí.

Nervová soustava je pouze slabě vyvinuta. Centrem nervové soustavy ve skolexu je párovitá uzlina, z níž vybíhají do těla podélné provazce spojené navzájem příčnými spojkami (Ryšavý, 1988).

Vylučovací soustava je tvořena protonefridiemi, z nichž vedou vylučovací kanálky, které směřují do hlavních sběrných kanálků. Tyto kanálky prostupují podélně celou strobilou. Vápenitá tělíčka jsou typická pro četnost tkání tasemnic. Funkce tělísek je nejasná. Tasemnice jsou jedinými zástupci Neodermáta – nemají vytvořeno střevo (Abraham, 2005).

Tasemnice jsou až na malé výjimky hermafroditi. V každém článku je samčí i samičí reprodukční soustava. Někdy jsou reprodukční soustavy zdvojené či dokonce mnohočetné. Zvláštnosti: samčí soustava může obsahovat mnoho varlat, samičí soustava může zahrnovat buď početné žlutkové folikuly, nebo kompaktní žlutkovou žlázu. Součástí samičí reprodukční soustavy je i pochva. Vývody obou pohlavních soustav ústí často do společného genitálního místa. K oplození dochází mezi dvěma tasemnicemi nebo mezi články na stejné strobile.

Tasemnice mají obvykle dva hostitele (mezihostitele a definitivního hostitele). Mohou být i zástupci s tříhostitelskými cykly (dva mezihostitele a definitivního hostitele). Různé tasemnice využívají jako mezihostitele bezobratlé nebo obratlovce. Některé cykly mohou být složitější a využívat jen jednoho hostitele.

Všechny tasemnice jsou vejcorodé. Vajíčka se do vnějšího prostředí dostávají se stolicí definitivního hostitele. První larva se vytváří ve vajíčku v mateřském organismu, anebo až ve vnějším prostředí tzv. lykofora. Larvy druhého stádia v mezihostitelích jsou nazývány metacestody.

1.4 Rejnok – *Amblyraja radiata*

Amblyraja radiata (rejnok hvězdnatý)

Patří do třídy Chondrichtyes, čeledi Rajidae a rodu *Amblyraja* (Smith, 2011). Vyskytuje se ve východním i západním Atlantském oceánu. Ve východním Atlantiku se vyskytuje na Svalbardu, Islandu, Grónsku, včetně severní části Severního moře a západní části Baltského moře (Smith, 2011). *Amblyraja* je charakteristický zploštělým tělem. Počet zubů se pohybuje mezi 36-46 v horní i dolní řadě. Na hřbetní ploutvi ocasu má charakteristickou řadu velkých trnů, kterých je 1-19. Další trny můžeme najít i nad očima (Linghammar, 2014). Trny mají základ do tvaru hvězdičky. Spodní část těla je hladká, až na pár trnů na čenichu, ten je trojúhelníkovitý a tvrdý. Ocas má kratší než tělo. Hřbetní strana rejnoka je zbarvená do hněda s tmavě hnědými skvrny. Břišní strana je světlá s lehce nahnědlými skvrnami. Bílé skvrny najdeme též u očí (Smith, 2011). Velikost se liší podle místa výskytu. Dosahují délky přibližně 10 cm. A dožívají se kolem 16 let (Sulkowski, 2005). Zdržují se v mělkých pobřežních vodách, kde je teplota 1,4-14 °C a hloubka 18-1400 m (Chevolot, 2007). Potrava se skládá z mnohoštetinatců, ryb, tresek nebo sledů, krevet, koryšů a sasanek (Ebert, 2007).

Reprodukce trvá skoro celý rok. Rozmnožují se během května nebo října. Když embryo dosahuje přibližně 10 cm dochází k líhnutí. Počet vyzrálých vajíček se pohybuje kolem 2-88. Samice ukrývá svá vajíčka do písečných nebo bahnitých míst. Mláďata po vylíhnutí jsou plně vyvinuta a podobná vzhledem dospělé (Sulkowski, 2005). Dospělosti nabývají až po 5-6 letech (Chevolot, 2007).

Paraziti: Cestoda

- *Echeneibothrium canadensis* Keeling a Burt, 1996 (Burt, 2007)
- *Echeneibothrium dubium abyssorum* Campbell, 1977 (Randhawa, 2008)
- *Echeneibothrium raji* Heller, 1949 (Caira a kol., 2014)
- *Grillotia brayi* Beveridge a Campbell, 2007 (Beveridge and Campbell, 2007)
- *Grillotia dollfusi* Carvajal, 1971 (Palm, 2004)
- *Grillotia erinaceus* Van Beneden, 1858 (Beveridge and Campbell, 2007)
- *Grillotia* (Randhawa, 2012)
- *Pseudanthobothrium hanseni* Baer, 1956 (Randhawa, Saunders, Burt, 2007)

Obrázek č. 2 *Rejnok Amblyraja radiata*



Zdroj: Archiv CPE, Ditrich

1.5 Parazitismus

Parazit je organismus získávající živiny z jednoho nebo několika hostitelských jedinců, které poškozují, ale nezpůsobuje jim okamžitou smrt. Parazitické organismy rozdělujeme na mikroparazity a makroparazity.

Mikroparaziti se rozmnožují přímo v těle hostitele. Nejtypičtějšími příklady jsou bakterie a viry, např. virus spalniček nebo bakterie tyfu. Druhou skupinou mikroparazitů jsou prvoci např. *Trypanosomy*. Mikroparazity můžeme rozdělit na ty, kteří se šíří přímo od hostitele k hostiteli např. při přenosu pohlavních nemocí a na mikroparazity přenášené vektorem – např. spavá nemoc, malárie.

Makroparaziti ve svém hostiteli rostou, ale rozmnožují se vytvářením nakažlivých stádií, která jsou z těla hostitele vyloučena a infikují nového hostitele. Často jsou mezibuněční a u živočichů žijí spíše v tělních dutinách. Blechy, vši, hlístice střešní jsou makroparaziti, kteří se přenášejí přímo. Nepřímo jsou přenášeny tasemnice, krevničky a vlasovci.

Obvykle je možné spočítat či odhadnout počet makroparazitů v hostiteli zejména proto, že se v něm nerozmnožují. Makroparazité jsou vhodným objektem studia. Mikroparaziti jsou malí, často velice početní a mají schopnost se rozmnožovat rychle uvnitř hostitele, a tak se stává vhodným objektem studia hostitel.

Dále dělíme parazitismus na příležitostný (fakultativní) a nezbytný (obligatorní). Ve fakultativním případě se jedná o alternativní způsob obživy např. pijavky, u obligatorních je nezbytně nutný (všichni endoparazité) (Volf, Horák a kol, 2007).

1.6 Druhy chrupavčitých tasemnic

1.6.1 *Echeneibothrium* třída *Diphylleida*

V době Tylerovy monografie, se předpokládalo, že se tento řád skládá ze 2 platných tříd *Ditrachybotridium* a *Echinobotridium*. Publikovali rekonfiguraci řádu zaměřený na omezení monofyletické třídy, což vedlo ke vzniku dalšího rodu *Andocadoncum*, *Coronocestus*, *Halysioncum*. Společně těchto 6 tříd obsahuje 56 platných druhů (Kuchta and Caira, 2010).

Scolex je charakteristický dvěma drážkami na hlavě a bothridiem (Caira et al., 1999) a apikálním orgánem, který může, ale nemusí mít apikální háčky a někdy také boční háčky. Mívá koronu hrotů a cefalickou stopku, která je ne vždy ozbrojena 8 sloupky hrotů.

Diphyllidea patří mezi nejmenší tasemnice paryb. Mnoho druhů je méně než 5 mm dlouhých. Jsou převážně paraziti rejnoků trnuchami pilohřbetými a rejnokovitými (Probert and Stobart, 1989).

1.6.2 *Pseudanthobothrium* třída *Rhinebothriidea*

Velký pokrok v posledních letech byl učiněn u systémové klasifikace této skupiny tasemnic. Rozeznání na *Tetraphyllidea* bylo výsledkem morfologické práce (Healy, 2006a). Mají skolex složený ze 4 bothrií, ale *Rhinebothriidea* jsou rozdílné tím, že je nesou na stopkách. S výjimkou *Pseudanthobothrium*, každá nese dutinku (*facial loculi*) a v mnoha jiných případech i apikální přísavku (*apical sucker*).

Apikální orgán larev u mnoha druhů degeneruje během transformace do dospělého jedince. Výjimkou jsou *Pseudanthobothrium* a *Echeneibothrium* ty si ponechávají tento znak ve formě dospělé přísavky (*myzorhyncus*).

Do řádů patří 111 druhů ve 20 rodech. *Rhinebothriidea* má velikost od 1 mm do 3 cm (Healy et al., 2009).

Rhinebothriidea jsou běžnými parazity sladkovodních trnuch napříč Jižní Amerikou a Borneem (Mayes et al., 1981), (Brooks et al., 1981), (Reyda, 2008).

1.6.3 *Grillotia brayi* třída *Trypanorhyncha*

Jde o řád tasemnic s nejvíce druhy parazitujících v parybách. Dnes je 303 druhů v 81 rodech. *Trypanorhyncha* jsou charakteristická tím, že mají skolex se 2 nebo 4 bothrii a komplexní rhyneální aparát včetně 4 vyzbrojených chapadel, pouzdra na chapadla a retrakční svaly.

Nejmenší druhy jsou 1 mm až 2 mm dlouhé, neobvyklé nejsou ani 30 cm dlouhé (Palm, 2004). Většina druhů parazituje na spirální řasách svých parybích hostitelů. Druh *Tentaculariidea* přebývají v žaludku nebo ve žlučníku (Campbell and Beveridge, 2006).

Trypanorhyncha je jedinou skupinou parybích tasemnic u nichž není striktní specifita hostitele. Parazitují na parybách v mořské i sladké vodě (Palm, 2004), (Palm and Caira, 2008).

1.6.4 *Grillotia*

Popis: Míry na základě 10 plerocerků (larvální stádium) a jednoho nedospělého. Scolex od 1,9 mm do 7,9 mm vymezen od strobily zúžením. Přítomny 2 trojúhelníkové štěrby s přísavkou (borhidia): Pars bothridialis 2,2 mm, pars vaginalis 3,7 mm, pars postbulbosa 2,1 mm, *bulbs* 1,7 mm.

Retrakční svaly jsou vsunuty do základu. Chapadla od 2,1 mm do 3,2 mm bez háčku. Ozbrojení poeciloacanthous – základní ozbrojení, háčky v základní ploše redukovány ve formě i počtu. Řady začínají na vnitřní tváři a končí na vnější tváři. Každá se skládá ze vzestupných půl spirál, 6 až 7 háčků.

Háčky – mají tvar trnů růží, délka 57 až 65, základna 40 až 46, výška 31 až 34.

Jsou podobné vsunutým háčkům. Ozbrojení scolexu se skládá z podélného pásu trnovitých háčků složených z jedné hlavní podélné řady, která přiléhá k místům, s nimiž se háčky 5 (5') a 6 (6') na základní řadě spojují.

Z pohledu strany bothridiální nebo antibothridiální (drážka s přísavkou či bez) můžeme vidět jednu řadu dvou nebo tří vsunujících háčků mezi základní řady.

Hostitelé: *Bathyraja richardsoni* (Templeman, 1973), mezihostitel: *Coryphaenoides armatus*.

Prostředí: Dospělé tasemnice žijí ve spirální řase, plerocerky v játrech, mezenterium (okružní mezi střevy), serózní vrstvě žaludku, pyloru (spojení střeva s dvanáctníkem) a ve střevě.

Lokalita: Hudsonův podmořský kaňon v severozápadním Atlantiku, přilehlý kontinentální růst a hlubinná rovina v hloubce 1,947 m do 4,815 m.

Poznámky: Dolfus vytvořil podrod *Paragrillotia* pro ty druhy *Grillotia*, které mají skořápkovitý drážky s přísavkami a žádné ohraničení mezi řadami vsunutých háčků. Jediný druh v tomto podrodu je dnes *Paragrillotia* (Dollfus, 1969), který může být odlišen od nového druhu pomocí: přítomnosti nepravidelných háčků u báze chapadel, menšími základními háčky: háčky 3 (3'), většími než háčky 1 (1') a 2 (2') do tvaru U a drážkami s přísavkami se na zesílení okraji: 1,5 : 1,3 a neexistencí příčných základů na háčcích.

2 Praktická část

2.1 Cíle práce a výzkumné otázky

2.1.1 Cíle práce

- 1) Zpracovat materiál tasemnic rejnoků *Amblyraja radiata* přivezený ze Svalbardu.
- 2) Pomocí barvení a světelné mikroskopie charakterizovat nalezené druhy morfologicky a determinovat je.
- 3) Výsledek porovnat s literárními údaji charakterizovat společenstvo tasemnic rejnoků *Amblyraja radiata* na Svalbardu.

2.1.2 Hypotézy

- 1) Jaké druhy tasemnic parazitují v zažívacím traktu rejnoků *Amblyraja radiata* ze Svalbardu.

2.2 Materiál

Vzorky tasemnic, které jsem v této bakalářské práci zpracovala, byly odebrány během expedice Centra polární ekologie PřF JU v letech 2014–2016. Všechny vzorky tasemnic byly již izolované ze spirální řasy střeva rejnoka *Amblyraja radiata* ze Svalbardu. Po ulovení rejnoka bylo třeba vypitvat předem určené orgány, v tomto případě především střeva a žlučník. Vzorky tasemnice pro následné zpracování byly uloženy v etanolu.

