

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Přírodovědecká fakulta

**Diverzita a evoluce myxozoi v ancestrálních hostitelích:
retrospektivní pohled do evoluce žahavců**

Bakalářská práce
Kateřina Boubelová

Školitel: RNDr. Pavla Sojková, Ph.D.
Školitel – specialista, konzultant: Mgr. Martina Lisnerová

České Budějovice 2021

Bouberlová, K., 2021: Diverzita a evoluce myxozoí v ancestrálních hostitelích: retrospektivní pohled do evoluce žahavců. [Diversity and evolution of the Myxozoa in ancestral hosts: A retrospective look at the evolution of cnidarians. Bc. Thesis, in Czech.] – 68 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace

Diversity and phylogeny of myxozoan parasites was studied in lampreys, elasmobranchs, bichirs, eels and sturgeons, the evolutionary ancient vertebrate lineages that most likely represent the ancestral hosts of the Myxozoa. The vertebrate samples were investigated using the light microscopy and myxozoan-specific PCR screening. The morphology and phylogenetic relationships of newly found myxozoans were compared with existing species.

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracovala pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

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, archivované Přírodovědeckou fakultou elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne

Kateřina Bouberlová

Poděkování

Ráda bych zde poděkovala své školitelce RNDr. Pavle Sojkové, Ph.D. a své školitelce – specialiste Mgr. Martině Lisnerové za odborné vedení, pevné nervy, trpělivost, cenné rady, věcné připomínky, přátelský přístup a celkové vedení této práce. Dále bych chtěla poděkovat RNDr. Ivanu Fialovi, Ph.D., Inze Nicole Martinek, Ph.D. a všem členům Laboratoře rybí protistologie Parazitologického ústavu, BC AV ČR za vlídné prostředí, přátelský přístup, cenné rady a pomoc v laboratoři. Kromě členů naší laboratoře patří poděkování za poskytnutí vzorků rovněž RNDr. Petru Blabolilovi, Ph.D., prof. Marii Letizii Fioravanti a MSc. Bjoernu Schaeffnerovi, Ph.D. Velký dík patří i mým rodičům za umožnění studia a podporu při studiu.

Tato práce byla financována interním grantem Studentské grantové agentury na PřF JU v Českých Budějovicích (č. SGA2020/11) a ze zdrojů Laboratoře rybí protistologie na Parazitologickém ústavu BC AV ČR (grant Grantové agentury České republiky č. 19-28399X).

Obsah

1. Úvod	1
1.1. Základní charakteristika, původ a historie objevování skupiny	1
1.2. Druhá diverzita, klasifikace a taxonomie	2
1.3. Životní cyklus	3
1.4. Evoluce myxozoi	4
1.5. Charakteristika ancestrálních skupin obratlovčích hostitelů myxozoi	6
1.5.1. Bezčelistnatci (Agnatha)	6
1.5.2. Paryby (Chondrichthyes)	7
1.5.3. Mnohoploutví (Polypteriformes)	8
1.5.4. Jeseteři (Acipenseriformes)	8
1.5.5. Elopomorpha	8
1.6. Diverzita myxozoi u ancestrálních hostitelů	9
1.7. Fylogenetické vztahy uvnitř myxozoi a jejich linie ve starobylých hostitelích	15
2. Cíle práce	19
3. Hypotézy	19
4. Materiál a metodika	19
4.1. Původ vzorků	19
4.2. Pitva obratlovců a mikroskopické vyšetření vzorků	23
4.3. Izolace DNA	24
4.4. Polymerázová řetězová reakce (PCR)	24
4.5. Gelová elektroforéza, izolace PCR produktů, sekvenování	25
4.6. Úprava a zpracování sekvencí	26
4.7. Fylogenetické analýzy	26
4.8. Výpočet prevalence	26
5. Výsledky	27
5.1. Nálezy a prevalence myxozoi u vyšetřovaných obratlovců	27
5.2. Umístění nově nalezených druhů ve fylogenetických stromech	28
5.3. Detailní informace o nalezených druzích	32
6. Diskuze	40
7. Souhrn výsledků	44
8. Závěr	44
9. Seznam použité literatury	45
10. Přílohy	58

1. Úvod

1.1. Základní charakteristika, původ a historie objevování skupiny

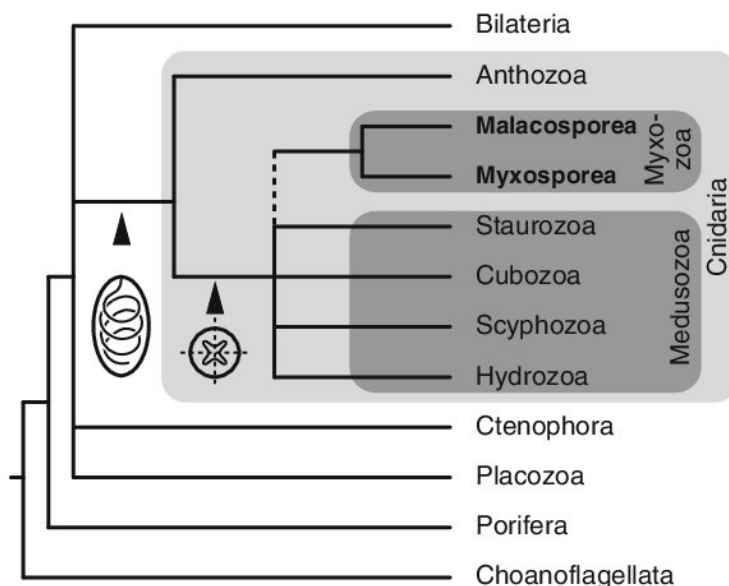
Myxozoa Grassé, 1970 (česky rybomorky) jsou mikroskopičtí endoparazitičtí žahavci s komplexním životním cyklem. Parazitují u širokého spektra převážně akvatických obratlovců i bezobratlých (Okamura a kol. 2015a). V hostitelích obývají tělní dutiny a dutiny orgánů (coelozoické druhy) nebo jejich tkáně (histozoické druhy) (Lom a Dyková 2006). Některé druhy myxozoi jsou hostitelsky specifické, jiné infikují široké spektrum hostitelů (Okamura a kol. 2015a).

Většina druhů myxozoi svým hostitelům neškodí (Okamura a kol. 2015a). Existují ale i takové druhy, které svým hostitelům mohou způsobit závažná onemocnění, a tím pádem mohou mít výrazné ekonomické dopady na rybolov a akvakulturu. Například *Tetracapsuloides bryosalmonae* Canning, Curry, Feist, Longshaw a Okamura, 1998 (rybomorka pstruží) způsobuje proliferativní onemocnění ledvin u lososovitých ryb (Canning a kol. 1998). *Myxobolus cerebralis* Hofer, 1903 způsobuje tzv. vrtohlavost pstruhů projevující se zánětem hlavové chrupavky, abnormálním plaváním, zčernáním ocasu a následným úhynem (Markiw 1991). *Sphaerospora molnari* Lom, Dyková, Pavlásková a Grupcheva, 1983 zapříčiňuje u plůdku kapra obecného *Cyprinus carpio* žaberní a kožní sférosporózu, hemolytickou anémii a přispívá k zánětu plynového měchýře (Molnár 1979, Lom a kol. 1983, Holzer a kol. 2014, Korytář a kol. 2019). I když vývoj terapeutik proti rybím patogenům postupuje velice rychle, v současné době neexistuje žádná účinná strategie proti myxozoiím u ryb určených pro lidskou konzumaci (Sommerset a kol. 2005, Sitjà-Bobadilla a kol. 2015).

Myxozoa byla objevena před zhruba 200 lety (Jurine 1825). Zprvu byla přiřazena k Sporozoa spolu s Microsporidia a Myxosporida (nyní Myxozoa) (Bütschli 1882). Po objevu znaků typických pro vícebuněčné živočichy se začalo uvažovat o jejich zařazení do Metazoa (Štolc 1899). K tomuto závěru došli i další vědci (Emery 1909, Ikeda 1912). Na příbuznost myxozoi s mnohobuněčnými živočichy, konkrétně se žahavci (Cnidaria), poukázal Weill (1938), který objevil u myxozoi podobné buňky (pólové váčky) jako jsou přítomny u žahavců (nematocyty). Ve své práci také poukázal na podobnost myxozoi s nezmarem jeseteřím *Polypodium hydriforme* Ussov, 1885, jehož larvální stadia parazitují v jikrách jeseterovitých (Acipenseriformes: Acipenseridae) a veslonosovitých (Acipenseriformes: Polyodontidae) ryb. Tento parazit se řadí do skupiny žahavců s příznačným českým názvem kaviárovky Polypodiozoa (Raikova 1990). Tyto poznatky byly později potvrzeny dalšími studiemi (Lom 1990, Siddall a kol. 1995). V roce 1970 byla Myxozoa klasifikována jako samostatný kmen v rámci Metazoa (Grassé 1970) a jejich status byl následně nezávisle potvrzen analýzami

založenými na genu pro malou ribozomální podjednotku (SSU rDNA neboli 18S rDNA) (Smothers a kol. 1994).

Autoři dalších studií v 90. letech 20. století (Sidall a kol. 1995, Schlegel a kol. 1996) pomocí molekulární analýzy ribozomálních dat potvrdili, že se skutečně jedná o druhotně zjednodušené mnohobuněčné živočichy, ovšem jejich pozice uvnitř metazoi byla dlouho nejasná. Pozdějšími studiemi založenými na proteinových jádrových a mitochondriálních markerech a následně datech získaných metodou sekvenování nové generace bylo potvrzeno, že Myxozoa jsou právoplatní zástupci žahavců (Jiménez-Guri a kol. 2007, Chang a kol. 2015, Okamura a kol. 2015a, Atkinson a kol. 2018, Kayal a kol. 2018). Molekulární analýzy potvrdily dřívější morfologická pozorování (Weill 1938), a to že nejpříbuznější živočišnou linií myxozoi jsou Polypodiozoa. Obě skupiny společně vytváří skupinu Endocnidozoa (Zrzavý a Hypša 2003, Chang a kol. 2015, Foox a Siddall 2015) v rámci podkmene Medusozoa, jenž zahrnuje druhy tvořící ve svém životním cyklu medúzové stadium (Obrázek 1).



Obrázek 1: Schematické znázornění fylogenetické pozice myxozoi uvnitř mnohobuněčných živočichů (Metazoa) (převzato z Okamura a kol. 2015b).

1.2. Druhová diverzita, klasifikace a taxonomie

Podkmen Myxozoa zahrnuje přibližně 2 600 popsáných druhů (Okamura a kol. 2018) a dělí se na dvě třídy Malacosporea Canning, Curry, Feist, Longshaw a Okamura, 2000 a Myxosporea Bütschli, 1881. Malacosporea je malá skupina s pěti popsánými druhy patřícími do dvou rodů *Buddenbrockia* Schröder, 1910 a *Tetracapsuloides* Canning, Tops, Curry, Wood a Okamura, 2002 (Naldoni a kol. 2019). Zástupci těchto druhů mají zachovalé primitivní

znaky jejich volně žijících žahavčích předků, např. zbytky svalové soustavy u červovitých vývojových stádií parazita (Gruhl a Okamura 2012).

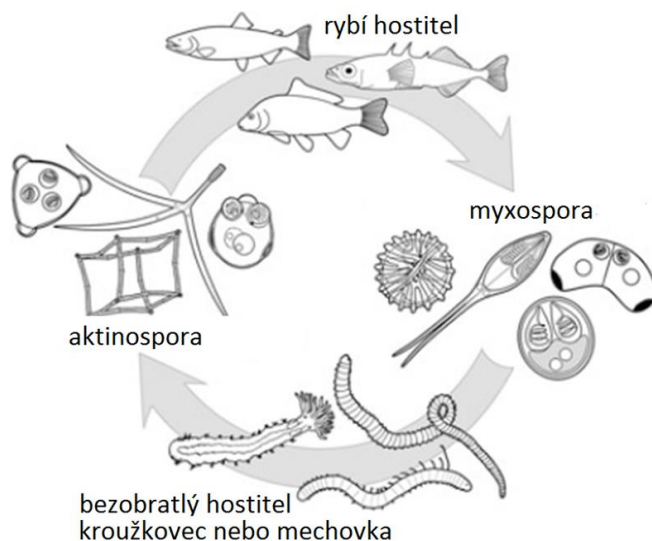
Dosud známí mezihostitelé popsaných druhů malakosporeí jsou kostnaté ryby a definitivní hostitele reprezentují sladkovodní mechovky. Ze třídy Myxosporea bylo dosud popsáno kolem 2600 druhů řadících se do 65 rodů (Fiala a kol. 2015b, Freeman a Kristmundsson 2018, Okamura a kol. 2018). Skutečná diverzita myxozoí je ale bezesporu mnohem vyšší (Bartošová-Sojková a kol. 2014, Hartikainen a kol. 2014, Okamura a kol. 2015a, Hartikainen a kol. 2016, Okamura a kol. 2018).

Klasifikace rybmorek je založena na morfologii spor a jejich vývojových stádií, preferenci hostitelské skupiny/druhu hostitele a tkáňové specifitě (Fiala a kol. 2015a). Každá spora se skládá ze dvou nebo víc chlopní, které jsou vzájemně spojeny suturální linií, a které v sobě uzavírají jeden nebo víc pólových váčků a jednu nebo několik sporoplasem. K odlišení řádů nebo podřádů myxozoí se používá informace o počtu chlopní, počtu pólových váčků a jejich uspořádání k rovině suturální linie a způsob stočení pólového vlákna. Další znaky týkající se tvaru spor a pólových váčků, výběžků spory, tvaru suturální linie, tkáňové a hostitelské specifity se používají na úrovni čeledí a rodů. K determinaci druhů se používají informace o rozměru spor/pólových váčků, počtu závitů pólového vlákna, povrchových rysech spor (výběžky, rýhy, žebra, vlákna, ocásky), druhu hostitele, geografickém rozšíření atd. Některé, tzv. kryptické druhy nejsou ovšem rozlišitelné pomocí morfologických a morfometrických znaků a lze je identifikovat pouze pomocí molekulárních metod (Lom a Dyková 2006, Fiala a kol. 2015b).

1.3. Životní cyklus

Myxozoa mají komplexní životní cyklus zahrnující dvě vývojové fáze. U myxosporeí, první tzv. myxosporeová fáze probíhá v mezihostiteli, kterým jsou obratlovci žijící ve vodě nebo v blízkosti vody. Nejčastěji se jedná o ryby, ale mohou být napadeny i jiné skupiny obratlovců (Hallett a kol. 2015). Druhá tzv. aktinosporeová fáze probíhá v definitivním bezobratlém hostiteli, kterým jsou kroužkovci. Při myxosporové fázi se na povrch hostitele pomocí vystřelených pólových vláken přichytí aktinospora, ze které se uvolní infekční zárodek (sporoplasma), jenž vniká do těla obratlovce a množí se (proliferuje). Dochází k vytvoření stádií typických pro Myxozoa – tzv. „buňka v buňce“, jejichž množением a následným sporogonickým vývojem v plasmodiích (vegetativní stadia) v cílovém orgánu/tkáni vznikají myxospory. Myxospory jsou vyloučeny z těla obratlovce a podobným mechanismem jako aktinospory napadají definitivního hostitele. Při aktinosporeové fázi navíc probíhá pohlavní rozmnožování (meióza), vytváří se aktinospora, která se po opuštění těla bezobratlého

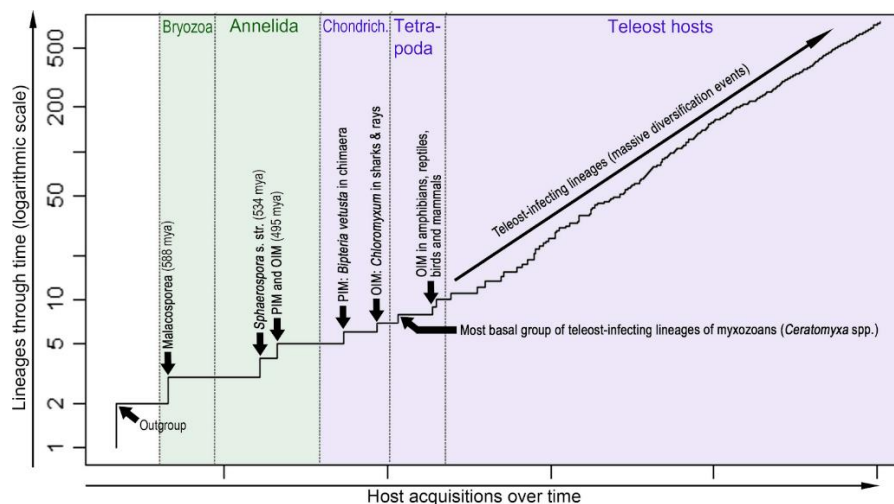
hostitele dostává do vnějšího prostředí. Po napadení obratlovce se životní cyklus znovu opakuje (Obrázek 2; Eszterbauer a kol. 2015). Životní cyklus malakosporeí je podobný tomu u myxosporeí, s tím rozdílem, že pohlavní rozmnožování probíhá v mechovkách, v jejichž tělní dutině dochází k tvorbě červovitých nebo vakovitých stádií, ve kterých vznikají malakospory infekční pro rybího meziphostitele. V něm, podobným mechanismem jako u myxosporeí, vznikají uvnitř plasmodií (vzhledem podobné těm u myxosporeí) rybí malakospory napadající mechovku (Obrázek 2; Eszterbauer a kol. 2015).



Obrázek 2: Schematické znázornění životních cyklů myxozoí (převzato a upraveno z Eszterbauer a kol. 2015).

1.4. Evoluce myxozoí

Myxozoa jsou evolučně starobylá skupina parazitů, která reprezentuje vůbec nejstarší parazitické živočichy (Animalia). Tato skupina parazitů se oddělila od jejich volně žijících žahavcích předků někdy na konci kryogenika (651 milionů let). Poslední společný předek myxozoí se datuje do období ediakary (588 milionů let), kdy se oddělila Malacosporea parazitující v mechovkách a Myxosporea pravděpodobně parazitující v primitivních mnohoštětináčích (Haplodrili, Archiannelida). Mořské mechovky a primitivní mnohoštětináčci nejpravděpodobněji představují původní hostitelské skupiny myxozoí, přičemž sladkovodní mechovky, mnohoštětináčci a máloštětináčci reprezentují současné definitivní hostitele myxozoí. Obratlovci, konkrétně paryby (žraloci, rejnoci a chiméry), byli zahrnuti do komplexních životních cyklů myxozoí později jako sekundární hostitelé (Obrázek 3). Paryby pořád slouží jako současní hostitelé evolučně nejstarších skupin myxozoí (Kodádková a kol. 2015, Holzer a kol. 2018, Lisnerová a kol. 2020, Lisnerová a kol. v revizi). Po tom, co se na Zemi objevily kostnaté ryby, v současné době čítající přes 32 600 druhů (Musilová 2016a), se tito obratlovci stali cílovou hostitelskou skupinou myxozoí.



Obrázek 4: Diverzifikace myxozóí v různých hostitelských skupinách (převzato z Holzer a kol. 2018).

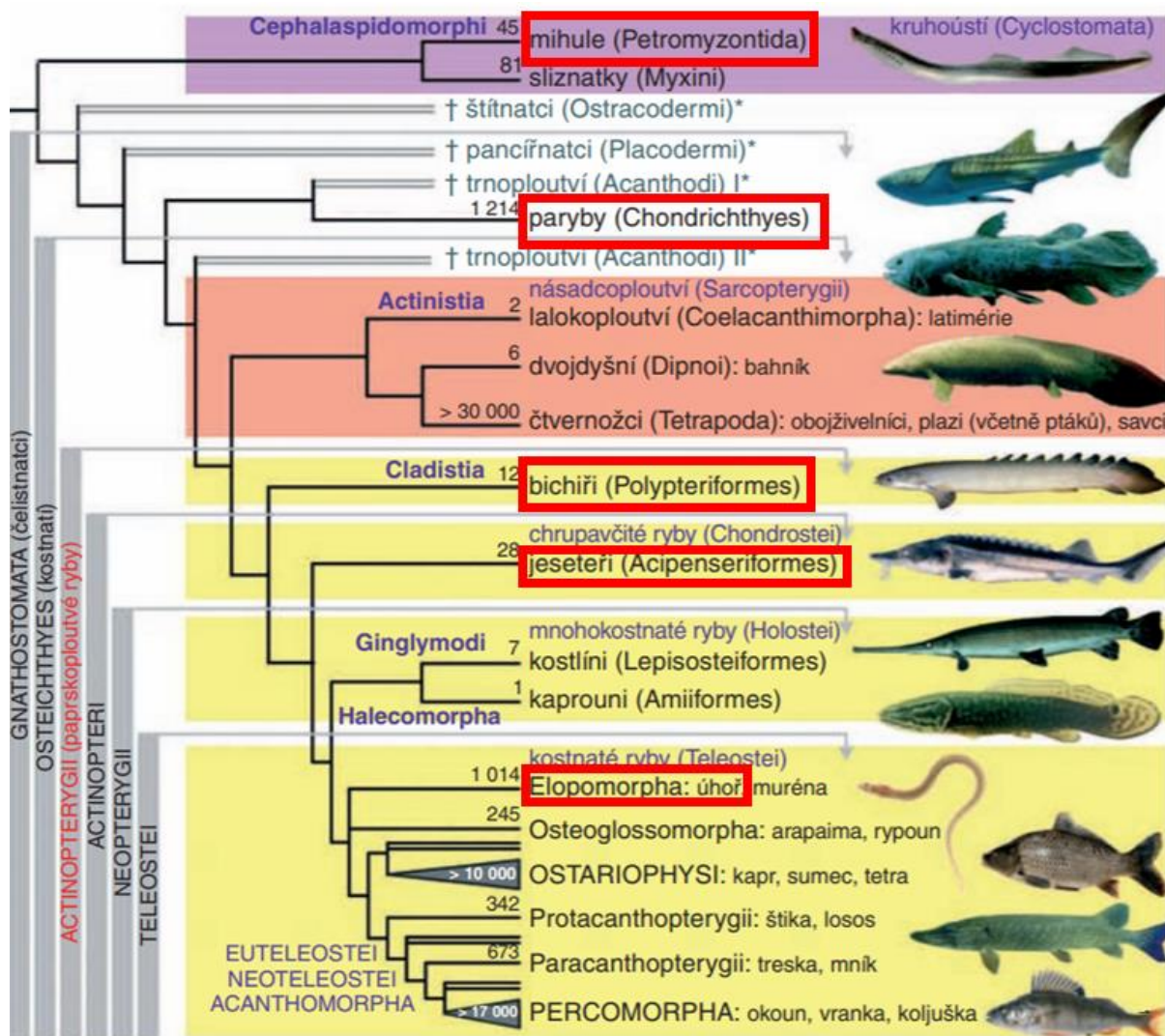
1.5. Charakteristika ancestrálních skupin obratlovčích hostitelů myxozóí

Současně žijící bazální linie obratlovců představují především bezčelistnatci (Agnatha) a paryby (Chondrichthyes). Bazální linie paprskoploutvých ryb (Actinopterygii) představují především mnohoploutví (Polypteriformes) zahrnující bichiry a bichirky, dále chrupavčité ryby (Chondrostei) zahrnující jesetery (Acipenseriformes), a mnohokostnaté ryby (Holostei). Elopomorpha reprezentují bazální linii kostnatých ryb a zahrnují úhoře (Anguilliformes) a tarpony (Elopiformes) (Obrázek 5; Betancur-R a kol. 2013, Musilová 2016a).

1.5.1. Bezčelistnatci (Agnatha)

Mihule (Petromyzontiformes) společně se sliznatkami (Myxini) tvoří dvě linie kruhoústých (Cyclostomata), jež představují jedinou skupinu současně žijících bezčelistnatců (Agnatha). Mají zásadní význam pro pochopení vývoje obratlovců, protože pravděpodobně zůstaly morfologicky konzervovány po dobu nejméně 360 milionů let. Všechny dnešní mihule mají složitý životní cyklus. Zahrnují dlouhověké období sladkovodních larev, po něm následuje metamorfóza do sexuálně nezralého jedince a následně do dospělého, který se dramaticky liší morfologií a ekologií od larvy (Evans a kol. 2018). Jsou rozšířeny na severní (35 druhů) a jižní polokouli (3 druhy), ale nevyskytují se v tropickém pásmu (Renaud 2011).

Sliznatky jsou hlubokomořští živočichové, kteří žijí po téměř celém světě (Fernholm 1998). Jsou známy pro svou velkou produkci slizu (Wisner 1999). Zahrnují 6 druhů. Oproti mihulím neprodělávají metamorfózu (Fernholm 1998).



Obrázek 5: Evoluce obratlovců s důrazem na bazální linie obratlovců a paprskoploutvých ryb (orámovány červeně) (převzato a upraveno z Musilová 2016b).

1.5.2. Paryby (Chondrichthyes)

Paryby zahrnují kolem 1200 druhů a člení se do dvou skupin: příčnoústí (Elasmobranchii) a chiméry (Holocephali). Mezi **chiméry** patří 49 hlubokomořských druhů obvykle se vyskytujících po celém světě, a to v mírných a tropických mořích v hloubkách více než 500 metrů (Stein a kol. 2018). **Příčnoústí** zahrnují 1143 druhů rejnoků (Rajomorphii) a žraloků (Selachimorpha) a dělí na tři nadřády: Batoidea (639 druhů), Galeomorphii (347 druhů) a Squalomorphii (157 druhů) (Stein a kol. 2018). Patří sem převážně mořští, vzácně sladkovodní, zástupci rozšíření po celém světě. Vznik skupiny se datuje zhruba do doby před 400 miliony lety poblíž devonsko-silurské hranice. Dnes je skupina reprezentována několika odvozenými liniemi pocházejícími hlavně z druhohor (Amaral a kol. 2018). Jedná se o živočichy obvykle s velkými rozměry těla. Největší dnes žijící paryba je žralok obrovský

Rhincodon typus Smith, 1828, jehož největší ulovený exemplář dosahoval délky až kolem 20 metrů a hmotnosti až 34 tun (Rowat a Brooks 2012).

1.5.3. Mnohoploutví (Polypteriformes)

Jedná se o jednu z nejbazálnějších skupin paprskoploutvých ryb, do které se řadí pouze jedna čeleď Polypteridae (bichirovití, obecně bichiři) zahrnující dva žijící rody: bichir *Polypterus* Lacépède, 1803 s 13 druhy a bichirek *Erpetoichthys* Smith, 1865 s jediným dosud popsáným druhem (Moritz a Britz 2019). K oddělení bichirů od zbytku paprskoploutvých ryb došlo před 298–436 miliony lety (Musilová 2016b). Nejčastěji se vyskytují v Africe (Moritz a Britz 2019) ve sladkovodních habitatech jako např. v rychle i pomalu tekoucích řekách, nivách, bažinách a jezerech. Bichiři jsou schopni přímo dýchat vzduch nad hladinou vody (Budgett 1900).