Tabulka č. 1 vyšetřovaný materiál

Celkově vypitvaných vzorků	91
Počet rejnoků	18
Počet článků	14

vlastní tabulka, 2017

2.3 Barvení kyselým karmínem – modifikováno

Karmín – extrakt ze sameček červce nopálového

Cílem barvení karmínem je lepší zviditelnění vnitřních orgánů, především pohlavních

- 70% alkohol – 15 min
- Karmín – 10-15 min
- HCl – 20 min
- 80% alkohol – 15 min
- 90% alkohol – 15 min
- 96% alkohol – 15 min
- 2x 100% alkohol – 15 min
- 3x xylen – 15 min
- montování kanadským balzámem

2.4 Skenovací elektronová mikroskopie (SEM)

Vysokovakuový, environmentální, nízkovakuový

- určen k pozorování povrchů vzorků
- zobrazení SEM = nepřímá metoda (výsledný obraz tvořen sekundárním signálem)
- velká hloubka ostrosti → trojrozměrný aspekt

- zdroj elektronů je termoemisní zdroj (wolframové vlákno)
- vzorek musíme připravovat, protože 1. obsahuje vodu – ruší stabilitu ve vakuu
 - o pro vysokovakuové SEM suché
 - o pro nízkovakuové – do 70% vody
 - o pro environmentální – zavodněné
- 2. Stabilita při ozáření primárními elektrony
- 3. Dostatečná výroba sekundárních elektronů
- 4. Zastavení změn souvisejících s odebráním a zpracováním vzorku

Postup: 1.krok: získání vzorku a jeho očištění

2.krok: fixace preparátu

3.krok: promytí a dehydratace

4.krok: vysušení a jeho nalepení

5.krok: zvýšení povrchové vodivosti preparátu

- velikost preparátu – omezena posuvem stolku v mikroskopu
- očištění preparátu pod stereomikroskopem preparační jehlou, oplachy isotonickým roztokem HCl, NaCl, ofukování tlakovým vzduchem
- fixujeme – horkým roztokem ve 4% formaldehydu
- odvodňujeme – etanolem či acetonem
- řada se vzrůstající koncentrací org. rozpouštědla, kontinuálně sušíme – metodou kritického bodu – vysušení preparátu bez jeho poškození

Kritický bod – zahřívání kapaliny v omezeném objemu, kdy dojde k vyrovnání tenze páry a kapaliny a zmizí mezi oběma fázové rozhraní

- alternativní metody sušení: - na vzduchu, vakuová sublimace
- lepíme – na hliníkový terče, speciální pásy – uhlíková, double tape
- lepidla: nesmí být hygroskopická a obsahovat vodu, nesmí těkat a měnit vlastnosti ve vakuu
- musí být el. vodivá
- zvýšení povrchové vodivosti – impregnací – vytvoření nánosu kovu na povrchu

2.5 Porovnání *Pseudanthobothrium hansenii* s *Pseudanthobothrium purtoni*

Během parazitologického průzkumu rejnoků z Passamaquoddy Bay a ve vodách obklopujících západní ostrůvky a zálivy Fundy. Bylo získáno 7 druhů tasemnic (Randhawa a kol., 2007). Z nich dva druhy byly morfologicky totožné s *Pseudanthobothrium*. První *P. hansenii* se získal z *Amblyraja radiata*. Druhý *Pseudanthobothrium purtoni* byl izolován z *Leucoraja erinacea*.

Několik druhů tasemnic byly izolovány z *Amblyraja radiata* (Heller, 1949; Mayers, 1959; Threlfall, 1969; Margolis & Arthur, 1979; McDonald & Margolis, 1995; Keeling & Burt, 1996) a rejnoka *Leucoraja ocellate* (Myers, 1959; Margolis & Arthur, 1979).

V současné době existují tři uznávané druhy *Pseudanthobothrium*: *P. hansenii*, *P. minutum* Wojciechowska, 1991 a *P. notogeorgianum* Wojciechowska, 1990. První z nich byl původně popsán Baer (1956) z *Amblyraja radiata* ulovených ve vodách u západního pobřeží Grónska. V roce 1966 byly identifikovány v Severním moři. Dále byly identifikovány Jarecka & Burt 1984 *P. hansenii* a *Pseudanthobothrium* z *Leucoraja erinacea* v Passamaquoddy Bay. Čímž se rozšiřuje rozsah hostitelů *P. hansenii*. Jejich

identifikace byla založena na dospělých cizopasnících a oddělenými proglotidy, ale nebyly poskytnuty žádné výkresy a popisy. Přítomnost *P. hanseni* v *A. radiata* a *Leucoraja erinacea* je proto diskutabilní a musí být dále zkoumána Randhawa et al., 2007.

Randhawa et al. (2007) uvádí, že v severozápadním Atlantiku identifikovaly *P. hanseni* z *A. radiata* a *M. senta*. Oba *P. minutum* a *P. notogeorgianum* byly získány z *Bathy-rajia eatonii* a *A. georgiana* z antarktických vod.

Randhawa a kol. 2007 získané vzorky jsou totožné s obecným popisem *Pseudanthobothrium*, ale liší se od tří aktuálně uznávaných druhů. Identifikace tohoto nového druhu je založena na rozdílech v apolýze, maximální šířce strobily, cirrus délky vaku a počet varlat.

Paraziti byly vyjmuti ze spirální řasy a čištění v čerstvém roztoku chloridu sodném před tím, než byli zpracováni.

2.5.1 *Pseudanthobothrium hanseni* (Bear, 1956)

Typový hostitel: *Amblyraja radiata*

Typová lokalita: Západní Grónsko

Ostatní lokality: Severní moře (Williams, 1966)

Místo: Ve spirální řase

Prevalence: 90,7 % *A. radiata*; 48,5 % *M. senta*

Popis: Dospělý jedinec je dlouhý 5,1-25,8 mm. Maximální šířka 195 μ m až 610 μ m na úrovni terminální proglotidy. Strobila dlouhá 39-173 μ m s mírnou plachetkou proglotidy, včetně 4-82 nezralých proglotidy s přítomností vyvíjejících se varlat 2-21. Proglotidy jsou plně rozvinuté v mužských a ženských reprodukčních orgánech 0-9. Scolex se skládá ze 4 štěrbin se zatahovacím apikálním výběžkem. Štěrbina nevětvená

ve tvaru šálku 140-380 μm dlouhý, široký 135-306 μm . Stonky štíhlé, mobilní 200-590 μm dlouhé, široké 65-160 μm . Distální bothridium má povrch pokrytý filitrichy, bothridiální okraje, stonky a proximální poloviny jsou pokryt listovými microtrichy. Široký 1,5 μm na základně. Apikální výběžek zatahovací 45-655 μm dlouhý. V průměru 60-195 μm s listovými microtrichy. Varlata vejčitá kolem 45-150 μm dlouhá, 38-90 široká, část jich je v přední části genitálního atria. Vagina otevírá anteriorly na cirrový vak. Cirrový vak je vejčitý. Rozšiřuje se směrem vzad podél střední linie proglotidu. Vaječnickové laloky ve tvaru X v příčném řezu. Folikuly vejcovité 15-55 μm dlouhé a široké 10-35 μm . Uspořádány na vaječnicku je ve 2 párových bočních pásů. Oválná vajíčka dlouhá 19-33 μm , široké 16-28 μm s polárními vlákny.

Gravidní proglotidy jsou překryty dělohou a varlaty 356-1645 μm dlouhými a širokými 205-610 μm .

2.5.2 *Pseudanthobothrium purtoni*

Typový hostitel: *Leucoraja erinacea*

Typová lokalita: Upper Passage

Místo: V průběhu spirální řase

Prevalence: 80,8 % *Leucoraja erinacea*; 81,2 % *L. ocellata*

Popis: Dospělí jedinci 430-2940 μm dlouzí. Maximální šířka 117-316 μm na úrovni terminální proglotidy. Strobila 46-322 μm s menší plachetkou proglotidy, včetně 10-123 nezralých proglotidy s přítomností vyvíjejících se varlat 1-31. Dospělé proglotidy s plně rozvinutými samčími a samičími reprodukčními orgány. Scolex složen ze 4 štěrbin se štíhlým, dlouhým apikálním výběžkem. Štěrbiny nevětvené ve tvaru misky 186-370 μm dlouhé a široké 88-250 μm . Stonek štíhlý, mobilní 325-745 μm dlouhý, široký 36-128 μm .

Distální bothridia má povrch pokrytý filitrichami, široký 0,5 μ m v průměru v základně. Proximální poloviny bothridial povrch pokrytý listovými microtrichy, u kořene širokými 1 μ m. Apikální stonek zatahovací 190-455 μ m dlouhý o průměru 75-175 μ m. Varlata oválná 40-108 μ m dlouhá, o šířce 30-71 μ m. V počtu 9-21 přítomný v předním genitálním atriu. Genitální síně se nepravidelně střídají. Otevřený proglotis je dlouhý 28-50 μ m. Vagině se otevře vpředu *cirrový* vak. *Cirrový* vak je vejcovitý, rozkládá se dozadu podél střední linie proglottid. Ta je dlouhá 90-185 μ m v průměru 50-100 μ m. Laloky vaječníku jsou asymetrické. V průřezu mají tvar X. Folikuly vejcovité dlouhé 15-53, široké 10-40 μ m. Uspořádány do 2 párových bočních pásů, v předu na vaječníku. Oválné vejce dlouhé 16-30 μ m, široké 12-28 μ m s polárními vlákny.

2.6 Porovnání *Grillotia brayni* s *Grillotia dollfusi*

2.6.1 *Grillotia brayni*

Hostitel: *Amblyraja radiata*

Lokalita: Kolkugrunn,

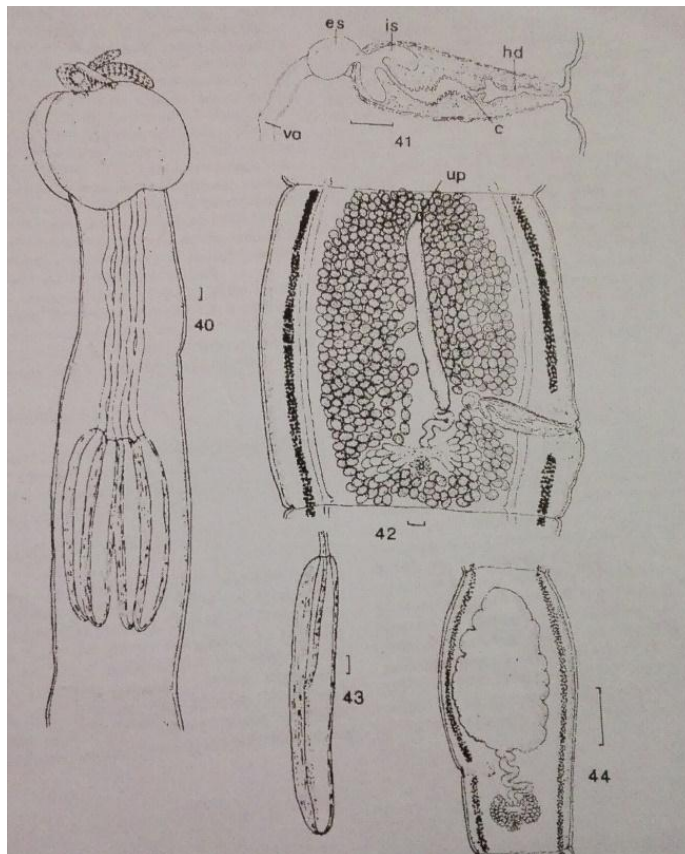
Holotyp: *Grillotia brayni* je dlouhá 9000 μ m, maximálně široká je 270 μ m, gravidní s c.70 segmenty. Scolex bez plachetky je dlouhá 467-994 μ m, maximální šířka je 72-140 μ m. Dvě srdíčkovité štěrbiny s výraznou drážkou v zadním okraji. Pars bothrialis jsou 91-151 μ m dlouhé, štěrbiny široké 89-133 μ m. Pochva je mírně vlnitá, (pars vaginalis) mnohvrstevný dlaždicovitý epitel nerohovějící je dlouhý 261-390 μ m, bulbs jsou protáhlé 185-242 μ m, šířka 18-30 μ m, poměr šířka/délka 1:8,24. Retraktorový sval vznikne v polovině bulbu, připevnění pokračuje směrem dozadu, vysoce buněčné tkáně spojeny s vnitřním povrchem bulbu. Prebulbarové varhany chybí.

Chapadla bez výrazné bazální kotvy. Průměr chapadla v bazální oblasti 99-128 μ m, v metabazálním místě 85-113 μ m.