1.5.4. Jeseteři (Acipenseriformes)

Jeseteři se poprvé na Zemi objevili přibližně před 200 miliony lety a od té doby neprošli velkou morfologickou změnou (Krieger a Fuerst 2002). Dnes žijící jeseteři se dělí na dvě skupiny: Acipenseridae s 25 popsánými druhy a Polyodontidae s 2 popsánými druhy (Shen a kol. 2020). Mezi jesetery patří druhy vyskytující se na severní polokouli (Nelson 1984), které žijí výhradně ve sladké vodě, dále pak druhy žijící v brakické vodě a druhy střídající sladkovodní a mořské prostředí (Bemis a Kynard 1997).

1.5.5. Elopomorpha

Tato různorodá skupina reprezentuje bazální linii kostnatých ryb a zahrnuje mimo jiné řády holobříchých (Anguilliformes) a tarpony (Elopiformes). Holobřiši čítající 965 druhů (Musilová 2016a) se vyvinuli před 20 až 40 miliony lety (Righton a kol. 2012). Do jedné z čeledí v rámci holobříchých, Anguillidae, patří 16 druhů úhořů rodu *Anguilla* Schrank, 1798, kteří jsou rozšířeni v tropických a mírných vodách, kromě východního Pacifiku a jižního Atlantiku (Nelson 1994). **Úhoři** říční mají zajímavý životní cyklus, při němž tráví značnou část života ve sladkých vodách, ale ke tření dochází zpravidla v moři. Například úhoř říční *Anguilla anguilla* Linnaeus, 1758 je katadromní monocyklický druh, který migruje z řek do Sargasového moře, kde se tře a po vylíhnutí putuje k evropským břehům. Do vnitrozemských vod pronikají pouze samice, samci žijí celý život v brakických vodách v blízkosti ústí řek. Po dosáhnutí dospělosti se cyklus znovu opakuje (van Ginneken a Maes 2005).

Tarponi zahrnují dvě čeledi Megalopidae a Elopidae. Vyskytují se u pobřeží střední a severní části Jižní Ameriky, západního a východního pobřeží Afriky, ve Španělsku, u pobřeží jižní Asie, v Indonésii a u pobřeží severní a severovýchodní Austrálie (Sousa a kol. 2020). Mohou dýchat atmosférický vzduch pomocí plynového měchýře (Seymour a kol. 2008).

1.6. Diverzita myxozoi u ancestrálních hostitelů

Poznatky o diverzitě myxozoi u jejich ancestrálních hostitelů jsou útržkovité. Nejvíce dosavadních nálezů pochází z paryb. U přibližně 110 druhů paryb bylo popsáno přes 50 druhů myxosporeí, a to z rodů *Bipteria*, *Ceratomyxa*, *Ellipsomyxa*, *Chloromyxum*, *Kudoa*, *Myxidium*, *Parvicapsula*, *Sinuolinea* a *Sphaerospora* (shrnutí v Lisnerová a kol. 2020, Lisnerová a kol. v revizi; Tabulky 4 a 5). Myxozoa se u paryb vyskytují především ve žlučnicích (*Bipteria*, *Ceratomyxa*, *Ellipsomyxa*, *Chloromyxum*, *Myxidium*), v ledvinách (*Parvicapsula*, *Sinuolinea*, *Sphaerospora*) a méně často ve svalech (*Kudoa*). Nejčastěji se vyskytujícím rodem u příčnoústých (žraloci a rejnoci) je *Chloromyxum*, z něhož bylo dosud u této skupiny hostitelů popsáno 38 druhů (Eiras a kol. 2012, Lisnerová a kol. 2020), především ze skupin Rajiformes a Carcharhiniformes (Lisnerová a kol. 2020). Tyto nálezy druhů rodu *Chloromyxum* pochází především z pobřežních oblastí Atlantského oceánu (Argentina, Portugalsko, Mexický záliv, Jižní Karolína), Austrálie a Tasmánie (Lisnerová a kol. 2020). Druhým nejčastěji se vyskytujícím rodem u příčnoústých je *Ceratomyxa* se 17 druhy popsanými především ze skupiny Carcharhiniformes s nálezy okolo Austrálie (Velký bariérový útes) a pobřežních oblastech Argentiny, Severní Karolíny, Mexického zálivu a Skotska (Lisnerová a kol. 2020, Lisnerová a kol. v revizi). U chimér jsou známy pouze dva druhy, a to *Bipteria vetusta* Kodádková, Bartošová-Sojková, Holzer a Fiala, 2015 nalezena u *Chimaera monstrosa* Linnaeus, 1758 ze severovýchodního Atlantiku (Kodádková a kol. 2015) a *Ceratomyxa fisheri* Jameson, 1929 popsána z *Hydrolagus colliei* (Lay a Bennett, 1839) z Kalifornie (Jameson 1929). Z malakosporeí u paryb existuje jen jeden záznam, a to dosud nepopsaný druh rodu *Buddenbrockia* ze sladkovodního rejnoka *Potamotrygon motoro* (Müller a Henle, 1841). Tento druh Malacosporea byl navíc zaznamenán u šesti druhů paprskoploutvých ryb, rovněž z oblasti kolem řeky Amazonky (Naldoni a kol. 2020). Vzhledem k tomu, že u zkoumaného rejnoka byl nález *Buddenbrockia* sp. potvrzen jenom pomocí PCR a nebyla mikroskopicky pozorována žádná jeho vývojová stádia, není možné určit, jestli se jedná o jeho skutečného hostitele nebo jenom o náhodný záchyt vývojových stádií parazita, které se v daném hostiteli nevyvíjí.

Kruhoústí a bazální linie paprskoploutvých ryb rovněž představují z evolučního hlediska důležitou skupinu hostitelů rybamok (Holzer a kol. 2018), ale jako hostitelé myxozoí jsou prozkoumány jenom okrajově. Z mihulí existuje jenom jeden záznam blíže neurčeného druhu Myxosporea (Mori a kol. 2000; Tabulka 1), i když uvedený nález parazitických stádií v ledvinách mihule *Lethenteron camtschaticum* (Tilesius, 1811) spíše nápadně připomíná vývojová stadia malakosporeí (Canning a kol. 2007, Feist a kol. 2015). U sliznatek byly dosud zaznamenány tři druhy myxosporeí, a to všechny z rodu *Ceratomyxa* (Jameson 1929, Kondo a Yasumoto 2020, Tabulka 1). Z bazálních linií paprskoploutvých ryb, především z úhořů, bylo popsáno 47 druhů myxosporeí z rodů *Agarella*, *Ceratomyxa*, *Chloromyxum*, *Gastromyxum*, *Henneguya*, *Hoferellus*, *Monomyxum*, *Myxidium*, *Myxobolus*, *Ortholinea*, *Paramyxidium*, *Sphaerospora*, *Thelohanellus*, *Zschokkella* a několik dalších druhů (6) nalezených u těchto hostitelů zůstává dosud nepopsaných (Tabulka 1). Zajímavý je nález blíže neurčeného parazita z centrální nervové soustavy bichira *Polypterus endlicheri* Heckel, 1847 (Marquet a Sobel 1970), jehož vývojová stadia připomínají axonální stadia *Cystodiscus axonis* Hartigan, Fiala, Dyková, Rose, Phalen a Šlapeta, 2012 (Myxosporea) z míchy rosnice skokanovité *Ranoidea raniformis* (Keferstein, 1867) (Hartigan a kol. 2012). Na rozdíl od relativně početných záznamů myxosporeí, zástupci třídy Malacosporea nebyli u zástupců kruhoústých a v bazálních liniích paprskoploutvých ryb dosud nalezeni s výjimkou jejich pravděpodobného záchytu u *L. camtschaticum* (viz výše).

Myxozoa z ancestrálních skupin hostitelů mají zajímavou a unikátní morfologii. Např. druhy rodu *Chloromyxum* z paryb mají typicky na terminální konci spory dlouhé vláskovité výběžky, přičemž ostatní druhy tohoto rodu tyto výběžky nemají (Eiras a kol. 2012). Dalším významným znakem myxozoí z paryb je, že jejich spory jsou mnohem větší než spory většiny druhů myxozoí z paprskoploutvých ryb. Toto platí především pro druhy rodu *Ceratomyxa*. Jak ale bylo ukázáno, Myxozoa s velkými spory obývají nejen paryby ale i kostnaté ryby s velkými rozměry těla (Lisnerová a kol. v revizi).

Tabulka 1: Seznam druhů myxozoí zaznamenaných u kruhoústých a bazálních skupin paprskoploutvých ryb.

Myxozoa	Zařazení hostitele	Druh hostitele	Tkáň/orgán	Reference/GenBank
<i>Ceratomyxa californica</i> Jameson, 1929	Agnatha/ Cyclostomata/	<i>Eptatretus stoutii</i> (Lockington, 1878)	žlučník	Jameson (1929); Eiras (2006)
<i>Ceratomyxa galeata</i> Jameson, 1929	Myxini	<i>Eptatretus stoutii</i> (Lockington, 1878)	žlučník	Jameson (1929); Eiras (2006)

<i>Ceratomyxa</i> sp.		<i>Eptatretus burgeri</i> (Girard, 1855)	žlučník	Kondo a Yasumoto (2020)
Myxosporea sp.	Agnatha/ Cyclostomata/ Petromyzontifor mes	<i>Lethenteron camtschaticum</i> (Tilesius, 1811) (syn. <i>Lampetra japonica</i>)	ledviny	Mori a kol. (2000)
Pravděpodobně Myxosporea	Actinopterygii/ Polypteriformes	<i>Polypterus endlicheri</i> Heckel, 1847	centrální nervový systém	Marquet a Sobel (1970)
<i>Chloromyxum inexpectatum</i> Ferenc, 1990	Actinopterygii/ Acipenseriformes	<i>Acipenser ruthenus</i> Linnaeus, 1758	lumen močovodu a močového měchýře	Ferenc (1990); Eiras a kol. (2012)
<i>Sphaerospora colomani</i> Ferenc, 1990		<i>Acipenser ruthenus</i> Linnaeus, 1758	glomeruly ledvinových tělísek, lumen ledvinových kanálek	Ferenc (1990)
<i>Thelohanellus yiduensis</i> Hsieh a Chen, 1989		<i>Acipenser sinensis</i> Gray, 1835	žábry, kůže	Chen a Ma (1998); Zhang a kol. (2013)
<i>Zschokkella sturionis</i> Tripathi, 1948		<i>Acipenser sturio</i> Linnaeus, 1758; <i>Acipenser gueldenstaedtii</i> Brandt a Ratzeburg, 1833; <i>Acipenser stellatus</i> Pallas, 1771	žlučník	Bauer a kol. (2002); Matsche a kol. (2020)
<i>Gastromyxum bulani</i> Freeman a Kristmundsson, 2015		<i>Megalops cyprinoides</i> (Broussonet, 1782)	žlázy kardié ve stěně žaludku	Freeman a Kristmundsson (2015); GenBank: KT002405
<i>Gastromyxum rafii</i> Freeman a Kristmundsson, 2015	<i>Elops machnata</i> (Forsskål, 1775)	žlázy kardié ve stěně žaludku	Freeman a Kristmundsson (2015); GenBank: KT002406	
<i>Monomyxum incomptavermi</i> (Freeman a Shinn 2011) (syn. <i>Myxidium incomptavermi</i>)	Actinopterygii/ Elopomorpha/ Elopiformes	<i>Megalops cyprinoides</i> (Broussonet, 1782)	ledviny, slezina, střevo	Freeman a Shinn (2011); GenBank: GQ368246
<i>Paramyxidium bulani</i> Freeman a Kristmundsson, 2018		<i>Megalops cyprinoides</i> (Broussonet, 1782)	ledviny	Freeman a Kristmundsson (2018); GenBank: MH414929
<i>Sphaerospora elopi</i> Patra, Bartošová-Sojková, Pecková, Fiala, Eszterbauer a Holzer, 2018		<i>Elops saurus</i> Linnaeus, 1766	lumen ledvinových kanálek	Patra a kol. (2018); GenBank: KY851769
<i>Ceratomyxa anguillae</i> Tuzet a Ormieres, 1957	Actinopterygii/ Elopomorpha/	<i>Anguilla anguilla</i> (Linnaeus, 1758)	žlučník	Eiras (2006)