Prominentní prostor se nachází mezi háky 1 a 1'. Háčky začínají na vnitřním povrchu chapadla a končí na vnějším povrchu. Na povrchu jsou háčky rozšířené, tomu se říká základna. Většinou jich je kolem 6-8 na jednom chapadlu. Zahnuté háčky jsou dlouhé 7-15 μm , základna 4-7. Řady metabazálního místa se skládají ze 4 háčků 1 na základně. Počáteční háčky 1 mají mnohem štíhlejší lopatky než následující háčky. Háčky 1 jsou stejné na obou stranách chapadla, v metabazálním místě jsou velké, zahnuté s kratší základnou: 55-76 μm dlouhá, základna 34-53 μm . Zahnuté háčky 2 jsou vzpřímené s kratší základnou, dlouhé 41-63 μm , základna 15-29 μm . Háčky 3 s širokou trojúhelníkovou základnou směřující podél osy seřazených háčků. Jsou štíhlé, často zakřivené s jehlovitými čepelemi směřujícími dozadu, které jsou dlouhé 24-57 μm . Základna 19-38 μm . Háčky 4 oddělené od háčků 3 trny se štíhlou základnou 46-59 μm dlouhé. Základna jednoduchého typu je dlouhá 11-23 μm . Intercalární řady se zahnutými háčky jsou dlouhé 11-19 μm , základna 3-8 μm . Háčky jsou uspořádány v řadách 2-3 s 5-6 háčky v přední řadě, 5-6 háčků v druhé řadě a 1-2 ve třetí řadě. Řady vznikají později, než háčky 2. Celkový počet háčků je 10-12.

Zralé segmenty bez plachetky: dlouhé 129-247 μm , široké 147-187 μm . Genitální póry se střídají nepravidelně v zadní třetině segmentu. Hermafroditický vak je tvaru hruškovitého, směřuje mediálně na vnější stěně dlouhé 355-580 a široké 92-270. Báze je tenkostěnná a nejširší, tvoří hermafroditické útroby, do kterého se otevře vagina. Vnitřní semenné vázky se připojí k *cirrovým* vakům vysoce zvlněnými prostatickými částmi, které jsou obklopeny žlázovými buňkami. Četná varlata jsou roztroušená po celé prodloužené míše ve 2-3 vrstvách. Dlouhá 39-92 μm . Šířka 46-54 μm . Vagina vzniká uvnitř hermafroditického vaku. Proniká stěnou vaku po zadní části až k vaječnům. Příčné řezy ovariálních laloků jsou dlouhé 200-497 μm a široké 240-370 μm (Keeny and Campbell, 2001).

Obrázek č. 3 *Grollotia brayin* 40. Scolex. 41 Hermafroditický vak s vaginou. 42 Segment. 43 Bulbus. 44 Gravidní segment.



Zdroj: Beveridge, Campbell, 1858

2.6.2 *Grillotia dollfusi*

Host: *Raja chilensis*

Rod *Grillotia* byl identifikován již dříve v Atlantském oceánu, Středozápadním moři, Tichým oceánu a Indickým oceánu. Toto je první zpráva o dospělém jedinci *Grillotia* z jihovýchodní části Tichého oceánu.

2.6.2.1 Materiál a metody

Od listopadu 1966 do března 1971 bylo odebráno 113 rejnoků *R. chilensis* a *R. sixgill*. Byly získáni hostitelé i paraziti. Proglottidy byly vloženy do želatiny, která se rozřezala na 15 μ mrazícím mikrotomem a obarvila. Fixována 70% CH₃OH, hydratovaná, umístěna v laktofenolu a montováno Hoyer's médiem.

2.6.2.2 Popis

Dlouhé tasemnice bez plachetky. Oplodněné bezprostředně po odstoupení tasemnice. Je dlouhá 9000 μ m. Maximálně široká je 400 μ m. Dvě štěrbiny srdíkovitého typu. Dlouhé jsou 90 μ m až 110 μ m a široké 90 μ m až 110 μ m. Scolex v průměru 1: 2: 1. Pars bothridialis 100 μ m až 120 μ m. Pars vaginalis 200 μ m až 280 μ m. Pars bulbosa 140 μ m až 160 μ m. Neobarvený chapadla 150 μ m až 200 μ m dlouhá. Chapadlo má háky různé. Klasifikací háčků popsal (Dollfus, 1942). Háčky 1 na vnitřní straně jsou největší. Délka základny je 425 μ m až 475 μ m. Nejdelší rozměr 555–575 μ m od špičky až do konce zadní paty 200 μ m až 250 μ m. Háčky 2 základna bez dobře rozvinuté paty 2250 μ m až 2750 μ m. Největší rozměr 450–4750 μ m. Háčky 3 mají základnu střední velikosti 250 μ m až 300 μ m na délku.

Na střední části vnější ploše je podélný pás malých háčků, vystupujících od špičky až k základně. Počet háčků v jedné řadě je 10–13. Uspořádané v řadách. Neexistuje žádná bazální kotva specializovaných háčků. Navíjecí sval chapadla je vložený v zadní části *bulbu*. Varlata četná, víc než 300. Nachází se v dřevnaté oblasti po celou dobu, po celé délce proglottid. Průměr varlat přibližně 100 μ m. Cirrový vak svalnatý, hruškovitého tvaru svou dlouhou osou kolmo k délce proglottidů a rozšiřuje se na jeho středové ose. Vaječník má střední velikost v zadní části proglottid. Odděluje se od zadního okraje proglottidu varlaty. Děloha dosáhne gravidity v předním okraji proglottid. Oválné vajíčko, bez polárního výstupku 62 od 30. Počet segmentů, asi 70. Rozměry posledního gravidního segmentu: dlouhý od 1300 μ m do 2460 μ m, široký od 600 μ m do 1200 μ m (Carvajal, 1969).

2.7 Vyhodnocení výsledků

Porovnání mezi *Pseudanthobothridium hansenii* a s *Pseudanthobothridium purtoni*.

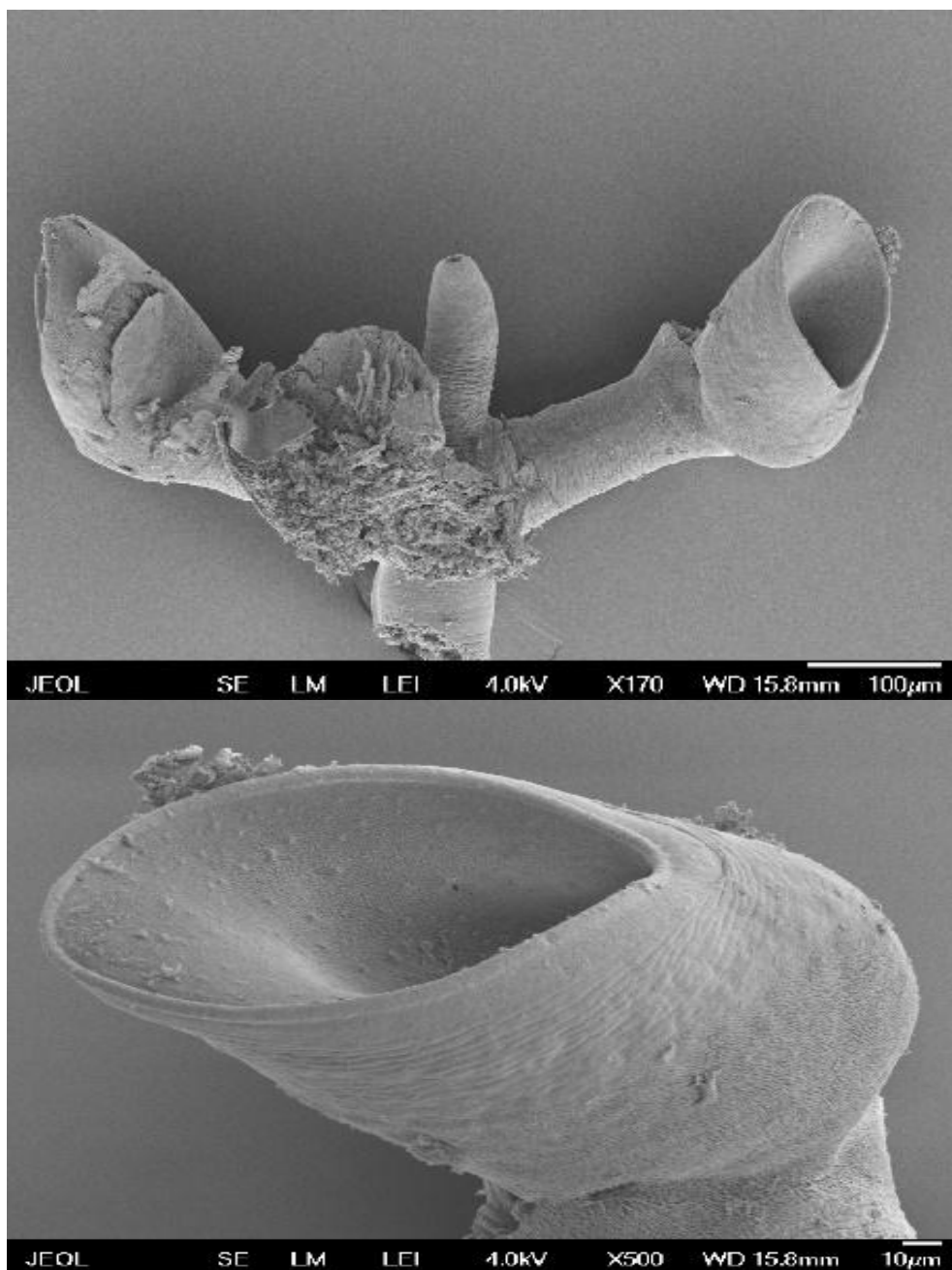
Tabulka č. 2 Srovnání *Pseudanthobothrium purtoni* a *P. hansenii*

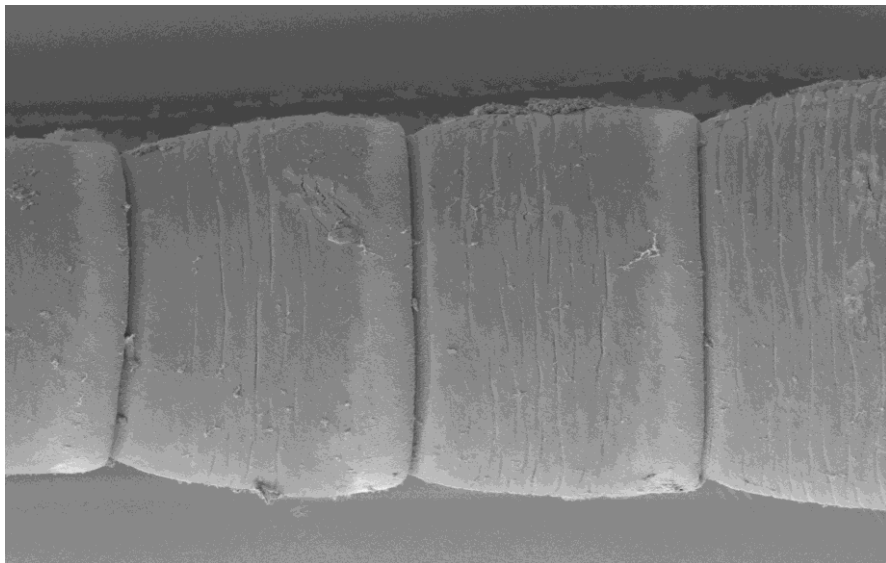
Hostitel	<i>P. purtoni</i> , <i>L. ocellata</i>	<i>P. hansenii</i> , <i>Amblyraja radiata</i>
Celková délka (μm)	430-1780	510-2580
Počet proglotidy	49-231	39 až 131
Gravidní proglotidy (délka · šířka) (μm)	2125 · 460	475-1645 · 205-600
maximální šířka (μm)	170-255	195-600
Bothridia (délka · šířka) (μm)	220-370 150-250 ·	140-380 135-306 ·
Myzorhynchus (délka · šířka) (μm)	230-335 115-175 ·	45-440 · 60-175
Počet varlat v 1 proglottidě	13-21	19-32
Velikost varlat (délka · šířka) (μm)	45-70 · 35-60	50-150 · 38-90
Cirrový vak (délka · šířka) (μm)	110 až 185 · 55-85	140-255 · 60-105
Žloutkové trsy (délka · šířka) (μm)	15-50 · 15-30	16-55 · 15-35

Zdroj: Randhawa et al., 2008

2.8 SEM metoda

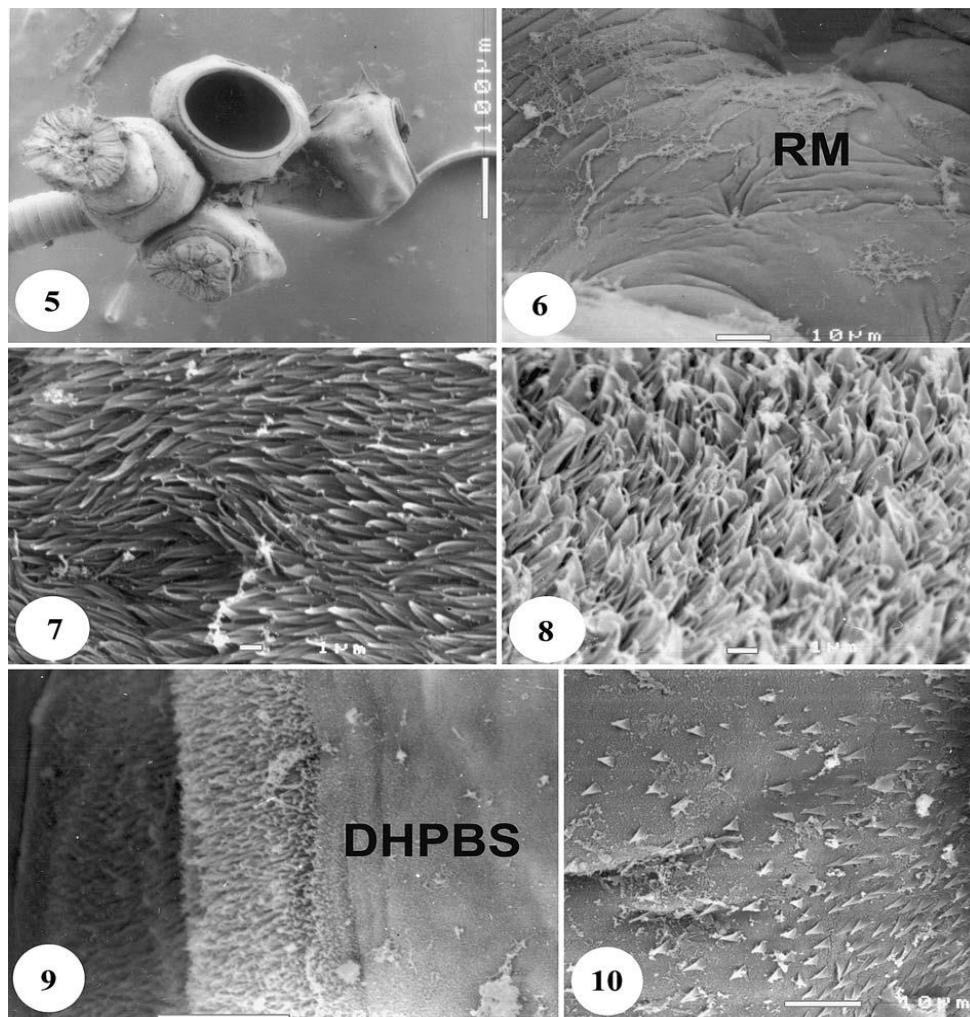
Obrázek č. 4 *Pseudanthobothrium purtoni*. – scolex se štěrbinami do tvaru misky, horizontální průřez, kde jsou vajíčka, proglotidy





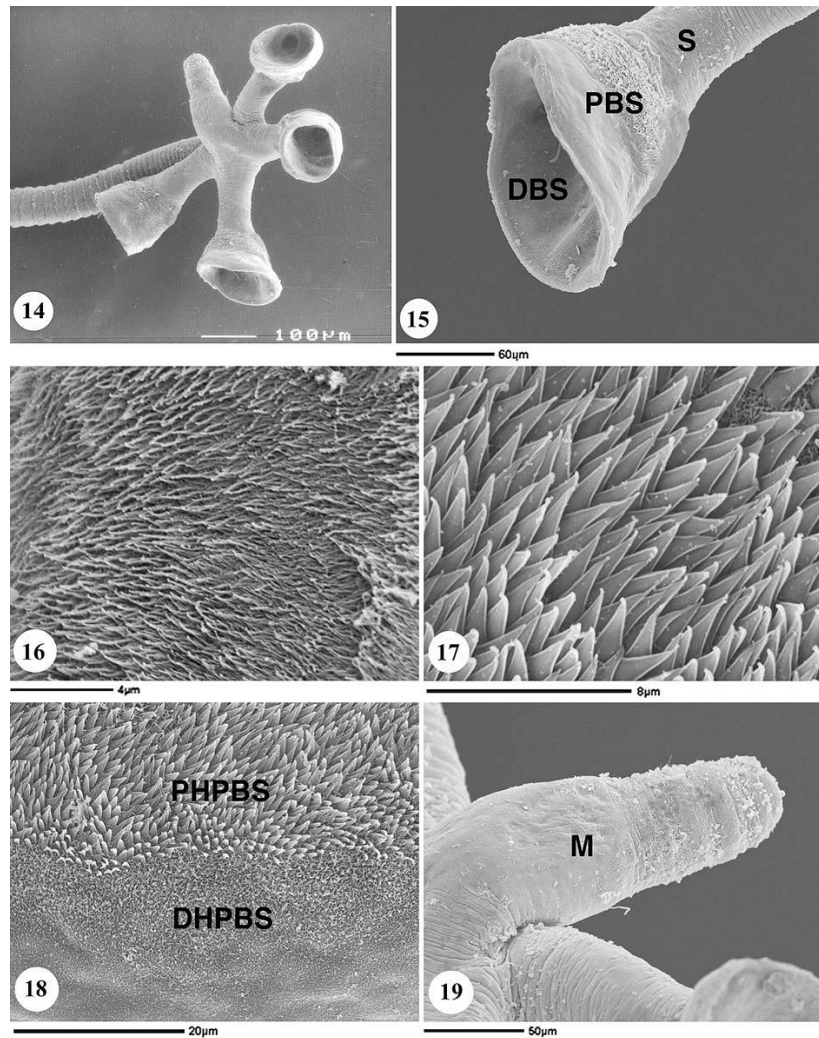
Vlastní foto, 2017

Obrázek č. 5 *Pseudanthobothrium hanseni* – 5 scolex, 6, 7, 8, 9, 10 povrch článku pokrytý filitrichami



Zdroj: Randhawa et al., 2007

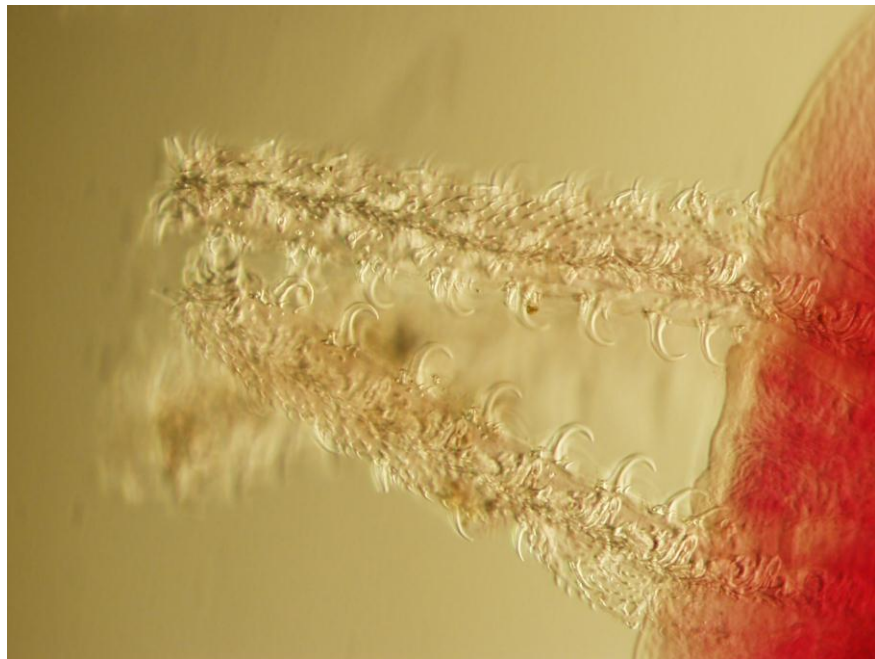
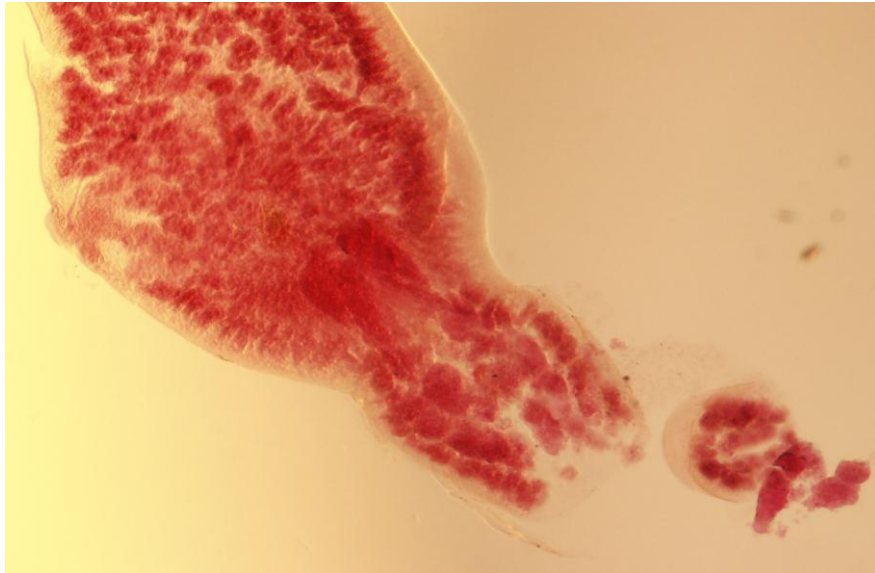
Obrázek č. 6 *Pseudanthobothrium purtoni* – 14, 15 scolex, 16, 17, 18, 19 povrch
článku pokrytý filitrichami



Zdroj: Randhawa et al., 2008

2.9 Metoda barvení karmínem

Obrázek č. 7 Barvení karmínem. Varlata v proglotidě, háky s detailem na háčky



Vlastní foto, 2017

2.9.1 Porovnávání *Grillotia brayi* s *G. dollfusi*

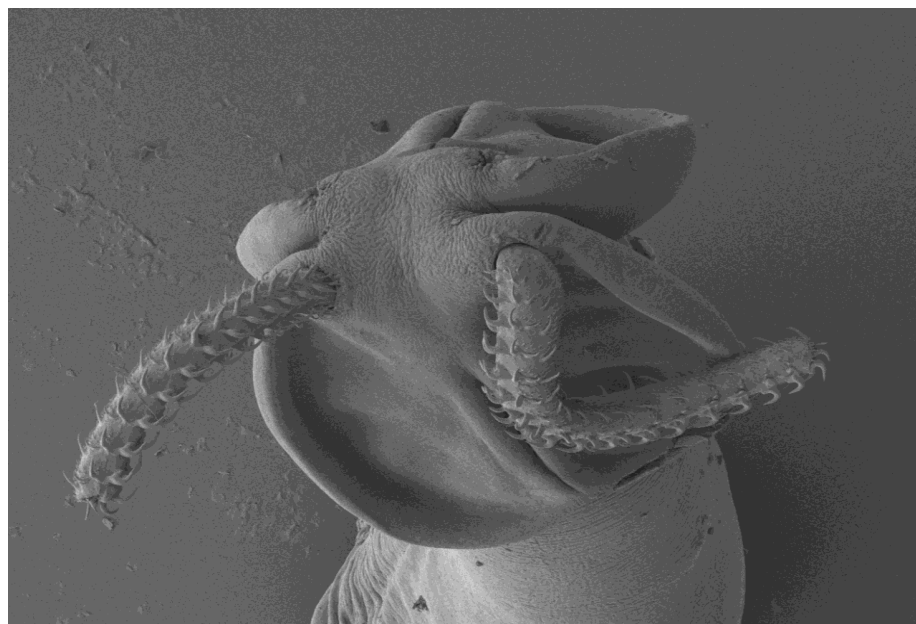
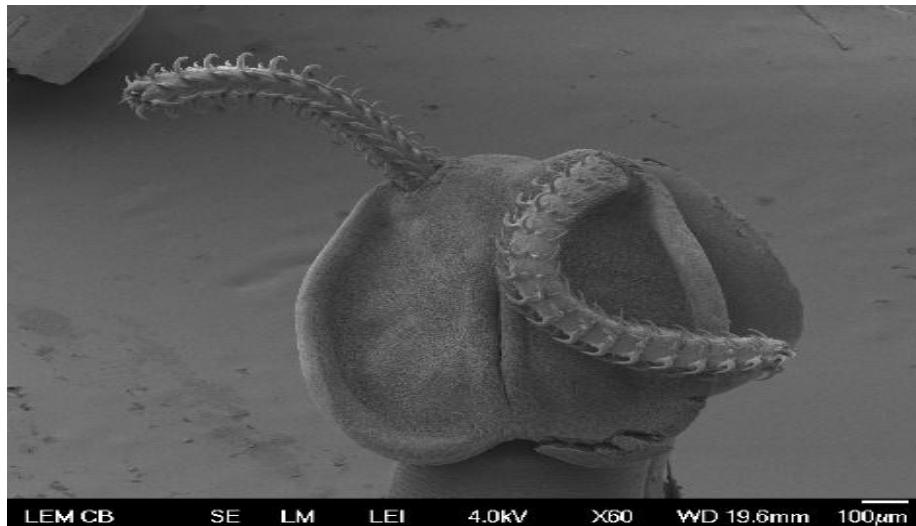
Tabulka č. 3 Srovnávání *Grillotia brayi* s *G. dollfusi*