<i>Henneguya psorospermica</i> Thélohan, 1895	Anguilliformes	<i>Anguilla anguilla</i> (Linnaeus, 1758)	žábry	Własow (1991); Dzido a kol. (2020); GenBank: EU732602
<i>Hoferellus gilsoni</i> (Debaisieux 1925) (syn. <i>Sphaerospora anguillae</i> , <i>S. gilsoni</i>)		<i>Anguilla rostrata</i> (Lesueur, 1817), <i>Anguilla anguilla</i> (Linnaeus, 1758)	močový měchýř	Melendy a Cone (2001); Dzido a kol. (2020); Alama-Bermejo a kol. (2016); GenBank: AJ582062
<i>Hoferellus anguilli</i> (Hsieh a Gong, 1993) (syn. <i>Mitraspora anguilli</i>)		<i>Anguilla japonica</i> Temminck a Schlegel, 1846	žlučník	Chen a Ma (1998); Alama-Bermejo a kol. (2016)
<i>Myxidium acinum</i> Hine, 1975		<i>Anguilla australis</i> Richardson, 1841, A. <i>dieffenbachii</i> Gray, 1842	žábry	Hine (1975); Eiras a kol. (2011)
<i>Myxidium durum</i> Hine, 1980		<i>Anguilla australis</i> Richardson, 1841	žábry	Hine (1980); Eiras a kol. (2011)
<i>Myxidium lentiforme</i> (Fujita 1929) (syn. <i>Myxidium fusiforme</i>)		<i>Anguilla japonica</i> Temminck a Schlegel, 1846	ledviny	Hine (1980); Nagasawa a Katahira (2017); Eiras a kol. (2011)
<i>Myxidium matsuii</i> Fujita, 1929		<i>Anguilla japonica</i> Temminck a Schlegel, 1846	kůže	Hine (1980); Nagasawa a Katahira (2017); Eiras a kol. (2011)
<i>Myxidium mindanoensis</i> Hine, 1980		<i>Anguilla bicolor pacifica</i> McClelland, 1844	žábry	Hine (1980); Eiras a kol. (2011)
<i>Myxidium orientalis</i> Schulman, 1962		<i>Anguilla japonica</i> Temminck a Schlegel, 1846	žlučník, žábry, střevo, ledviny	Chen a Ma (1998)
<i>M. pseudogobii</i> Akhmerov, 1960		<i>Anguilla japonica</i> Temminck a Schlegel, 1846	žábry, střevo	Chen a Ma (1998)
<i>Myxidium</i> sp.		<i>Anguilla anguilla</i> (Linnaeus, 1758); <i>Anguilla japonica</i> Temminck a Schlegel, 1846	žábry, ledviny, játra	Nagasawa a Katahira (2017)
<i>Myxidium</i> sp.		<i>Anguilla anguilla</i> (Linnaeus, 1758)	ledviny	Holzer a kol. (2004); Genbank: AJ582213
<i>Myxidium truttae</i> Léger, 1930		<i>Anguilla anguilla</i> (Linnaeus, 1758)	žábry, žlučník, zažívací trakt	Hine (1980); Eiras a kol. (2011); Genbank: AJ582061, AF201374
<i>Myxidium uchiyamae</i> Fujita, 1929		<i>Anguilla japonica</i> Temminck a Schlegel, 1846	ledviny	Eiras a kol. (2011); Nagasawa a Katahira (2017)

<i>Myxobolus dermatobius</i> Ishii, 1915		<i>Anguilla japonica</i> Temminck a Schlegel, 1846	kůže	Landsberg a Lom (1991); Eiras a kol. (2005); Nagasawa a Katahira (2017)
<i>Myxobolus fujitai</i> (Hahn, 1915) (syn. <i>Lentospora</i> <i>anguillae</i>)		<i>Anguilla japonica</i> Temminck a Schlegel, 1846	kůže	Fujita (1929); Eiras a kol. (2005)
<i>Myxobolus chenmai</i> (Wu, 1977) (syn. <i>Myxobolus</i> <i>anguillae</i>)		<i>Anguilla japonica</i> Temminck a Schlegel, 1846	přední střevo	Chen a Ma (1998); Eiras a kol. (2005)
<i>Myxobolus kotlani</i> Molnár, Lom a Malík, 1986		hybridi mezi <i>A. anguilla</i> a <i>A. rostrata</i> , <i>Anguilla</i> <i>anguilla</i>	ploutve	Molnár a kol. (1986); Eiras a kol. (2005); Kristmundsson a Helgason (2007)
<i>Myxobolus nielii</i> (Nie a Li, 1973) (syn. <i>Myxosoma</i> <i>sinensis</i>)		<i>Anguilla japonica</i> Temminck a Schlegel, 1846	ledviny	Landsberg a Lom (1991); Chen a Ma (1998); Eiras a kol. (2005); GenBank: KJ725084, JQ690358
<i>Myxobolus ningpoensis</i> Chen a Ma, 1998		<i>Anguilla japonica</i> Temminck a Schlegel, 1846	žábry	Chen a Ma (1998); Eiras a kol. (2005)
<i>Myxobolus portucalensis</i> Saraiva a Molnár, 1990		<i>Anguilla anguilla</i> (Linnaeus, 1758)	ploutve, podkožní pojivová tkáň, ocasní a prsní ploutve, močový měchýř, ledviny, játra, střevo	Eiras a kol. (2005); Dzido a kol. (2020); GenBank: AF085182
<i>Myxobolus tachengensis</i> Chen v Chen a Ma, 1998		<i>Anguilla japonica</i> Temminck a Schlegel, 1846	přední střevo	Chen a Ma (1998); Eiras a kol. (2005)
<i>Myxobolus dermatobius</i> (Hoshina, 1953) (syn. <i>Myxobolus hoshinae</i>)		<i>Anguilla japonica</i> Temminck a Schlegel, 1846	kůže	Landsberg a Lom (1991); Eiras a kol (2005)
<i>Myxobolus vascus</i> Akhmerov, 1960		<i>Anguilla japonica</i> Temminck a Schlegel, 1846	kůže, ledviny	Chen a Ma (1998)
<i>Ortholinea</i> <i>sphaerocapsularae</i> (Wierzbicka 1986) (syn. <i>Sphaerospora</i> <i>sphaerocapsularae</i>)		<i>Anguilla anguilla</i> (Linnaeus, 1758)	močový měchýř	Dzido a kol. (2020)
<i>Paramyxidium</i> <i>branchialis</i> Freeman a Kristmundsson, 2018		<i>Anguilla anguilla</i> (Linnaeus, 1758)	žábry	Freeman a Kristmundsson (2018); Genbank: MH414926

<i>Paramyxidium giardi</i> (Cépede, 1906) (syn. <i>Myxidium giardi</i> , <i>M. anguillae</i> , <i>M. illinoisense</i> , <i>M. enchelypterygii</i> , <i>M. serum</i> , <i>M. zealandicum</i>)	<i>Anguilla anguilla</i> (Linnaeus, 1758); <i>A. japonica</i> Temminck a Schlegel, 1846; <i>A. rostrata</i> (Lesueur, 1817); <i>A. australis</i> Richardson, 1841; <i>A. dieffenbachii</i> Gray, 1842; <i>A. mossambica</i> (Peters, 1852); <i>A. reinhardtii</i> Steindachner, 1867; <i>A. bicolor pacifica</i> McClelland, 1844; hybridy mezi <i>A. anguilla</i> a <i>A. Rostrata</i>	žlučník, žábry, ledviny, kůže, ploutve, svaly, játra, zažívací trakt, plynový měchýř, submukóza, mezenterická pojivová tkáň	Hine (1975); Hine (1980); Eiras a kol. (2011); Freeman a Kristmundsson (2018); GenBank: MK635346, MH414925
<i>Paramyxidium magi</i> Freeman a Kristmundsson, 2018	<i>Anguilla anguilla</i> (Linnaeus, 1758)	žaludek	Freeman a Kristmundsson (2018); GenBank: MH414927
<i>Sphaerospora reichenowi</i> Jacob, 1953	<i>Anguilla anguilla</i> (Linnaeus, 1758)	střevo	Jacob a Bremen (1953); Wierzbicka (1994)
<i>Thelohanellus shaochingensis</i> Chen v Chen a Ma, 1998	<i>Anguilla japonica</i> Temminck a Schlegel, 1846	ledviny, žábry, ploutve, střevo, povrch těla	Zhang a kol. (2013)
<i>Thelohanellus sinensis</i> Chen a Hsieh, 1960	<i>Anguilla japonica</i> Temminck a Schlegel, 1846	ledviny	Zhang a kol. (2013); Genbank: KY469292, DQ452013
<i>Zschokkella anguillae</i> Wu a Li, 1986	<i>Anguilla japonica</i> Temminck a Schlegel, 1846	močový měchýř	Matsche a kol. (2020)
<i>Zschokkella chungshanensis</i> Chen a Hsieh, 1984	<i>Anguilla japonica</i> Temminck a Schlegel, 1846	přední střevo	Matsche a kol. (2020)
<i>Zschokkella minuta</i> Nie a Li, 1973	<i>Anguilla japonica</i> Temminck a Schlegel, 1846	žlučník, močový měchýř, ledviny, střevo	Matsche a kol. (2020)
<i>Zschokkella nova</i> Klokačewa, 1914	<i>Anguilla japonica</i> Temminck a Schlegel, 1846	žlučník	Matsche a kol. 2020; GenBank: MH766650, GU471266, GU471275, GU471276, GU471277, GU471278, GU471279, HM037912, FJ417078, DQ377688, DQ377690

<i>Zschokkella</i> sp.		<i>Anguilla anguilla</i> (Linnaeus, 1758)	epitel močového měchýře	Holzer a kol. (2004); Genbank: AJ581918
<i>Zschokkella</i> sp. 1		hybridi mezi <i>A. anguilla</i> a <i>A. Rostrata</i>	ploutve	Kristmundsson a Helgason (2007)
<i>Zschokkella</i> sp. 2		hybridi mezi <i>A. anguilla</i> a <i>A. Rostrata</i>	žaludeční sliznice	Kristmundsson a Helgason (2007)
<i>Zschokkella stettinensis</i> Wierzbicka, 1987		<i>Anguilla anguilla</i> (Linnaeus, 1758)	močový měchýř	Matsche a kol. (2020)
<i>Agarella gracilis</i> Dunkerly, 1915	Dipnoi/ Lepidosireniform es	<i>Lepidosiren paradoxa</i> Fitzinger, 1837	varlata, vaječníky	Vita a kol. (2004)

Poznámky: Tučně jsou zvýrazněny druhy myxozoi, pro které jsou v Genbank databázi dostupná sekvenční data (přístupový kód databáze uveden v posledním sloupci).

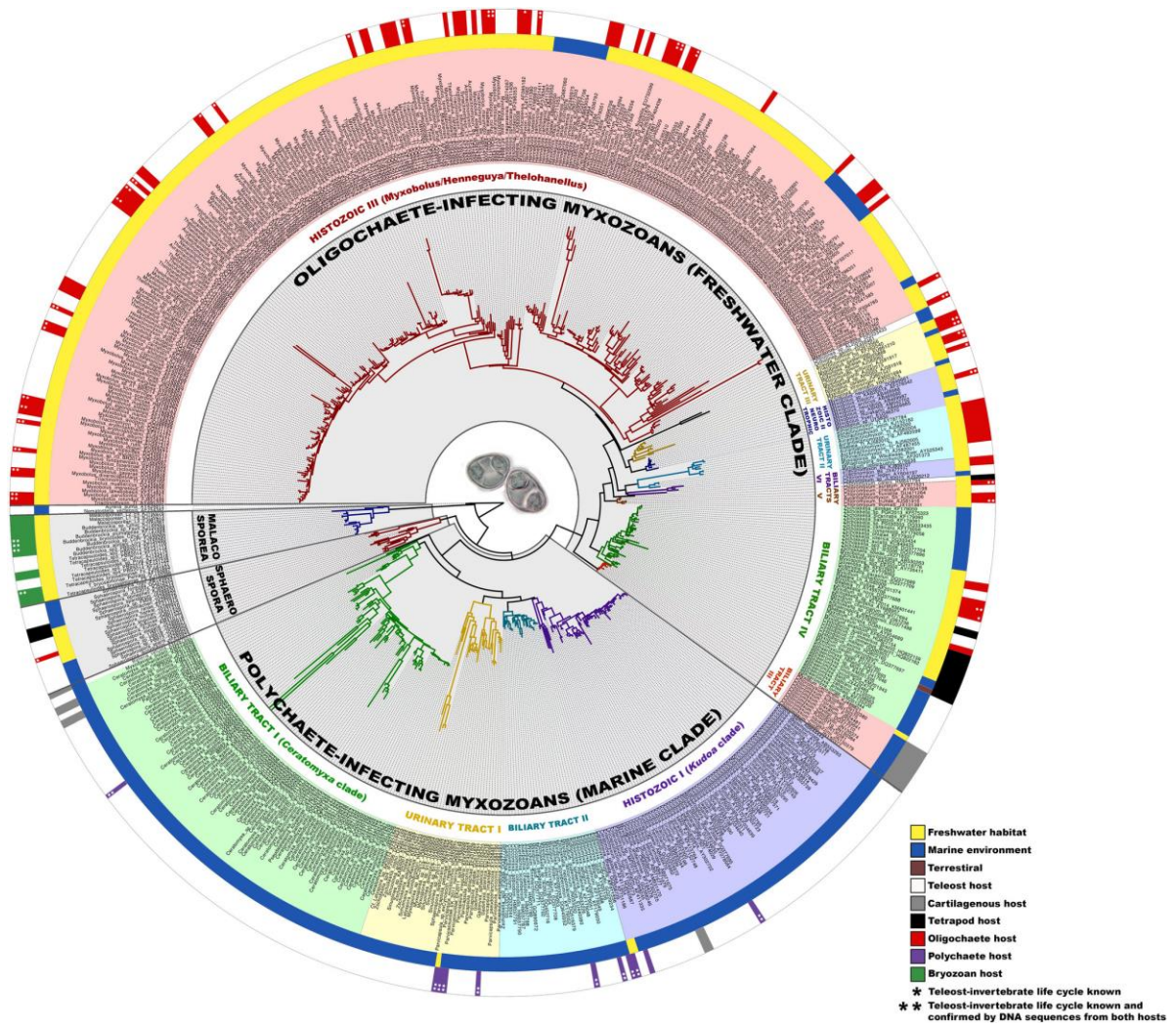
1.7. Fylogenetické vztahy uvnitř myxozoi a jejich linie ve starobylých hostitelích

Fylogenetické vztahy uvnitř skupiny Myxozoa jsou prozkoumány především na základě SSU rDNA, která představuje pro danou skupinu parazitů tzv. „barcode“. Tento gen je dostatečně informativní pro sekvenční odlišení většiny druhů myxozoi a v NCBI databázi (GenBank) je pro něj z myxozoi k dispozici největší množství dat (k 27. 3. 2021 téměř 1900 sekvencí z 778 druhů Myxozoa). Druhy myxozoi se na základě fylogenetických analýz SSU rDNA seskupují do čtyř hlavních linií především podle typu hostitele a prostředí, ve kterém hostitel žije (Obrázek 6): 1) Malacosporea parazitující v mechovkách a u sladkovodních druhů ryb, 2) Myxosporea parazitující u mnohoštětinatců (Annelida: Polychaeta) a zejména u mořských druhů ryb, 3) Myxosporea parazitující u máloštětinatců (Annelida: Oligochaeta) a zejména u sladkovodních druhů ryb a 4) *Sphaerospora sensu stricto* druhy parazitující u ryb ze sladkovodního a mořského prostředí (Fiala a kol. 2015b, Holzer a kol. 2018). Myxozoa se uvnitř hlavních linií dělí na podskupiny, které zahrnují druhy seskupující se například na základě podobné morfologie spor (ne vždy), a především parazitace ve stejném místě infekce (tkáňová specifita) nebo u stejné taxonomické skupiny hostitelů (hostitelská specifita) (Obrázek 6; Fiala 2006, Fiala a kol. 2015a, b, Holzer a kol. 2018).