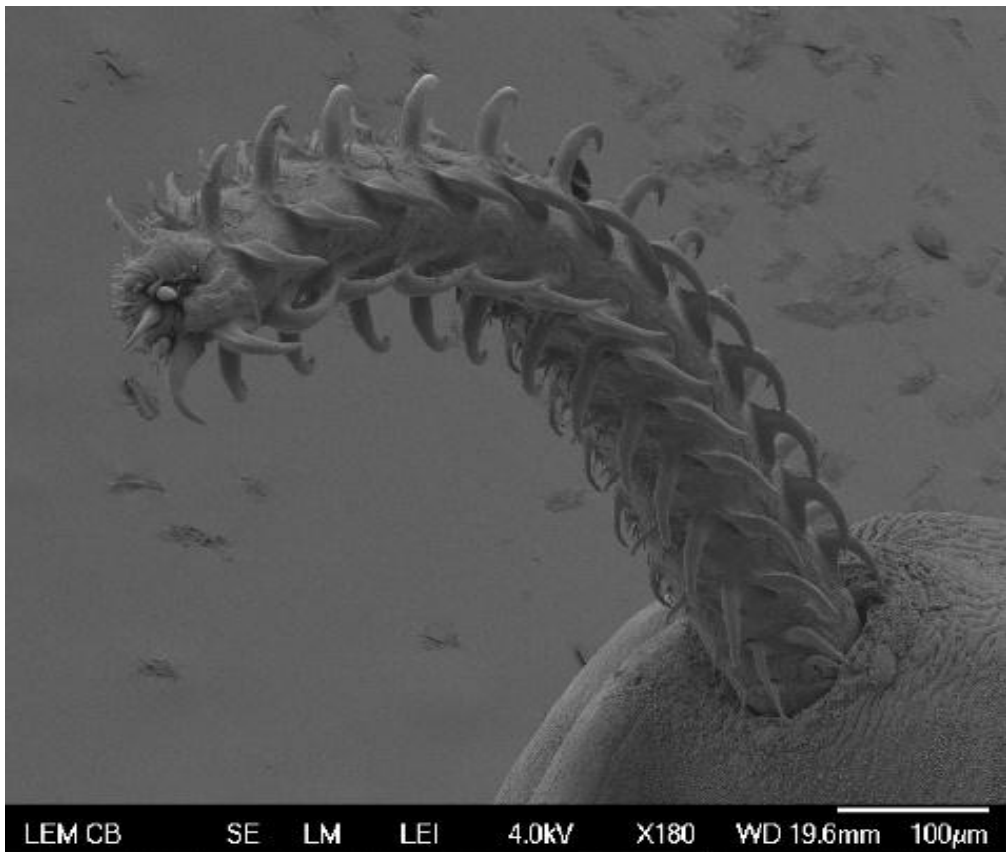
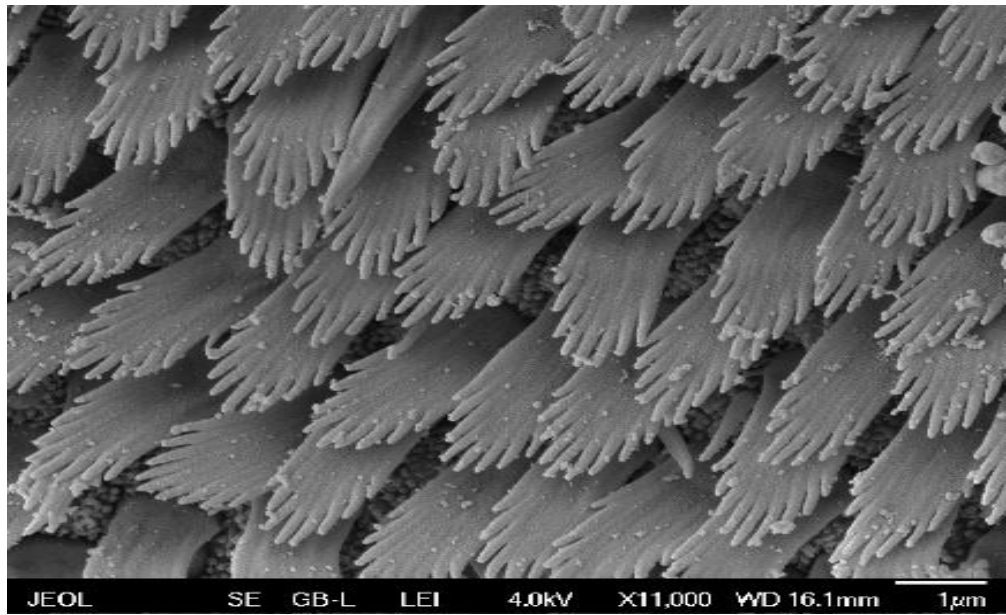
Hostitel	<i>G. brayi</i>	<i>G. dollfusi</i>
	<i>A. radiata</i>	<i>Raja chilensis</i>
Celková délka (μm)	900	900
Šířka (μm)	270	400
Scolex bez plachetky délka(μm)	467-994	90-110
Šířka (μm)	720-1400	90-110
Pars bothriialis délka (μm)	910-1510	100
Šířka (μm)	890-1330	120
Bulbs (délka-šířka) (μm)	185-242 · 180-300	140-160
Celkem háčků na 1 chapadle v 1 řadě	6-8	10-13
Délka háčků (μm)	7-15	19-32
Celkem háčků	10-12	-
Zralé segmenty bez plachetky (délka-šířka) (μm)	390-920 460-540	130-240 60-120
Ovariální laloky (délka-šířka) (μm)	200-497 240-370	300-620

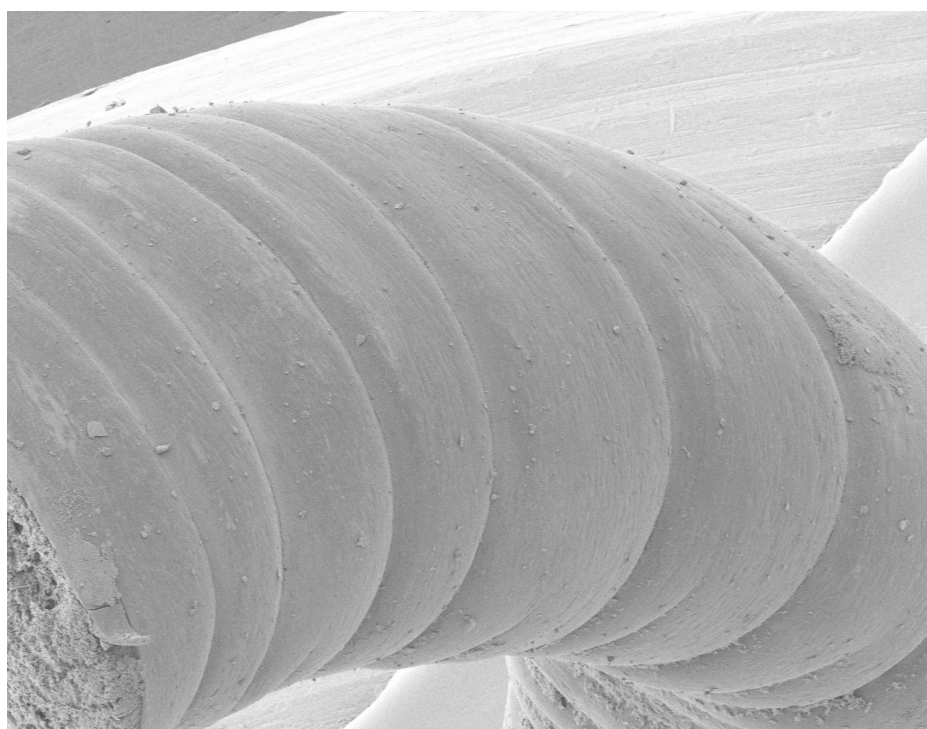
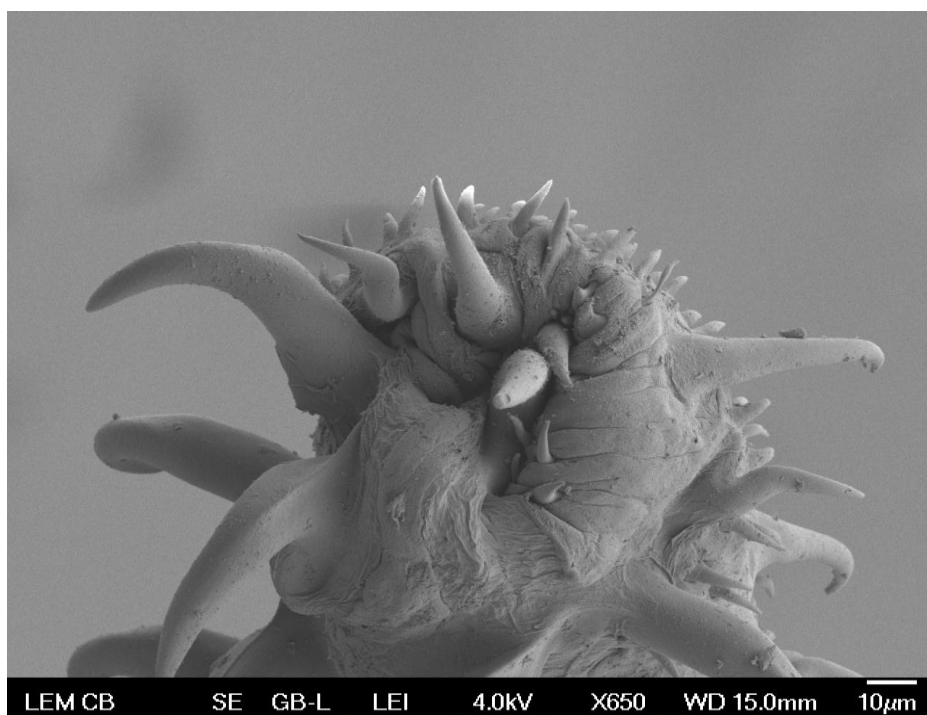
Vlastní tabulka, 2017

2.10 Zobrazovací povrch *Grillotia* sp. pomocí SEM

Obrázek č. 8 *Grillotia dollfusi* - scolex s háky, povrch článku, detail háku s háčky, proglotidy

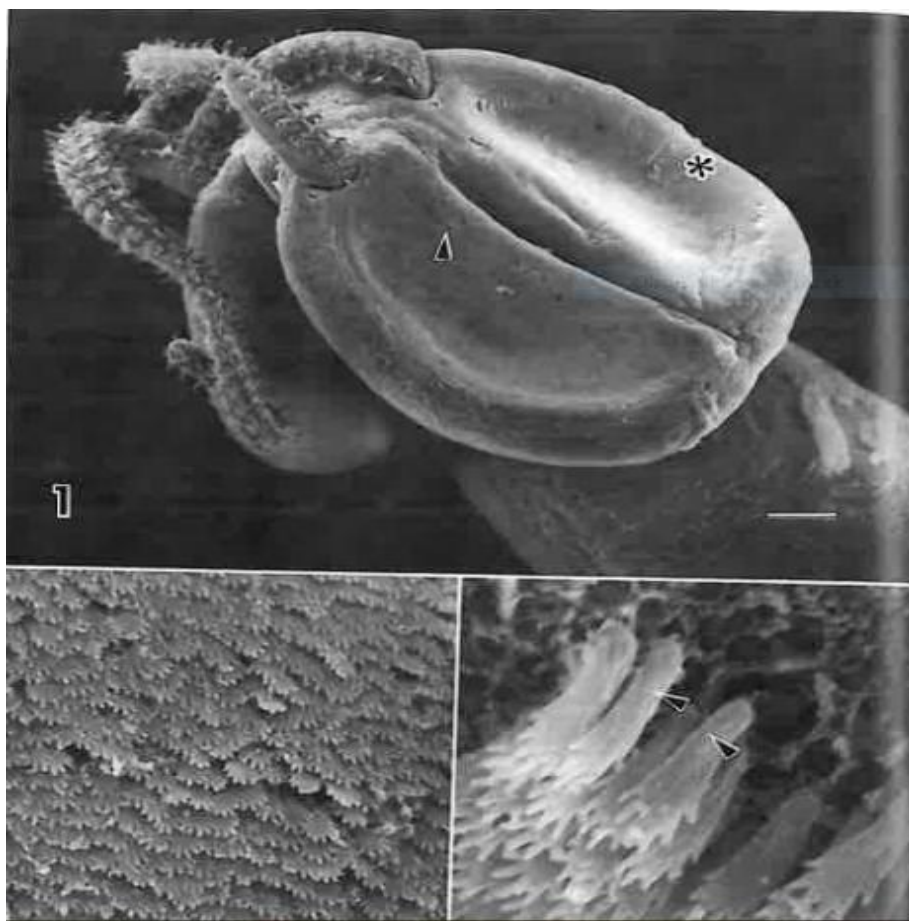






Vlastní foto, 2017

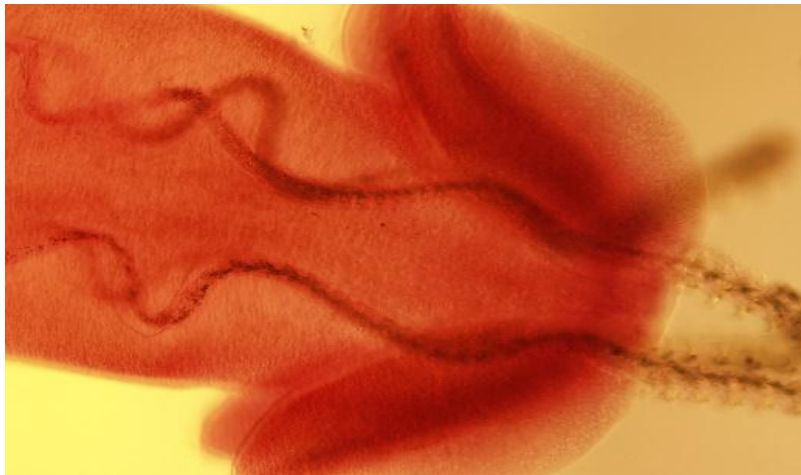
Obrázek č. 9 *Grillotia dollfusi* - scolex s háky, povrch článku