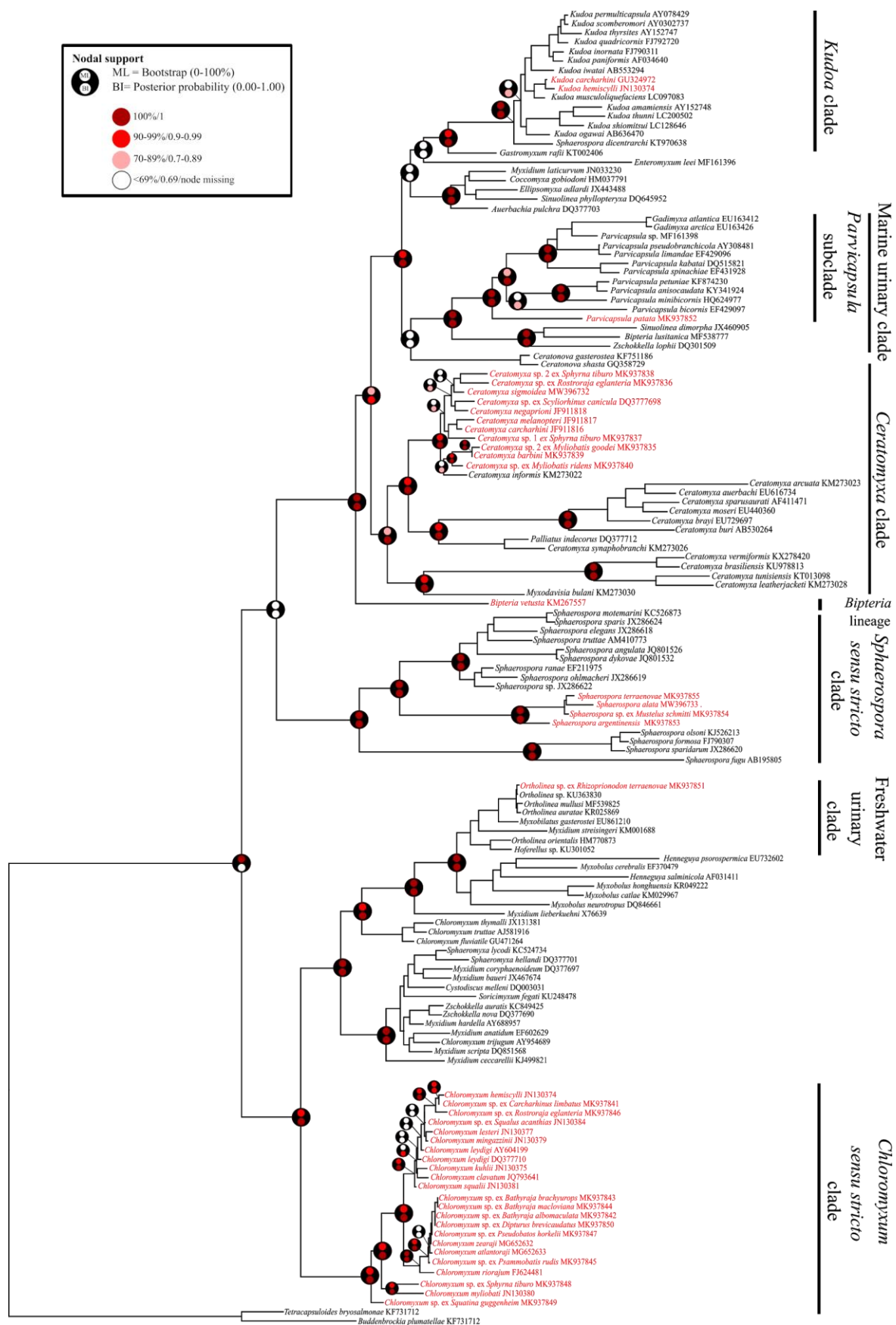
Dlouhodobým problémem u myxozoi je fakt, že fylogeneze založená na molekulárních datech nekopíruje taxonomii této skupiny historicky založenou na morfologických znacích (Fiala 2006, Fiala a kol. 2015a, b). Proto se v evolučních stromech vyskytuje množství polyfyletických a parafyletických taxonů. Např. rod *Chloromyxum* je polyfyletický, přičemž jeho druhy se vyskytují v několika nepříbuzných fylogenetických skupinách (Obrázky 6, 7).

Z myxozoi identifikovaných ve skupinách hostitelů, jež byli studováni v rámci mé bakalářské práce (Obrázek 5), je dosud v GenBank databázi celkově dostupných 43 sekvencí SSU rDNA. Toto číslo reprezentuje jen přibližně 5,5 % všech osekvenovaných druhů myxozoi a 1,7 % všech dosud popsaných druhů myxozoi. Konkrétně je dostupných 26 sekvencí myxozoi z paryb a 17 sekvencí myxozoi z bazálních skupin paprskoploutvých ryb (12 z úhořovitých a 5 z tarponů) (Tabulka 1). Pro druhy dosud zaznamenané u kruhoústých a zbylých bazálních skupin paprskoploutvých ryb sekvenční data neexistují (Tabulka 1).

Myxozoa z paryb se ve fylogenetických stromech umísťují uvnitř osmi skupin, přičemž sedm z nich zahrnuje parazity paryb z třídy Myxosporea a jedna z nich obsahuje druh z třídy Malacosporea (Obrázky 6 a 7). Konkrétně, Myxosporea z paryb klastrují uvnitř *Ceratomyxa* kladu, *Kudoa* kladu, *Chloromyxum sensu stricto* kladu, *Sphaerospora sensu stricto* kladu, *Parvicapsula* podskupiny v rámci mořské skupiny druhů infikujících vylučovací soustavu, sladkovodní skupiny druhů infikujících vylučovací soustavu a v monotypické *Bipteria* linii. Nejvíce druhů myxosporeí z paryb se nachází uvnitř *Ceratomyxa* a *Chloromyxum sensu stricto* kladů. Druhy z paryb v rámci všech těchto skupin převážně reprezentují samostatné a dobře podpořené linie. Jako důsledek (ko)evoluční historie těchto parazitů je většina z nich, ovšem ne všechny, umístěna na bázi linií pocházejících z evolučně odvozenějších skupin kostnatých ryb (Obrázek 7; Kodádková a kol. 2015, Holzer a kol. 2018, Lisnerová a kol. 2020). Druh Malacosporea (= *Buddenbrockia* sp. E v Naldoni a kol. 2020) detekován pomocí PCR u širokého spektra kostnatých ryb a u sladkovodního rejnoka se ve fylogenezi nachází uvnitř malakosporeí jako sesterská linie k druhu *Buddenbrockia* sp. A nalezeného u kaprovitých ryb a dále k druhu *Buddenbrockia allmani* Canning, Curry, Hill a Okamura, 2007 pocházejícího z mechovky křišťálové (Bartošová-Sojková a kol. 2014, Naldoni a kol. 2020). Druhy myxozoi pocházející z bazálních skupin kostnatých ryb (Elopomorpha – úhoři a tarponi) zpravidla nevytváří samostatné fylogenetické linie, ale většinou se umísťují ve společných skupinách s dalšími druhy z evolučně odvozenějších kostnatých ryb (např. druhy rodů *Henneguya*, *Myxobolus* a *Thelohanellus* uvnitř *Myxobolus* kladu; druhy rodů *Hoferellus*, *Myxidium* a *Zschokkella* uvnitř sladkovodních skupin druhů infikujících vylučovací soustavu a žlučník (Holzer a kol. 2004, Holzer a kol. 2018, Liu a kol. 2019). Výjimkou jsou druhy, které se nachází uvnitř samostatně stojících linií, např. *Paramyxidium* klad sjednocující druhy výhradně pocházející z Elopomorpha (Freeman a Kristmundsson 2018). Studium myxozoi z jejich ancestrálních hostitelů se můžeme dozvědět více informací o vzniku a evoluci této skupiny parazitů, a také o jejich koevoluci s obratlovčími hostiteli.



Obrázek 6: Schématické shrnutí základních fylogenetických skupin myxozoi (převzato z Holzer a kol. 2018).



Obrázek 7: Fylogenetický strom zobrazující hlavní linie myxozoi se zaměřením na linie myxosporeí z paryb (taxony červeně) (převzato a upraveno z Lisnerová a kol. v revizi).

2. Cíle práce

Vzhledem k nedostatečně probádané diverzitě a nízkému počtu molekulárních dat dostupných pro Myxozoa ze starobylých skupin obratlovčích hostitelů a zároveň k vysokému potenciálu takových dat při odhalování prehistorických evolučních událostí formujících tuto skupinu parazitů, byl projekt zaměřen na:

- 1) prozkoumání druhové diverzity myxozoi u mihulí, paryb a bazálních skupin paprskoploutvých ryb pomocí mikroskopického vyšetření a PCR skříninku odebraných vzorků.
- 2) zjištění fylogenetické pozice nalezených druhů myxozoi pomocí stromů zrekonstruovaných na základě dat získaných pro SSU rDNA.
- 3) srovnání získaných dat o nalezených druzích s informacemi dostupnými v literatuře jako nezbytnou přípravou pro budoucí popisy potenciálně nově nalezených druhů.

3. Hypotézy

Na základě informací dostupných v literatuře o diverzitě myxozoi u mnou studovaných skupin hostitelů jsem předpokládala, že: i) nejčastěji parazitovaní hostitelé budou paryby a úhoři a bude u nich ii) determinována nejvyšší prevalence; iii) nejčastěji nalezeným rodem u paryb bude *Chloromyxum* a iv) nejčastěji parazitovaným orgánem u paryb bude žlučník.

Dále jsem předpokládala, že v) druhy nalezené u paryb budou ve fylogenetických stromech reprezentovat samostatné linie definované příslušností k jednotlivým skupinám hostitelů a tyto linie nebudou vzájemně promíchány s druhy z evolučně pokročilejších skupin paprskoploutvých ryb.

4. Materiál a metodika

4.1. Původ vzorků

Za účelem zkoumání diverzity myxozoi v jejich ancestrálních hostitelích bylo v rámci práce odebráno 257 vzorků orgánů a tkání ze 123 jedinců z mihulí (1 druh, 13 jedinců, 24 vzorků), paryb (14 druhů, 34 jedinců, 76 vzorků) a bazálních linií paprskoploutvých ryb (6 druhů, 76 jedinců, 157 vzorků) pocházejících z lokalit v Jihoafrické a České republice, Itálii, Indonésii a Nigérii. Při odebírání vzorků jsem se zaměřila na žlučníky, ledviny a játra, které představují nejčastější místa výskytu myxozoi (Tabulka 2).

Mihule byly v rámci povolení k odlovu dodány RNDr. Petrem Blabolilem, Ph.D., (Hydrobiologický ústav, BC AV ČR) a RNDr. Ivanem Fialou, Ph.D. (Parazitologický ústav,

BC AVČR) a pocházely z lokalit v České republice. Jedinci byli dodáni v živém nebo zmrazeném stavu, byla u nich provedena pitva buď mnou nebo za mé asistence. Byly odebrány vzorky převážně z ledvin a u některých extrémně malých jedinců (délka těla do 5 cm) byl proveden průřez celým tělem. Vzorky ledvin, žlučníku a jater již vypitvaných paryb byly dodány v rámci stávající spolupráce s MSc. Bjoernem Schaeffnerem, Ph.D. (North West University, Potchefstroom, Jihoafrická republika). Vzorky ledvin úhořů říčních byly dodány z lokalit v Itálii a České republice mojí školitelkou specialistkou v rámci spolupráce s prof. Maria-Letizia Fioravanti (Boloňská univerzita, Boloňa, Itálie), RNDr. Blabolilem, Ph.D. a RNDr. Fialou, Ph.D. Tyto ryby byly pitvány mojí školitelkou specialistkou a jinými členy Laboratoře rybí protistologie, PAÚ, BC AVČR. Jeseteři a bichiři byli dodáni komerčním dodavatelem PETRA-AQUA s.r.o. (Česká republika). Jeseteři pocházeli z blíže neurčené lokality v České republice a bichiři z přímých importů z blíže neurčených lokalit v Indonésii a Nigérii. Všechny tyto ryby jsem pitvala sama.

Tabulka 2. Seznam druhů obratlovců vyšetřovaných na přítomnost myxozoí se specifikací původu, typu, počtu, uchování a způsobu zpracování odebraných vzorků.