Zdroj: Whittaker, Carvajal, 1971

2.11 Metoda barvení karmínem

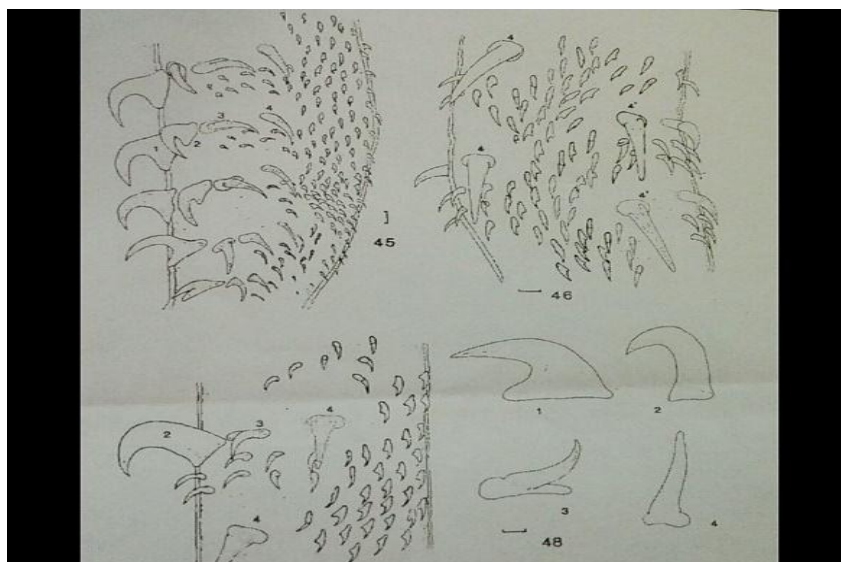
Obrázek č. 10 *Grillotia* barvení karmínem - scolex s háky



Vlastní foto, 2017

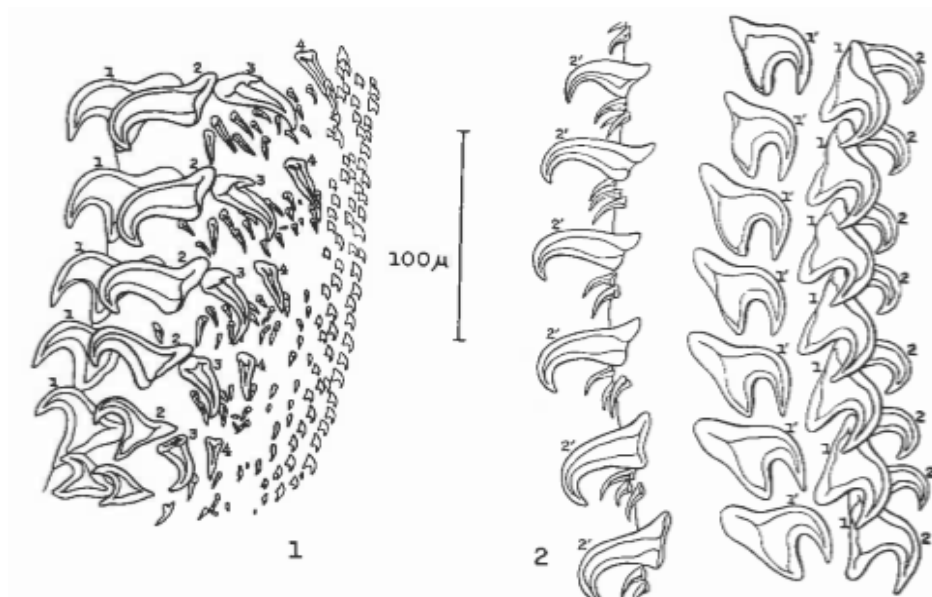
2.12 Porovnání háček *G.brayi* a *G.dollfusi*

Obrázek č. 11 *Grillotia brayi* - háčky



Zdroj: Beveridge, Campbell, 1858

Obrázek č. 12 *Grillotia dollfusi* – háčky



Zdroj: Carvajal, 1969

2.13 Porovnání *Echeneibothrium dubium abyssorum* s *Echeneibothrium variabile* a *Echeneibothrium canadensis*

2.13.1 *Echeneibothrium dubium abyssorum*

Typový hostitel: *Raja radiata*

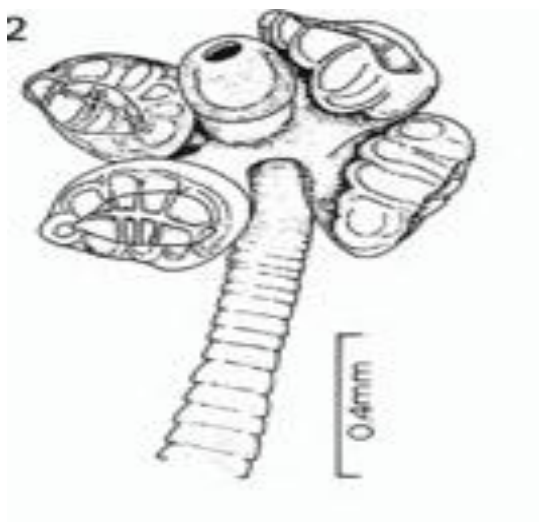
Typová lokalita: Západní severní Atlantik

Místo: spirální řasa

Celková délka 790 μm a široká je 339 μm . Počet segmentů je 42. Scolex má 4 bothridia se stopkami. Stopky jsou dlouhé 180 μm až 380 μm . Bothridia je široce oválná 303-448 μm a dělená jednou podélnou přepážkou a pěti příčnými přepážkami do 10 dutin. Segmenty jsou dlouhé 90 μm a široké 34 μm . Cirrový vak je ozbrojený. Je zde přítomný

genitální atrium. Varlata téměř kulatá, 65–110 x 40–65 μm , ve středním poli před cirrovým vakem. Počet varlat je 17-26. Ovariální laloky jsou nerovnoměrné, tvoří odlišný tvar. Žloutkové trsy jsou dlouhé 20-65 μm a široké 20-40 μm vytvářejí boční pásy procházející až za vaječníky. Vajíčka mají průměr 24 μm (Beneden, 1850).

Obrázek č. 13 *E. dubium abyssorum* - scolex se 4 bothridiemi



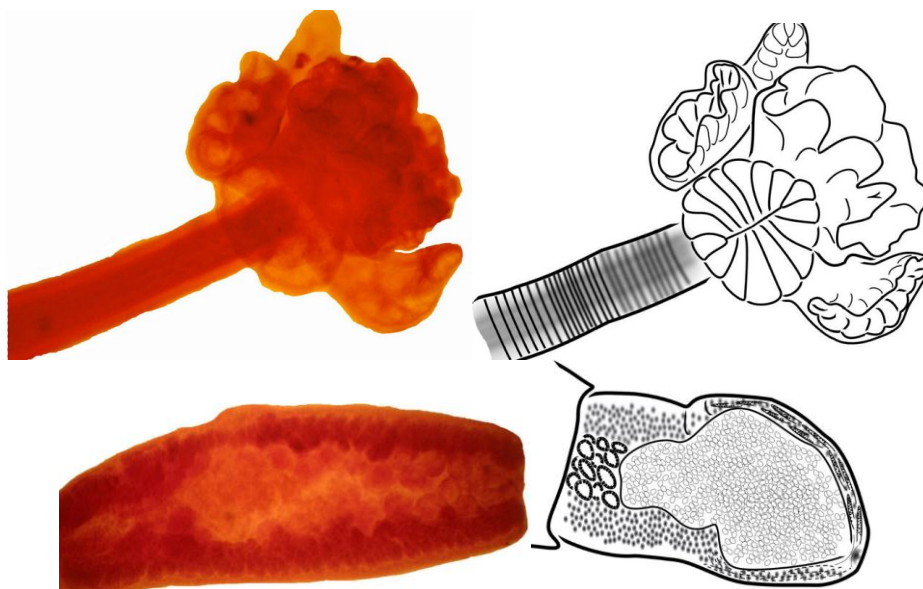
Zdroj: Campbell, 1977

2.13.2 *Echeneibothrium variabile*

Hostitel: *Raja clarata*, *R. batis*, *R. rubus*

Poprvé popsán 1850 van Benedenem. Scolex má čtyři bothridia dělená příčnou a podélnou přepážkou. Mezorhynchus je přítomen. Nemá přítomny přísavky. Varlata vyčnívají podélně v intervaskulární pánvi. Vaječník je na zadním konci proglotidu. Strobila dosahuje délky 25-30 μm a má málo segmentů. Počet varlat 20 až 27. Cirrový vak je dlouhý 22 μm a dosahuje až do středu segmentu. Bothridia mají poměrně silné stopky. Na stopkách je 8 dutin. Linton považuje tento druh za synonymum s *Echeneibothrium sphaerocephalum* (Beneden, 1850).

Obrázek č. 14 *Echeneibothrium variable: Scolex, proglottida*



Zdroj: Beneden, 1850

2.13.3 *Echeneibothrium canadensis*

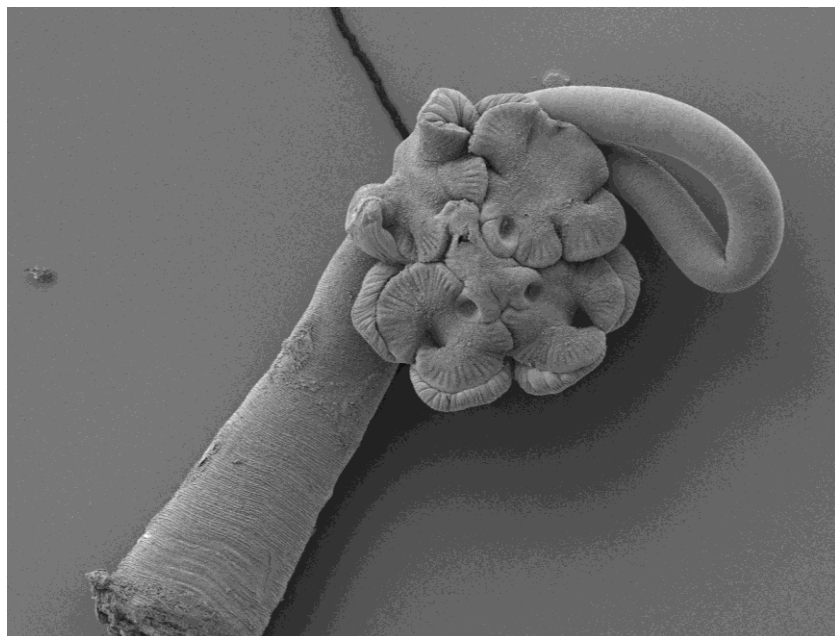
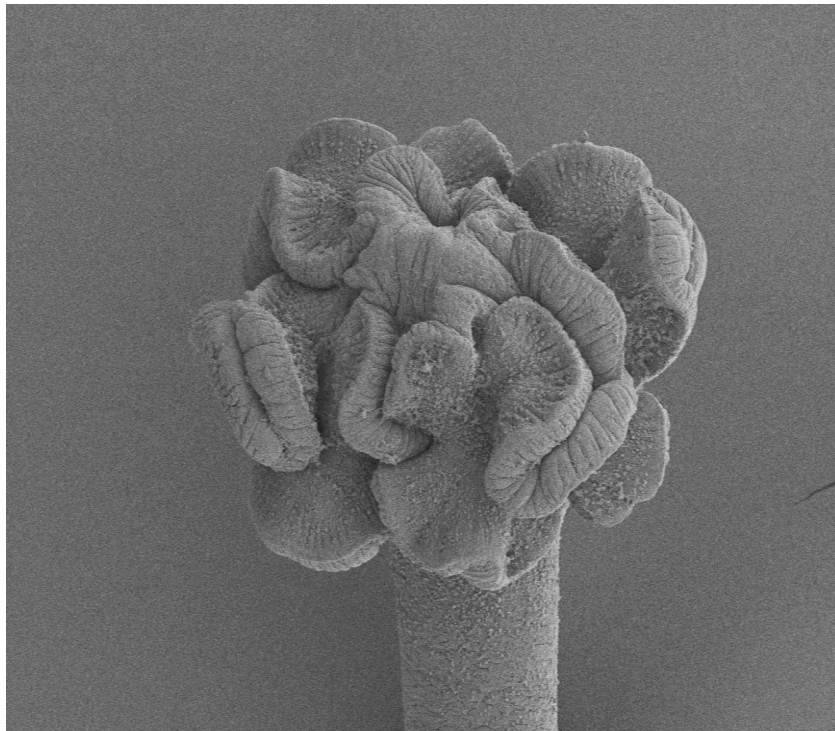
Typový hostitel: *Amblaraja radiata*

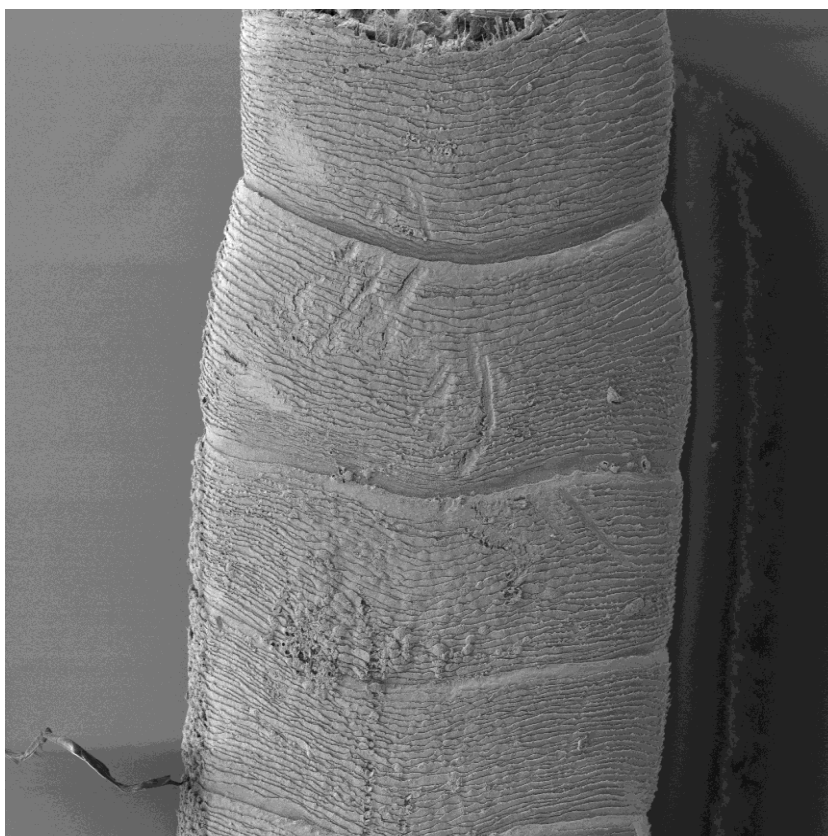
Lokalita: kanadský Atlantský oceán

Echeneibothrium canadensis je charakteristický tím, že na každé bothridii je 12 zřetelných dutin s velkým robustním myzorhynchem. Počet varlat je 18-26 na proglottidu. *E. canadensis* má ozbrojený cirrový vak.