Taxonomické zařazení hostitele	Druh hostitele	Počet jedinců	Geografický původ (země: lokalita)	Tkáň/or gán	Počet vzorků	Uchování/zpracování vzorků
Agnatha/ Cyclostomata/ Petromyzontiformes	<i>Lampetra planeri</i> (Bloch, 1784)	13	ČR: ř. Černá – Benešov n. Černou, Hejšťský p., ř. Malše – D. Dvořiště, Skoronice, ř. Trnava – u obce Samšín; ř. Vltava – Branišov;	žlučník	1	Z: T
				ledviny	9	Z: T
				játra	1	Z: T
				průřez těla	8	Z: T
				svalovina	1	Z: T
				žábry	3	Z: T
				střevo	1	Z: T
Chondrichthyes/ Selachimorpha/ Carcharhiniformes	<i>Carcharhinus brevipinna</i> (Müller a Henle, 1839)	2	JR: Karridene; Gln	žlučník	2	V: P, E
				ledviny	2	V: P, E
				játra	2	V: P, E
			1	JR: Zinkwazi	žlučník	1

	<i>Carcharhinus leucas</i> (Müller a Henle, 1839)			ledviny	1	V: P, E	
	<i>Carcharhinus obscurus</i> (Lesueur, 1818)	1	JR: Durban	žlučník	1	V: E	
ledviny				1	V: E		
játra				1	V: E		
	<i>Carcharias taurus</i> Rafinesque, 1810	1	JR: Durban	žlučník	1	V: P, E	
ledviny				1	V: P, E		
	<i>Galeocerdo cuvier</i> (Péron a Lesueur, 1822)	4	JR: Umhlanga; Trafalgar; St. Michaels	žlučník	4	V: P, E	
ledviny				4	V: P, E		
játra				3	V: E		
	<i>Poroderma pantherinum</i> (Müller a Henle, 1838)	3	JR: Danger Point; Gansbaai	žlučník	3	V: P, E	
ledviny				1	V: P, E		
	<i>Sphyrna lewini</i> (Griffith a Smith, 1834)	4	JR: Zinkwazi; Richards Bay	žlučník	4	V: P, E	
ledviny				4	V: P, E		
játra				3	V: E		
	<i>Sphyrna zygaena</i> (Linnaeus, 1758)	1	JR: Ramsgate	žlučník	1	V: P, E	
ledviny				1	V: P, E		
Chondrichthyes/ Batoidea/ Myliobatiformes	<i>Aetomylaeus bovinus</i> (Geoffroy Saint-Hilaire, 1817)	3	JR: Zinkwazi; Richards Bay	žlučník	3	V: P, E	
				ledviny	3	V: P, E	
				játra	1	V: E	
	<i>Mobula eregoodootenkee</i> (Bleeker, 1859)	2	JR: Zinkwazi; Richards Bay	žlučník	2	V: P, E	
				ledviny	2	V: P, E	
				játra	1	V: E	
			1	JR: Isipingo	žlučník	1	V: E

	<i>Mobula kuhlii</i> (Müller a Henle, 1841)			ledviny	1	V: E
				játra	1	V: E
	<i>Rhinoptera javanica</i> Müller a Henle, 1841	2	JR: Scottburgh; Richards Bay	žlučník	2	V: P, E
				ledviny	2	V: P, E
Chondrichthyes/ Batoidea/ Rajiformes	<i>Rostroraja alba</i> (Lacepède, 1803)	2	JR: Danger Point; Gansbaai	žlučník	2	V: P, E
				ledviny	2	V: P, E
	<i>Raja straeleni</i> Poll, 1951	7	JR: Walker Bay; Hermanus	žlučník	7	V: P, E
				ledviny	5	V: P, E
Actinopterygii/ Acipenseriformes	<i>Acipenser ruthenus</i> Linnaeus, 1758	2	ČR: lokalita neznámá	žlučník	2	Z: T
				ledviny	2	Z: T
Actinopterygii/ Elopomorpha/ Anguilliformes	<i>Anguilla anguilla</i> (Linnaeus, 1758)	32	Itálie: delta řeky Pád; s. oblast Mantova	ledviny	32	ZB: T
		22	ČR: o.r. Golčův Jeníkov; p. Chotovinský, Stříbrná Huť v.n. Jordánka; v.n. Klíčava; v.n. Římov; s. Soběkury; v.n. Želivka;	ledviny	22	ZB: T
Actinopterygii/ Polypteriformes	<i>Erpetoichthys calabaricus</i> Smith, 1865	5	Indonésie: lokalita neznámá	žlučník	5	Z: T
				ledviny	5	Z: T
				žábry	5	Z: T
				svalovina	5	Z: T
				játra	5	Z: T
	<i>Polypterus delhezi</i> Boulenger, 1899	5	Nigérie: lokalita neznámá	žlučník	5	Z: T
				ledviny	5	Z: T
				žábry	5	Z: T
				svalovina	5	Z: T
				játra	5	Z: T
	<i>Polypterus endlicheri</i> Heckel, 1847	5	Indonésie: lokalita neznámá	žlučník	5	Z: T
				ledviny	5	Z: T
				žábry	5	Z: T

				svalovina	5	Z: T	
				játra	4	Z: T	
	<i>Polypterus ornatipinnis</i> Boulenger, 1902	5	Indonésie: lokalita neznámá	žlučník	5	Z: T	
					ledviny	5	Z: T
					žábry	5	Z: T
					svalovina	5	Z: T
					játra	5	Z: T
Celkový počet druhů hostitelů/jedinců/lokalit/typů orgánů/vzorků	21	123	34	7	257		

Vysvětlivky:

JR: Jihoafrická republika; ČR: Česká republika; V: dodán vzorek z již vypitvaných ryb; P: vzorek uchovávan ve fosfátovém pufru; E: vzorek uchovávan ve 100% etanolu; T: vzorek uchován v TNES pufru; Z: ryby dodány živé, pitvu jsem prováděla sama nebo při jejich pitvě asistovala. ZB: ryby dodány živé a vypitvané bez mé přítomnosti. v. n.: vodní nádrž, ř.: řeka, p.: potok, o. r.: obecní rybník, s.: sádka.

4.2. Pitva obratlovců a mikroskopické vyšetření vzorků

Mihule a paprskoploutvé ryby byly anestetizovány pomocí několikaminutové koupele v roztoku s přidaným hřebíčkovým olejem. Všechny manipulace se zvířaty byly prováděny v souladu s českou legislativou (§ 29 zákona č. 246/1992 Sb., O ochraně zvířat před týráním, ve znění zákona č. 77/2004 Sb.). Vzorky vyšetřovaných orgánů a tkání všech zkoumaných skupin obratlovců byly uskladněny ve 400 µl TNES urea pufru (10 mM TrisHCl pH 8, 125 mM NaCl, 10 mM EDTA, 0,5 % SDS, 4 M močovina) (Asahida a kol. 1996). Některé vzorky byly dodány již ve 100% etanolu a/nebo ve fosfátovém pufru s přidanou směsí antibiotik. U všech vzorků proběhlo mikroskopické vyšetření pomocí světelného mikroskopu Olympus BX51 při zvětšení 400x až 1000x. U pozitivních vzorků, pokud možno z nefixovaného materiálu, byla pořízena morfologická dokumentace vývojových stádií myxozoi (spor, plasmodií) digitálním fotoaparátem Olympus DP70 umístěném na světelném mikroskopu Olympus BX51.

Vývojová stadia myxozoi byla následně měřena pomocí programu ImageJ v. 1.46r. U spor byly zaznamenány následující znaky/parametry: tvar, šířka, délka, tloušťka spory, počet, tvar, umístění, délka a šířka pólových váčků, přítomnost/absence vláskovitých výběžku na terminálním konci spory (rod *Chloromyxum*), úhel svíraný chloupky spory (rod *Ceratomyxa*). U plasmodií byly zaznamenány následující znaky/parametry: tvar, délka a šířka plasmodia, počet vytvořených spor. Při morfologické a morfometrické dokumentaci stádií

myxozoi jsem postupovala podle pokynů Loma a Arthura (1989). Údaj „n” v části zaměřené na popisy nalezených druhů udává počty měřených parametrů (plasmodií, spor, úhel, pólové váčky, atd). Rozměry měřených plasmodií a spor jsou udávány jako průměr všech hodnot daného parametru ± směrodatná odchylka (minimální hodnota–maximální hodnota).

4.3. Izolace DNA

Izolace DNA probíhala podle klasické fenol-chloroformové metody (Holzer a kol. 2004). Vzorky fixované v alkoholu byly před izolací DNA zbaveny přebytků etanolu vysušením na filtračním papíru, a poté bylo přidáno 400 µl TNES urea pufru. Vzorky již fixované v TNES urea pufru byly podrobeny dalšímu kroku. Ke každému vzorku ve zmiňovaném pufru byla přidána proteináza K (50 µg/ml; Serva, Německo) a vzorky byly přes noc inkubovány při 55 °C. Poté bylo do vzorků přidáno stejné množství fenolu (pH 8) jako TNES pufru. Následně byly vzorky jemně, ale pečlivě promíchány po dobu 5 minut. Dále byly vzorky centrifugovány při 21 °C po dobu 10 minut na 9 000 otáček (RPM). Během centrifugace se směs v roztoku rozdělila na horní, střední (interfázi) a spodní vrstvu. Horní vrstva (asi 330 µl) obsahující DNA byla opatrně odebrána a smíchána s 400 µl chloroformu. Vzorky byly znovu jemně, ale pečlivě promíchány po dobu 5 minut a následně centrifugovány na 10 minut na 9 000 otáček při 21 °C. Do odebrané horní vrstvy (asi 330 µl) obsahující DNA byl přidán vychlazený 92% etanol v třikrát větším množství než odebrané množství supernatantu. Následně byly vzorky centrifugovány při 4 °C po dobu 20 minut na 14 000 otáček. Po dekantaci etanolu byl do zkumavky přidán vychlazený 70% etanol opět v třikrát větším množství a vzorky byly opět centrifugovány při 4 °C po dobu 4 minut na 14 000 otáček. Přebytečný etanol byl odstraněn dekantací a vzniklý pelet obsahující DNA byl vysušen na termobloku při 50 °C, dokud se neodpařil i zbytek etanolu. K DNA bylo přidáno 100 µl deionizované vody a vzorek byl uskladněn při 4 °C.

4.4. Polymerázová řetězová reakce (PCR)

PCR byla provedena jedнокrokově nebo přednostně jako dvoukroková (nested) PCR za využití již publikovaných primerů specifických pro Myxosporea a pro Malacosporea a amplifikujících SSU rDNA (Tabulka 2). Zatímco na přítomnost myxosporeí byla PCR prováděna u vzorků všech orgánů, na Malacosporea byly skrínovány jenom ledviny všech jedinců, jelikož v jiných orgánech se tato skupina parazitů nevyskytuje. PCR byla prováděna za pomoci komerčních PCR premixů WizPure HS-PCR FDMix (Wizbiosolutions, USA). Jedná se o směs chemikálií, která obsahuje hot-start Taq DNA polymerázu, PCR pufr, MgCl₂ a dNTP. K směsi byly přidány pouze primery (0,5 µl každého primeru o koncentraci 25

pmol/μl), DNA (1 μl odpovídající koncentraci 50–200 ng) a voda (18 μl). Premixy byly použity z důvodu časové úspornosti a eliminace chyb při míchání PCR, jenž se běžně provádí postupným přidáváním všech jednotlivých (nesmíchaných) ingrediencí. Použité primery, program pro PCR amplifikaci a délka ampliconů je uvedena v tabulce 3.

Tabulka 3: Seznam použitých primerů a PCR programů.

Skupina myxozoi	Typ PCR	Kombinace primerů	PCR program	Délka ampliconu	Reference k primerům
Myxosporea	Jednokroková	MyxospecF/18R	95 °C 3 min + (94 °C 50 s + 58 °C 50 s + 72 °C 1 min 30 s) x 40 + 72 °C 10 min	1600 bp	Fiala (2006); Hillis a Dixon (1991)
	Nested	ERIB1 /ERIB10	95 °C 3 min (94 °C 50 s + 58 °C 50 s + 72 °C 2 min) x 35 + 72 °C 5 min	2000 bp	Barta a kol. (1997)
		Myxgp2f/ Act1R	95 °C 5 min + (94 °C 50 s + 58 °C 50 s + 72 °C 1 min 30 s) x 35 + 72 °C 5 min	1000 bp	Kent a kol. (1998); Hallett a Diamant (2001)
	Nested	ERIB1/ ERIB10	95 °C 3 min (94 °C 50 s + 58 °C 50 s + 72 °C 2 min) x 35 + 72 °C 5 min	2000 bp	Barta a kol. (1997)
		Myx1F/MX3	95 °C 5 min + (94 °C 50 s + 58 °C 50 s + 72 °C 1 min 30 s) x 40 + 72 °C 10 min	1700 bp	Hallett a Diamant (2001); Andree a kol. (1998)
Malacosporea	Jednokroková	budd-f/ budd-r	95 °C 5 min + (95 °C 45 s + 58 °C 45 s + 72 °C 2 min 20 s) x 40 + 72 °C 10 min	1600 bp	Grabner a El-Matbouli (2010)
	Nested	ERIB1/ ERIB10	95 °C 3 min + (94 °C 50 s + 58 °C 50 s + 72 °C 2 min) x 35 + 72 °C 5 min	2000 bp	Barta a kol. (1997)
		mala-f/ mala-r	95 °C 3 min + (95 °C 45 s + 61 °C 45 s + 72 °C 45 s) x 40 + 72 °C 5 min	680 bp	Grabner a El-Matbouli (2010)

4.5. Gelová elektroforéza, izolace PCR produktů, sekvenování

Produkty amplifikované pomocí PCR byly rozděleny gelovou elektroforézou na 1,5 % agarózovém gelu (Serva, Německo) v TAE pufru (0,04 M Tris acetát, 1 mM EDTA) obsahujícím ethidium bromid (Top-Bio, Česká republika) o koncentraci 0,5 μg/ml. Pro srovnání velikosti ampliconů byl použit vhodný žebříček (New England, Biolabs, USA) o koncentraci 0,1 μg/μl. Elektroforéza probíhala při 110 V po dobu přibližně 40 minut. Poté byly výsledky vizualizovány pomocí UV transiluminátoru (Vilber Lourmat, Francie). Amplicony očekávané velikosti byly vyříznuty a vyextrahovány z gelu za pomoci komerčního kitu Gel/PCR DNA Fragments Extraction Kit (Geneaid, Taiwan) dle pokynů výrobce. Koncentrace

PCR produktů byla stanovena na spektrofotometru Biochrom Libra S12 (Biochrom, Velká Británie). Vyizolované PCR produkty byly uskladněny při -18 °C. Následně byly komerčně osekvenovány (SeqMe, Česká republika) pomocí Sangerovy metody s využitím shodných forwardových a reverzních primerů jako při samotné PCR a za dodání maximálního možného objemu PCR produktu (9 ul).

4.6. Úprava a zpracování sekvencí

Kvalita získaných sekvencí byla zkontrolována vyhodnocením chromatogramů v programu Geneious Prime v. 2019.0.4 (<http://www.geneious.com>; Kearse a kol. 2012). Identita získaných sekvencí byla ověřena v databázi GenBank pomocí algoritmu BLAST (Basic Local Alignment Search Tool; blast.ncbi.nlm.nih.gov), konkrétně jeho varianty BLASTN. Ověřené forwardové a reverzní sekvence každého produktu byly spojeny do výsledného konsenzu v programu Geneious Prime v. 2019.0.4.

4.7. Fylogenetické analýzy

Nově získané SSU rDNA sekvence byly zalignovány s vybranými sekvencemi příbuzných druhů myxozoi dostupných v Genbanku v programu MAFFT v. 1.4.0 (Kato a kol. 2005) implementovaného v Geneious Prime v. 2019.0.4 pomocí E-INS-i algoritmu a defaultních parametrů pro penalty za vytvoření a prodloužení gapů. Byly vytvořeny následovné datasety: 1) *Ceratomyxa* dataset zahrnující 115 sekvencí včetně tří outgroupových sekvencí (délka finálního alignmentu: 1286 bp), 2) *Chloromyxum sensu stricto* dataset zahrnující 41 sekvencí včetně tří outgroupových sekvencí (délka finálního alignmentu: 1716 bp) a 3) Malacosporea dataset zahrnující 110 sekvencí včetně dvou outgroupových sekvencí (délka finálního alignmentu: 1708 bp). Pomocí metody maximum likelihood (ML) byla provedena rekonstrukce fylogenetických stromů a výpočet podpor uzlů v programu RAxML v. 4.0 (Stamatakis 2006) implementovaném v Geneious Prime v. 2019.0.4. Model evoluce (GTR+G+I) byl stanoven v programu jModelTest2 (Posada 2008). Podpory uzlů byly vypočteny z 1000 bootstrapových replikátů. Grafická úprava fylogenetických stromů byla provedena v programu Adobe Illustrator CS5. Následně byly provedeny morfologické, morfometrické a molekulární srovnávací analýzy nálezů s již popsányými druhy myxozoi.

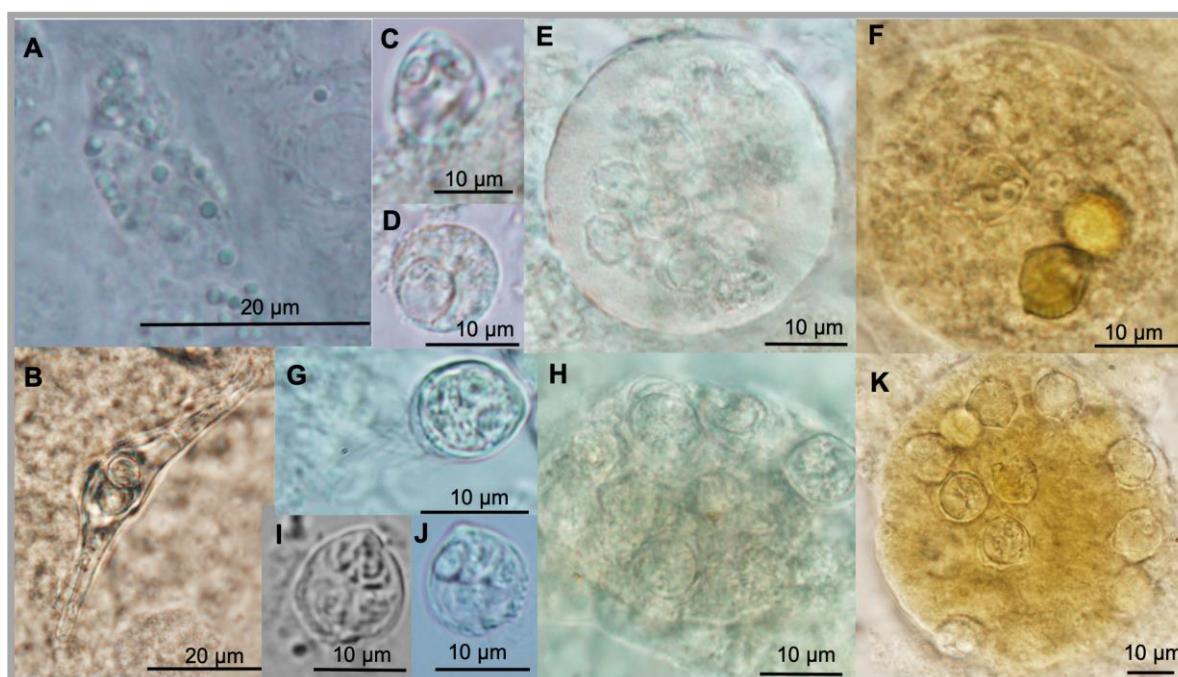
4.8. Výpočet prevalence

Prevalence infekce daným parazitem v hostiteli byla vypočítána jako podíl mikroskopicky/PCR-pozitivních jedinců ze všech jedinců daného druhu hostitele.

5. Výsledky

5.1. Nálezy a prevalence myxozoi u vyšetřovaných obratlovců

V 257 vzorcích vyšetřovaných orgánů a tkání mihulí, paryb a paprskoploutvých ryb bylo mikroskopicky a/nebo pomocí PCR (provedeno 342 PCR reakcí) nalezeno osm druhů myxozoi, z nichž šest patřilo mezi Myxosporea a dva mezi Malacosporea (Obrázek 8). Nalezené druhy se řadily do rodů *Chloromyxum* (5 druhů), *Ceratomyxa* (1 druh), *Buddenbrockia* (1 druh) a jednoho dosud nepopsaného druhu třídy Malacosporea (Tabulka 3). U malakosporeí byla shoda našich nálezů s existujícími druhy/fylogenetickými liniemi identifikována jenom sekvenčně. Žádný nález myxosporeí se morfologicky, morfometricky ani sekvenčně neshodoval s dosud popsány druhy myxozoi (Tabulky 5 a 6, viz níže 5.3. Detailní informace o nalezených druzích).



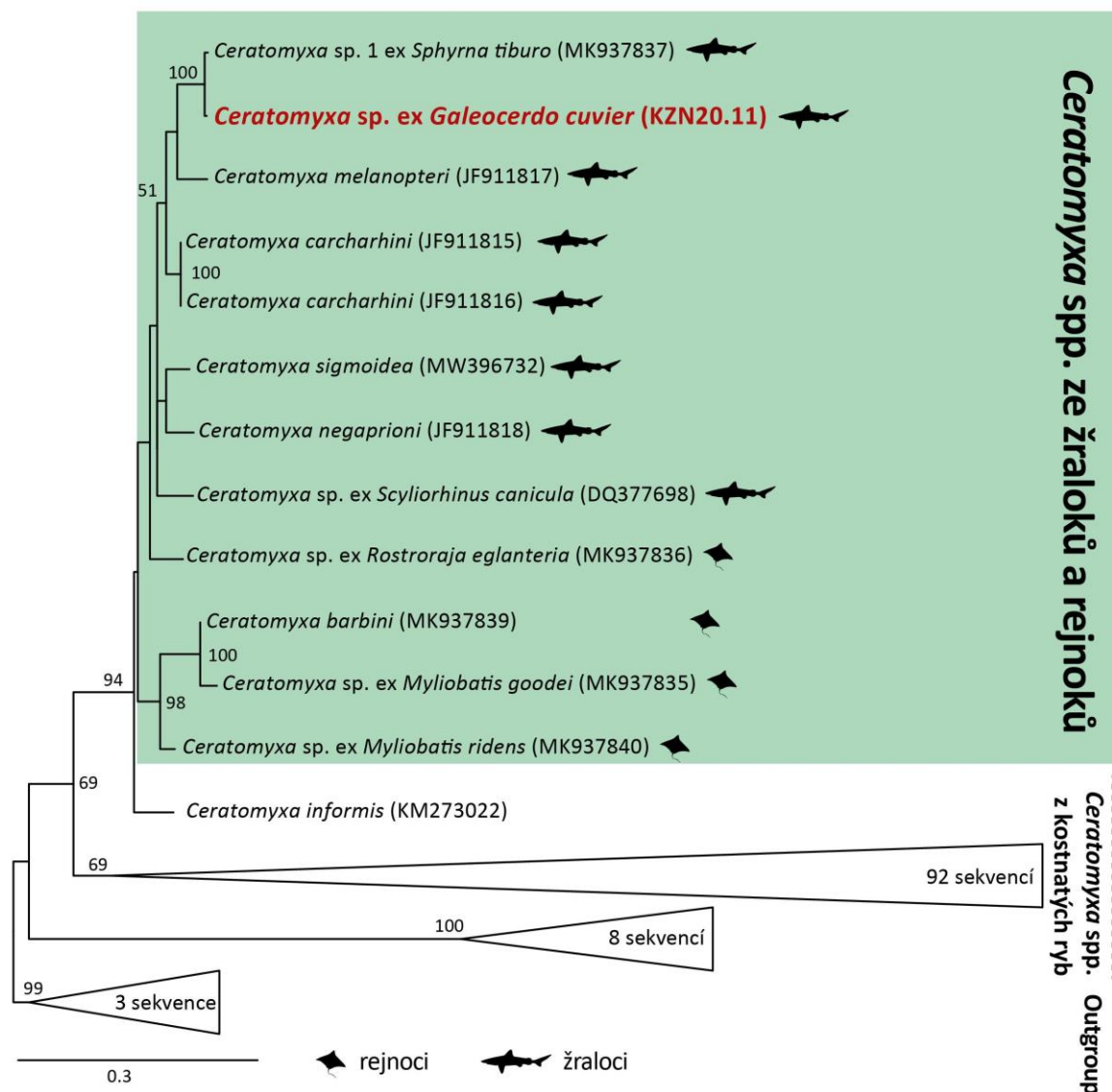
Obrázek 8: Spory a plasmodia myxozoi nalezených v ledvinných kanálcích mihulí a ve žlučnicích paryb. **A:** Neznámý druh Malacosporea z mihule potoční *Lampetra planeri*; **B:** *Ceratomyxa* sp. ze žraloka *Galeocerdo cuvier*; **C–E:** *Chloromyxum* sp. z rejnoka *Rhinoptera javanica*; **F:** *Chloromyxum* sp. ze žraloka *Carcharhinus leucas*; **G–H:** *Chloromyxum* sp. ze žraloka *Sphyrna lewini*; **I–J:** *Chloromyxum* sp. z rejnoka *Raja straeleni*; **K:** *Chloromyxum* sp. ze žraloka *Carcharias taurus*. Měřítka v µm jsou uvedena pro každý obrázek zvlášť.