2.14 SEM metoda našeho vzorku

Obrázek č. 15 *Echeneibothrium variable* - scolex, scolex se strobilou, proglotidy





Vlastní foto, 2017

Tabulka č. 4 Srovnání *Echeneibothrium dubium abyssorum*, *E. variabile* a *E. canadensis*

Hostitel	<i>E. dubium abyssorum</i> <i>Raja radiata</i>	<i>E. variabile</i> <i>E. canadensis</i> <i>Raja clarata</i> , <i>R. batis</i> , <i>R. rubus</i> <i>Raja radiata</i>
Počet bothridií	4	4
Počet dutin na bothridiu	10	8 12
Počet varlat	17-26	20-27 18-26

Vlastní tabulka, 2017

Tabulka č. 5 Determinace druhů pomocí šířky proglotid

Druh tasemnice	Celková šířka proglotidy	Průměr naměřených hodnot
<i>Grillotia brayi</i>	270 μm *	365 μm
<i>Grillotia dollfusi</i>	400 μm *	
<i>Pseudanthobothridium purtoni</i>	170-255 μm **	224 μm
<i>Pseudanthobothridium hanseni</i>	195-600 **	

*(Keeney, Campbell, 2001)

** (Randhawa, Saunders, Burt, 2007)

Vlastní tabulka, 2017

Tabulka č. 6 Determinace druhů dle počtu dutin na bothridiu

Druh tasemnice	Počet dutin na bothridiu	Průměr naměřených hodnot
<i>Echeneibothridium canadiens</i>	12 *	<8
<i>Echeneibothridium dubium abyssorum</i>	10 *	
<i>Echeneibothridium variabile</i>	8 *	

*(Beneden, 1850)

Vlastní tabulka, 2017

Rodová determinace spočívala v celkovém vzhledu tasemnic. K druhové determinaci pak posloužily morfologické detaily a morfometrické údaje (tab. 5) a (tab.6). Srovnáním s literárními údaji vyplývá, že námi nalezené tasemnice náležejí k druhům: *Grillotia dollfusi*, *Pseudanthobothridium purtoni* a *Echeneibothridium variabile*.

2.15 Diskuse

Životní cykly mořských tasemnic, zejména ze žraloků a rejnoků jsou málo známé. Výsledky jsem porovnávala s literárními údaji a charakterizovala společenstvo tasemnic. Vyšetřovaným materiálem byly izolované vzorky ze střev rejnoků *Amblyraja radiata* za Svalbardu. Rejnok *Amblyraja radiata* hostí mnoho parazitů včetně tasemnic: *Echeneibothrium canadensis* Keeling a Burt, 1996 (Burt, 2007); *Grillotia brayi* Beveridge a Campbell, 2007 (Beveridge and Campbell, 2007); *Pseudanthobothrium hanseni* Baer, 1956 (Randhawa, Saunders, Burt, 2007).

V dovezených materiálech byly nalezeny 3 rody. Podlé známé morfologie byly námi zařazeny do těchto 3 rodů: *Pseudanthobothrium*, *Grillotia*, *Echeneibothrium*. U *Pseudanthobothrium* jsem se rozhodovala mezi *Pseudanthobothridium hanseni* a *Pseudanthobothridium purtoni*. *Pseudanthobothridium hanseni* poprvé popsán roku 1956 Baerem (Baer,1956). Dále byl popsán Randhawem, Saundersem. Burtem, Scottem, roku 2007 (Randhawa, Saunders, Burt, 2007). V roce 1966 Williams zpochybnil Baere, kvůli hostitelské specifitě tetraphyllidních tasemnic. Další výzkum (Heller a Myers, 1959).

Threlfall (1969) potvrdili existenci *P. hanseni* Baer, získaná z *Amblyraja radiata*. Bohužel jejich zprávy nebyly doprovázeny popisky nebo výkresy. Prvním uznaným druhem byl *P. hanseni*. Jejich identifikace byla založena na dospělých jedincích. *P. purtoni* byl pro vědu nový druh. Identifikace tohoto druhu se opírá na rozdílech v apolýze, maximální šířce, strobile, délce cirrového vaku a počtu varlat. *P. purtoni* je převážně parazitem v rejnokovi *Leucoraja ocellata* (Myers,1959). Existují několik

záznamů o tetraphyllidních tasemnicích infikujících, více hostitelů tudíž je možné, že parazitovala i ve střevech rejnoka *A. radiata* (Achmidt, 1986).

Rod *Grillotia* byl poprvé popsán roku 1858 van Benedenem. Je to nejčastější rod mořských tasemnic. *Grillotia* je nejčastěji popisovaná z rejnoka *A. radiata* ze severního Atlantiku ve Středozemním moři.

U *Grillotia* jsem se rozhodovala mezi *Grillotia brayi* a *G. dollfusi*. *G. brayi* poprvé popsal Beveridge a Campbell v roce 2007. V roce 1971 byl poprvé popsán *G. dollfusi* Carvajalem. V roce 1942 Dollfus určil nepřítomnost semenných váčků u *G. dollfusi* na rozdíl od *G. brayi* kde jsou přítomny. Druhým hlavním rozdílem je retraktorový sval. Pintner (1931) a Dollfus (1942) popsali místo retraktorového svalu. Nachází se v blízkosti zadního *bulbu*. U *G. dollfusi* nemohlo místo retraktorového svalu být s jistotou identifikováno. Bohužel všechny existující vzorky jsou příliš tlusté, proto nemohou být snadno zkoumány pod velkým zvětšením. *G. brayi* se liší tím, že nemá specializované háčky na základně chapadla.

Rod *Echeneibothridium*, byl poprvé popsán roku 1850 van Benedenem. Určil 18 druhů, které parazitují v rejnoků *Amblyraja radiata*. *Echeneibothridium* je velmi variabilní rod, který se do značné míry špatně klasifikuje (van Beneden, 1850). Rudolphi roku 1819 popsal *Bothriocephalus tumidulus* ze stejného hostitele *A. radiata*. Tento rod má 4 bothridia nesené na dlouhých stopkách, které jsou extrémně proměnlivé. Ty mají pravidelný záhyb po celém rozsahu orgánu, který připomíná lamely na skolexu (Rudolphi, 1819). Rudolphi (1819) popsal *Bothriocephalus tumidulus*, Leuckart (1819) *B. echeneis*, Diesing (1863) *Tetrabothrius sphaerocephalum*, Linton (1890) *Rhinebothrium*, Shipley a Hornell (1906) *Tiarobothrium* a Baer (1918) *Caulobothrium* z nichž jsou všechny pravděpodobně synonymem *Echeneibothrium* (Leuckart, 1819; Diesing, 1863; Linton, 1890; Shipley and Hornell, 1906). V roce 1948 Baer poprvé popsal rod *Rhinebothrium*, který je odlišný od *Echeneibothridium* (Baer, 1948). Rozděluje jej na tři rody *Echeneibothridium*, *Rhinebothrium* a *Caulobothrium*.

U *Echeneibothridium* jako jediného je vždy přítomen myzorhynchus. Roku 1871 van Beneden popsal *Discobothrium fallax*. Southwell to považoval za zajímavé spojení mezi Tetracystida a Cyclophyllidea. V roce 1930 Beneden začal považovat *Discobothrium fallax* a *Echeneibothrium* za odlišné. Roku 1934 Yamaguti popsal rod *Discobothrium*, který zahrnuje druh *D. japonicum* (Yamaguti, 1934). Joyex a Baer udávají nepřítomnost bothridia jako jeden ze znaků *Cephalobothriidae*. McLeod roku 1952 uvádí *fallax* jako odlišný druh rodu *Echeneibothrium* (Joyex and Baer, 1936). U *Echeneibothrium* jsme se rozhodovali mezi *E. dubium abyssorum*, *E. variabile*, *E. canadensis*

Echeneibothrium dubium abyssorum – Van Beneden 1858 poprvé popsal znaky, kterými se *E. dubium* liší od *E. minimum* a *E. variabile*. 1) *E. dubium* nese bothridia na dlouhých stopkách 60-80 μm . 2) Mezorhynchus je štíhlý. 3) Cirrový vak se liší od *E. minimum* a *E. variabile*. Oba mají přibližně stejnou délku. Roku 1925 Southwell popsal *E. dubium* a *E. minimum* jako synonymum. Rozdíly poukazují na správné oddělení těchto dvou druhů *E. dubium* a *E. minimum*.

Echeneibothrium variabile – poprvé popsán Benedenem 1850. Podle Benedena strobila dosahuje délky 100 mm. Má nejméně 100 segmentů. Beauchamp udává délku 25-30 mm a má mnohem méně segmentů. Joyeux a Baer udávají počet varlat 20-27. Ale v publikaci Benedena 1850 je pouze 16 varlat. Podle Lintona je na stopkách 8 dutin, Benedens udává 20 dutin. Přiklonili jsme se spíše k novější literatuře a udáváme hodnoty od Beauchampa, Joyeux a Baera, Lintona.

Echeneibothrium canadensis – poprvé popsal Donovan 1808. Je nejvíce podobný *E. variabile*.

3 Závěr

Na základě morfologických a morfometrických znaků byly determinovány následující druhy:

- 1) Rod *Pseudanthobothrium* jsme pomocí skenovací elektronové mikroskopie mohli porovnat povrch, který se nám shodoval s *P. purtoni*. Potvrdili jsme si to ještě počtem varlat v jedné proglotidě, které jsme získali ze vzorku barvený karmínem a též i celkovou šířkou proglotidy měřené při mikroskopickém zvětšení 10x.
- 2) Rod *Grillotia* byl identifikován pomocí SEM metody, kde lze spočítat počet háčků v jedné řadě na jednom chapadle. Počet háčků 13 je stejný jako u *G. dollfusi*. V identifikaci nám pomohl i vzorek barvený karmínem. *G. dollfusi* se mi též potvrdila po měření vzorku v mikroskopu, kde je šířka proglotidy 365 μ m při zvětšení 10x.
- 3) Rod *Echeneibothrium* jsem identifikovala podle morfologických znaků: velikosti stopek a počtu dutin na bothridiu. Jako první jsme vyloučili *E. canadiens*, která má 12 dutin. Jako druhou jsme vyloučili *E. dubium abyssorum*, která má 10 dutin. Jde tedy o *E. variabile*.

4 Seznam tabulek a obrázků

Tabulka č. 1 vyšetřovaný materiál	23
Tabulka č. 2 Srovnání <i>Pseudanthobothrium purtoni</i> a <i>P. hansenii</i>	32
Tabulka č. 3 Srovnávání <i>Grillotia brayi</i> s <i>G. dollfusi</i>	38
Tabulka č. 4 Srovnání <i>Echeneibothrium dubium abyssorum</i> , <i>E. variabile</i> a <i>E. canadensis</i>	49
Tabulka č. 5 Determinace druhů pomocí šířky proglotid	50
Tabulka č. 6 Determinace druhů dle počtu dutin na bothridiu	50
Obrázek č. 1 Mapa Svalbardu	12
Obrázek č. 2 Rejnok <i>Amblyraja radiata</i>	17
Obrázek č. 3 <i>Grillotia brayi</i> 40. Scolex. 41 Hermafroditický vak s vaginou. 42 Segment. 43 Bulbus. 44 Gravidní segment	30
Obrázek č. 4 <i>Pseudanthobothrium purtoni</i> . – scolex se štěrbinami do tvaru misy, horizontální průřez, kde jsou vajíčka, proglotidy	33
Obrázek č. 5 <i>Pseudanthobothrium hansenii</i> – 5 scolex, 6, 7, 8, 9, 10 povrch článku pokrytý filitrichami	35
Obrázek č. 6 <i>Pseudanthobothrium purtoni</i> – 14, 15 scolex, 16, 17, 18, 19 povrch článku pokrytý filitrichami	36
Obrázek č. 7 Barvení karmínem. Varlata v proglotidě, háky s detailem na háčky	37

Obrázek č. 8 <i>Grillotia dollfusi</i> - scolex s háky, povrch článku, detail háku s háčky, proglotidy.....	39
Obrázek č. 9 <i>Grillotia dollfusi</i> - scolex s háky, povrch článku.....	42
Obrázek č. 10 <i>Grillotia</i> barvení karmínem - scolex s háky	43
Obrázek č. 11 <i>Grillotia brayi</i> - háčky	43
Obrázek č. 12 <i>Grillotia dollfusi</i> – háčky.....	44
Obrázek č. 13 <i>E. dubium abyssorum</i> - scolex se 4 bothridiemi.....	45
Obrázek č. 14 <i>Echeneibothrium variable</i> : Scolex, proglottida	46
Obrázek č. 15 <i>Echeneibothrium variable</i> - scolex, scolex se strobilou, proglotidy.....	47

5 Seznam použité literatury

1. BAER, J. G., 1948. *Contributions a l'étude des cestodes de selaciens*. 71. 122-63.
2. BEVERIDGE, I., CAMPBELL, R. A., 2007. Revision of the *Grillotia erinaceus* (van Beneden, 1858) species complex (Cestoda: Trypanorhyncha), with the description of *G. brayi* n. sp. *Systematic Parasitology*, 68 (1): 31–1. doi: 10.1007/s11230-006-9082-2.
3. BEVERIDGE, I., CAMPBELL, R. A., 2007. Revision of the *Grillotia erinaceus* (van Beneden, 1858) species complex (Cestoda: Trypanorhyncha), with the description of *G. brayi* n. sp. *Systematic Parasitology* [online]. 68(1), 1-31 [cit. 2017-04-06]. doi: 10.1007/s11230-006-9082-2. ISSN 0165-5752. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/s11230-006-9082-2>
4. BROOKS, M. A., MAYES, T., THORSON, B., 1981. *Systematic review of cestodes infecting freshwater stingrays*. Proceedings of the Helminthological Society of Washington 48: 64-43. doi: 10.1023/B:SYPA.0000032933.71645.1e.
5. BURT, M. D. B., RANDHAWA, H. S., SAUNDERS, G. W., 2007. *Establishment of the onset of host specificity in four phyllobothriid tapeworm species (Cestoda: Tetracanthidae) using a molecular approach*. [online]. Cambridge University Press. [cit. 2017-05-06]. Dostupné z: <http://www.otago.ac.nz/botany/otago058918.pdf>
6. CAIRA, J. N., JENSEN, K., HEALY, C. J., 1999. On the phylogenetic relationships among tetracanthidean, lecanicephalidean and diphyllidean tapeworm genera. *Systematic Parasitology* [online], 42(2), 77-151 [cit. 2017-04-06]. doi: 10.1023/A:1006192603349. ISSN 0165-5752. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1023/A:1006192603349>

7. CAIRA, J. N., MARGUES, F. P. L., IVANOV, V., 2014. Phylogenetic analysis and reconfiguration of genera in the cestode order Diphyllidea, International. *Journal for Parasitology*. p. 621-639. PMID: 23603519. doi: 10.1016/j.ipara.2013.03.001.
8. CAMPBELL, R. A., BEVERIDGE, I. 2006. Three new genera and seven new species of trypanorhynch cestodes (family Eutetrarhynchidae) from manta rays, *Mobula* spp. (Mobulidae) from the Gulf of California, Mexico. *Folia Parasitologica* [online]. **53**(4), 255-275 [cit. 2017-04-06]. doi: 10.14411/fp.2006.033. ISSN 00155683. Dostupné z: <http://folia.paru.cas.cz/doi/10.14411/fp.2006.033.html>
9. *Conservation of Arctic Flora and fauna (CAFF)*, 2013. Arctic biodiversity Assessment: report for Policy Makers. CAFF, Akureyri, Iceland. 674 p. ISBN 978-9935-431-22-6.
10. CONWAY, W. M., 1906. *No Man's Land: A History of Spitsbergen from Its Discovery in 1596 to the Beginning of the Scientific Exploration of the Country*. Cambridge University Press, Cambridge. U.K. 377 p. ISBN 10: 1298986842.
11. ČECH, S., 1998. *Histologická praktika a metody vyšetřování tkání a orgánů*. Brno: Masarykova univerzita. 162 s. ISBN 80-210-1774-0.
12. DIESING, M., 1863. *Revision der Cephalocotyleen. Paramecocotyleen*. 48(1), 345-200.
13. EBERT, D. E., BIZZARO J. J., 2007. Standardized diet compositions and trophic levels of skates (Chondrichthyes: Rajiformes: Rajoidei). *Environmental Biology fish*. 80, 237-22. doi: 0.1007/s10641-007-9227-4.

14. FØRLAND, E. J., HANSEN-BAUER, I., NODLI, Ø., 1997. Climate statistics and long term series of temperature and precipitation at Svalbard and Jan Mayen. Report 21/97. *Norwegian meteorological institute, Oslo, Norway*, 21 p.
15. GULLIKSEN, B., SENSEN, E., 2004. *Svalbard and Life in Polar Ocean*. Kristiansund N: Kom forlag a/s. 160 P. ISBN 82-92496-03-3.
16. GULLIKSEN, B., SVENSEN, E., 2004. *Svalbard and Life in Polar Ocean*. Kristiansund N: Kom forlag a/s. 160 p. ISBN 82 92496 03 3
17. HEALY, C. J., 2006a. Three New Species of Rhinebothrium (Cestoda: Tetraphyllidea) from the Freshwater Whipray, *Himantura chaophraya*, in Malaysian Borneo. *Journal of Parasitology*. 92, 374-364. doi: 10.1645/GE-560R.1.
18. HEALY, C. J., CAIRA, J. N., JENSEN, K., WEBSTER, B. L., LITTLEWOOD, D. T. J., 2009. Proposal for a new tapeworm order, Rhinebothriidea. *International Journal for Parasitology* [online]. 39(4), 497-511 [cit. 2017-04-06]. doi: 10.1016/j.ijpara.2008.09.002. ISSN 00207519. Dostupné z: <http://linkinghub.elsevier.com/retrieve/pii/S0020751908003743>
19. CHEVOLOT, M., WOLFS, P. H. J., PÁLSSON, J., RIJNSDORP, A. D., STAM, W. T., OLSEN, J. T., 2007. Population structure and historical demography of the thorny skate (*Amblyraja radiata*, Rajidae) in the North Atlantic. *Marine Biology*. 151, 1286-1275. doi: 0.1007/s00227-006-0556-1.
20. JOYEUX, C., BAER, J. G., 1936. *Cestodes. Faune de France*. 30, 613-1.

21. KEENEY, D. B., CAMPBELL, R. A., 2001. *Grillotia borealis* sp. n. (Cestoda: Trypanorhyncha) from five species of *Bathyraja* (Rajiformes. *Folia Parasitologica* [online]. 48(1), 21-29 [cit. 2017-04-09]. doi: 10.14411/fp.2001.005. ISSN 00155683. Dostupné z: <http://folia.paru.cas.cz/doi/10.14411/fp.2001.005.html>
22. KOVACS, K. M., LYDERSEN, C., 2006. *Birds and mammals of Svalbard*. Norwegian Polar Institut, Fram Centre, Tromsø, Norway. 203 p. ISBN 8276662315.
23. KUČHTA, R., CAIRA, J. N., 2010. Three new species of *Echinobothrium* (Cestoda: Diphyllidea) from Indo-Pacific stingrays of the genus *Pastinachus* (Rajiformes. *Folia Parasitologica* [online]. 57(3), 185-196 [cit. 2017-04-06]. doi: 10.14411/fp.2010.025. ISSN 00155683. Dostupné z: <http://folia.paru.cas.cz/doi/10.14411/fp.2010.025.html>
24. LEUCKART, F. S., 1819. *Das genus Bothriocephalus Rud.* Zoologische Bruchstücke. 1, 70 p.
25. LIESTØL, O., 1980. *Permafrost conditions in Spitsbergen*. Frost i Jord 21: p. 28-23.
26. LINGHAMMAR, A., 2014. Identification Guide for Skates (Chondrychthies; Rajiformes) in Norwegian waters, for both sexes and all stadiums. *Identification Guide for Skates in Norwegian Waters*. 8, 8-3.
27. LINTONG, E., 1889. *Notes on Entozoa of marine fishes of Neie England*. 14, 511-453.

28. LYDERSEN, C., STEHEN, H., ALSOS, I. G., 2010. *Svalbard. In: J.A. Kålås, Å. Viken, S. Henriksen and S. Skjølseth (Eds.), Environmental conditions and impacts for red list species.* Norwegian Biodiversity Information Centre, Trondheim. p. 134-119. ISBN 978-82-92838-28-0.
29. MAYES, M. A., BROOKS, D. R., THORSON, T. B., 1981. Two New Tetraphyllidean Cestodes from *Potamotrygon circularis* Garman (Chondrichthyes: Potamotrygonidae) in the Itacnai River, Brazil. *Proceeding of the Helminthological Society of Washington*. [online]. 48(1), 42-38. [cit. 2017-04-06]. Dostupné z: <http://digitalcommons.unl.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1657&context=parasitologyfacpubs>
30. *Norwegian Polar Institute*, 2017. [online]. NPOLAR. [cit. 2017-02-15] Dostupné z: <http://www.npolar.no/en/services/maps/>
31. PALM, H. W., 2004. *The Trypanorhyncha Diesing, 1863*. Bogor: PKSPL-IPB Press. 710 p. ISBN 9799336392.
32. PALM, H., W., 2004. *The Trypanorhyncha Diesing, 1863*. Bogor: PKSPL-IPB Press. 710 p. ISBN 9799336392.
33. PROBERT, A. J., STOBART, B., 1989. *Echinobothrium clavatum* n. sp. (Cestoda, Diphyllidea) from the spiral valve of *Raja clavata* L., 1758, including a note on its ultrastructure and a key to species of the genus. *Systematic Parasitology* [online]. 13(1), 71-77 [cit. 2017-04-06]. doi: 10.1007/BF00006952. ISSN 0165-5752. Dostupné z: <http://link.springer.com/10.1007/BF00006952>

34. RANDHAWA, H. S., 2012. Numerical and functional responses of intestinal helminths in three rajid skates: evidence for competition between parasites? *Parasitology*. 139(13): 1793–1784. doi: 10.1017/S0031182012001035.
35. RANDHAWA, H. S., BURT, M. D. B., 2008. Determinants of Host Specificity and Comments on Attachment Site Specificity of Tetraphyllidean Cestodes Infecting Rajid Skates from the Northwest Atlantic. *Journal of Parasitology*. 94(2), 461-436. doi: 10.1645/GE-1180.1.
36. RANDHAWA, H.S., SAUNDERS, G.W., BURT, M. D., 2007. Establishment of the onset of host specificity in four phyllobothriid tapeworm species (Cestoda: Tetraphyllidea) using a molecular approach. *Parasitology*. 134: 1300–1291. doi: 10.1017/S0031182007002521.
37. REYDA, F. B., 2008. Intestinal Helminths of Freshwater Stingrays in Southeastern Peru, and a New Genus and Two New Species of Cestode. *Journal of Parasitology* [online]. 94(3), 684-699 [cit. 2017-04-06]. doi: 10.1645/GE-1230.1. ISSN 0022-3395. Dostupné z: <http://www.bioone.org/doi/abs/10.1645/GE-1230.1>
38. Rodinná encyklopedie zdraví-peter abrahams, 2005. 1.české vydání. Ottovo nakladatelství, s.r.o. 256 s. ISBN 80-7360-296-2.
39. RUDOPHLI, K. A., 1819. *Entozoorum synopsis cui accedunt mantisa duplex et indices locupletissimi*. Berlin. 811 p.
40. RYŠAVÝ, B., 1989. *Základy parazitologie*. Praha: Státní pedagogické nakladatelství. Učebnice pro vysoké školy (Státní pedagogické nakladatelství). 215 s. ISBN 80-04-20864-9.

41. SMITH, T., SANDERS, M., 2011. The Northwest Atlantic Distinct Population Segment (DPS) of the Thorny Skate (*Amblyraja radiata*) as an Endangered or Threatened Species or, Alternatively, to List the United States DPS of the Thorny Skate as an Endangered Species UNDER THE U.S. ENDANGERED SPECIES ACT. *Animal Welfare Institute*. [online]. 202, 20-1. [cit. 2017-03-09]. Dostupné z: http://www.fisheries.noaa.gov/pr/species/petitions/thorny_skate_nw_atlantic_petition2011.pdf
42. SOUTHWELL, T., 1911. A description of nine new species of cestode parasites, including two new genera from marine fishes of Ceylon. *Ceylon Marine Biological Reports*. 1 (5), 225-216.
43. SULOWSKI, J. A., KNEEBONE, J., ELZEY, S., JUREK, J., DANLEY, P. D., HOWELL, W. H., TSANG, C. W., TSANG, P., 2005. The reproductive cycle of the thorny skate (*Amblyraja radiata*) in the western Gulf of Maine. *Biological Sciences Scholarship*. [online]. 103, 543-536. [cit. 2017-03-14]. Dostupné z: http://scholars.unh.edu/cgi/viewcontent.cgi?article=1004&context=biosci_facpub
44. VAN BENEDEN, P. J., 1850. *Recherches sur la faune littérale de Belgique, les vers cestodes*. 15, 199-1.
45. VOLF, P., HORÁK, P., 2007. *Paraziti a jejich biologie*. Praha: Triton. 318 s. ISBN 978-80-7387-008-9.
46. YAMAGUTI, S., 1934. Studies on the helminth fauna of Japan, pt.4, Cestodes of fishes. *Japan Journ. Zool.* 6, 112-1.

6 Seznam použitých zkratk

HCl	Kyselina chlorovodíková
TEM	Transmisní elektronová mikroskopie
SEM	Skenovací elektronová mikroskopie
NaCl	Chlorid sodný
CH ₃ OH	Ethanol