Celková prevalence myxozoi ve všech vzorcích byla obecně nízká (3,5 % zjištěno pomocí světelného mikroskopu a 6,6 % pomocí PCR). Ve vzorcích ledvin mihule potoční a úhoře říčního byly detekovány dva druhy ze skupiny Malacosporea. Konkrétně, plasmodia a vyvíjející se spory Malacosporea byly pomocí světelné mikroskopie detekovány u jednoho

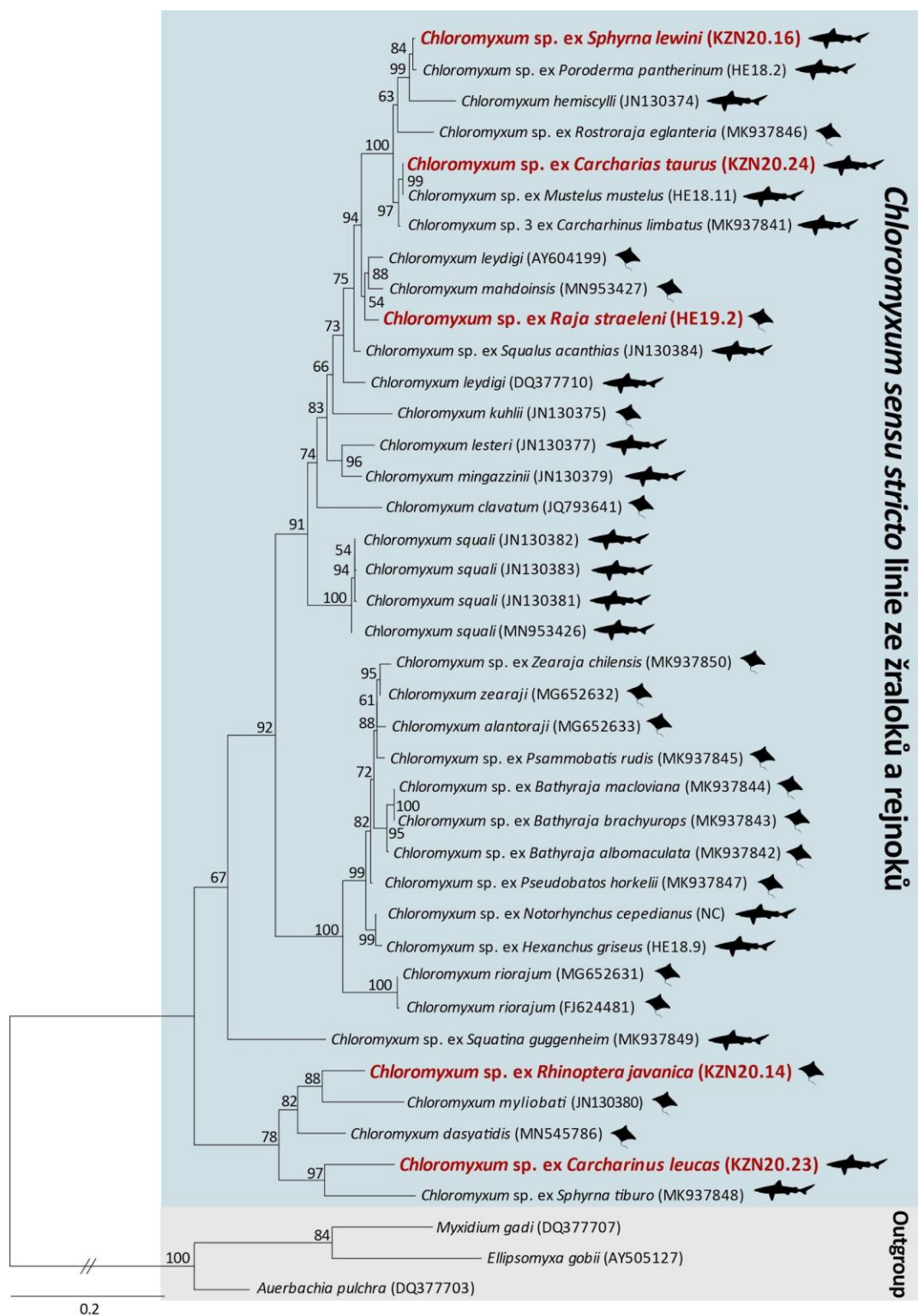
jedince mihule potoční (Obrázek 8A). Tento, a ještě jeden další jedinec (oba z řeky Malše) byli na *Malacosporea* pozitivní i pomocí PCR. V 54 vyšetřených vzorcích úhořů říčních nebyl na *Malacosporea* mikroskopicky pozitivní žádný vzorek, zatímco pomocí PCR byl druh *Malacosporea* identifikován v sedmi vzorcích, a to výhradně na italské lokalitě (Tabulka 3). U paryb byly nalezeny pouze druhy ze skupiny *Myxosporea* (8 vzorků, Obrázek 8B–K), zatímco *Malacosporea* u této skupiny hostitelů nalezena nebyla. U bichirů, bichirků ani jeseterů nebyli nalezeni žádní zástupci myxozoi.

5.2. Umístění nově nalezených druhů ve fylogenetických stromech

Provedené fylogenetické analýzy ukázaly, že nově nalezené druhy myxosporeí z rodů *Ceratomyxa* a *Chloromyxum* se seskupily se sekvencemi ostatních druhů ze stejného rodu, které byly rovněž nalezené ve žlučnicích paryb (Obrázky 9 a 10). Nově osekvenovaná *Ceratomyxa* sp. ze žraloka *Galeocerdo cuvier* byla blízce příbuzná druhu *Ceratomyxa* sp. 1 nalezeného ve žralokovi *Sphyrna tiburo* (Obrázek 9; Lisnerová a kol. v revizi, Lisnerová a kol. 2020). Tyto dva druhy se ve stromu umístily uvnitř skupiny tvořené dalšími druhy rodu *Ceratomyxa* infikujícími žraloky, přičemž na bázi této skupiny se umístil druh parazitující u rejnoka. Druhy rodu *Chloromyxum* se seskupily společně s příbuznými druhy myxozoi ze žraločích a rejnočích hostitelů (Obrázek 10). Konkrétně, nově nalezený druh *Chloromyxum* sp. ze žraloka *Carcharias taurus* klastroval se žraločími druhy *Chloromyxum* sp. z *Mustelus Mustelus* a *Chloromyxum* sp. 3 z *Carcharinus limbatus*. K této trojici druhů se dále přidružila skupina tvořená rejnočím druhem *Chloromyxum* sp. z *Rostroraja eglanteria* a žraločími druhy *Chloromyxum hemiscylli*, nově nalezeným druhem *Chloromyxum* sp. ze *Sphyrna lewini* a blízce příbuzným *Chloromyxum* sp. ze *Poroderma pantherinum*. K celé této velké skupině klastrovali rejnočí paraziti, tj. nově nalezené *Chloromyxum* sp. z *Raja straeleni*, *Chloromyxum mahdoinsis* a typový druh rodu *Chloromyxum leydigi* (rejnočí izolát). Nově nalezený druh *Chloromyxum* sp. ze žraloka *Carcharhinus leucas* klastroval s druhem *Chloromyxum* sp. ze žraloka *Sphyrna tiburo*, ke kterým se připojila skupina tvořená rejnočími parazity *Chloromyxum* sp. z *Rhinoptera javanica*, *Chloromyxum dasyatidis* a *Chloromyxum myliobati*.



Obrázek 9: Maximum likelihood fylogenetický strom založený na SSU rDNA zobrazující příbuzenské vztahy myxozoi v rámci skupiny *Ceratomyxa*. Druh identifikovaný v rámci této bakalářské práce je zvýrazněn tučně a červeně. Podpory uzlů, vypočítané z 1000 bootstrapových replikátů, jsou zobrazeny u hodnot >50 %. Přístupové kódy Genbank databáze a čísla izolátů jsou uvedeny v závorce u každého taxonu. Druhy rodu *Ceratomyxa* z kostnatých ryb a outgroupové sekvence byly pro zjednodušení sjednoceny do trojúhelníků.



Obrázek 10: Maximum likelihood fylogenetický strom založený na SSU rDNA zobrazující příbuzenské vztahy myxozoi v rámci skupiny *Chloromyxum sensu stricto*. Druhy identifikované v rámci bakalářské práce jsou zvýrazněny tučně a červeně. Podpory uzlů, vypočítané z 1000 bootstrapových replikátů, jsou zobrazeny u hodnot >50 %. Linie vedoucí k outgroupu byla zkrácena na 20 % původní délky. Přístupové kódy Genbank databáze a čísla našich izolátů jsou uvedeny v závorce u každého taxonu.

Ve fylogenetické analýze se sekvence našeho izolátu z mihule potoční umístila na bázi všech malakosporeí (Obrázek 11) v dobře podpořené skupině (ML=100) téměř totožných sekvencí reprezentujících dosud nepopsaný druh malakosporeí nalezený v mechovce útlé *Fredericella sultana* a v další mechovce ze stejného rodu (*F. indica*). Druh nalezený u úhoře říčního klastroval v rámci dobře podpořené skupiny (ML=95) zastoupené různými téměř totožnými izoláty *B. allmani* z mechovky křišťálové *L. crystallinus*. Skupina reprezentovaná *B. allmani* dále klastrovala s druhy stejného rodu nalezenými u paryb a kostnatých ryb. Konkrétně šlo o druh *Buddenbrockia* sp. E ze sladkovodního rejnoka *P. motoro* (Myliobatiformes) a z různých řádů kostnatých ryb (Perciformes, Cichliformes, Characiformes, Siluriformes) a s druhem *Buddenbrockia* sp. A z kaprovitých ryb (Cypriniformes) (Obrázek 11).



Obrázek 11: Maximum likelihood fylogenetický strom založený na SSU rDNA zobrazující příbuzenské vztahy myxozoí v rámci skupiny Malacosporea. Druhy, které byly identifikovány v rámci bakalářské práce, jsou zvýrazněny tučně a červeně. Podpory uzlů byly vypočítány z 1000 bootstrapových replikátů. Přístupové kódy Genbank databáze a čísla našich izolátů jsou uvedeny v závorce u každého taxonu. Druhy patřící do jiných skupin než těch, které klastrují s nově identifikovanými druhy, byly pro zjednodušení sjednoceny do trojúhelníků. Linie vedoucí k outgroupu byla zkrácena na 25 % původní délky. Značení dosud nepopsaných druhů je dle Naldoni a kol. (2020).

5.3. Detailní informace o nalezených druzích

Kmen Cnidaria Hatschek, 1888

Nezařazený podkmen: Myxozoa Grassé, 1970

Třída: Malacosporea Canning, Curry, Feist, Longshaw a Okamura, 2000

Řád: Malacovalvulida Canning, Curry, Feist, Longshaw a Okamura, 2000

Čeleď: Saccosporidae Canning, Okamura a Curry, 1996

Rod: *Buddenbrockia* Schröder, 1910

Buddenbrockia allmani Canning, Curry, Hill a Okamura, 2007

Canning a kol. (2007):

Typový hostitel: *Lophopus crystallinus* (Pallas, 1768), mechovka křišťálová (Bryozoa, Phylactolaemata, Plumatellida, Lophopodidae).

Typová lokalita: Barton Blow Wells, Lancashire, Velká Británie.

Místo sporogonického vývoje: Kulovité váčky (do 300 µm v průměru) naplněné malakosporami v tělní stěně a tělní dutině mechovky.

Prevalence infekce: Neznámá.

Molekulární data: AJ937880 (sekvence pocházejícího z popisu druhu).

Tato práce:

Další hostitel: *Anguilla anguilla* (Linnaeus, 1758), úhoř říční (Actinopterygii, Elopomorpha, Anguilliformes).

Další lokality: Sádka, region Mantova, Itálie.

Místo sporogonického vývoje: Nejpravděpodobněji ledviny, druh v tkáni detekován jenom pomocí PCR, sporogonie mikroskopicky nezachycena.

Prevalence infekce: 13,0 % (7/54).

Izolát: AAI7, AAI10, AAI22, AAI27, AAI32, AAI33, A-I (směs všech vzorků z Itálie).

Popis plasmodií: Nebyla pozorována.

Popis spor: Nebyly pozorovány.

Molekulární data: Kompletní SSU rDNA sekvence o délce 1752 bp ohraničena primery budd-f/budd-r a získána z izolátů AAI7, AAI10 a AAI33; částečné sekvence přibližně o délce 680 bp získány ze vzorků AAI7, AAI10, AAI22, AAI27, AAI32, AAI33 a A-I ohraničeny primery mala-f/mala-r.

Poznámky: Získaná kompletní sekvence SSU rDNA izolátu z *A. anguilla* byla na úseku dlouhém 1592 bp z 99,7 % shodná s izolátem druhu *B. allmani* z mechovky křišťálové (Genbank: KJ150260; Hartikainen a kol. 2014) a ostatní sekvence izolátů parazita z *L. crystallinus* (Obrázek 1) na úseku dlouhém 551 bp rovněž vykazovaly vysokou míru

sekvenční shody činící 98,3 % až 100,0 %. Na uvedeném úseku se sekvence izolátu pocházejícího z popisu druhu Canning a kol. (2007) shodovala s našim izolátem na 99,5 %. Vzhledem k tomu, že ve vyšetřovaných úhořích nebyl parazit pozorován, nebylo možné provést srovnávací analýzu se stádií ostatních známých druhů malakosporeí zaznamenaných u jiných druhů ryb.

Neznámý druh *Malacosporea* z *Lampetra planeri* (Obrázek 8A)

Hartikainen a kol. (2014):

Hostitel: *Fredericella sultana* Blumenbach, 1779, mechovka útlá; *F. indica* Annandale, 1909 (Bryozoa, Phylactolaemata, Plumatellida, Fredericellidae).

Lokalita: Jezero Aberdeen USA, řeky Lohr a Lohrbach, Německo.

Místo sporogonického vývoje: Stádia laločnatého tvaru s malakosporami v tělní dutině mechovky.

Prevalence infekce: Neznámá.

Molekulární data (SSU rDNA): KJ150272 (*F. indica*), KJ150273 (*F. sultana*), KJ150274 (*F. sultana*); ve fylogenetickém stromě (Obrázek 11) označena jako „*Malacosporea* sp. F” dle Naldoni a kol. (2020); v práci Hartikainen a kol. (2014) jako „*novel lineage 1*” s příslušnými sekvencemi „*lobey sac ex F. indica*” a „*lobey sac ex F. sultana*”.

Tato práce:

Další hostitel: *Lampetra planeri* (Bloch, 1784), mihule potoční (Agnatha, Cyclostomata, Petromyzontiformes)

Další lokality: Řeka Malše, Skoronice u Dolního Dvořiště (LPM3) a Dolní Dvořiště (LPM6), Česká republika.

Místo sporogonického vývoje: Vnitřní prostor (lumen) ledvinových kanálků.

Prevalence infekce: 15,4 % (2/13).

Izolát: LPM3, LPM6.

Popis plasmodií: Monosporická plasmodia oválného tvaru o délce $29,9 \pm 8,9$ (14,6–37,0) μm a šířce $10,5 \pm 3,9$ (4,0–15,6) μm (n=5).

Popis spor: Nezralé malakospory (umístěny v plasmodiích) oválného tvaru, délka $7,6 \mu\text{m} \pm 4,2$ (3,4–11,8), šířka $6,2 \mu\text{m} \pm 1,1$ (5,0–7,3). Drobné kulaté pólové váčky, délka $1,0 \mu\text{m} \pm 0,4$ (0,6–1,5) a šířka $1,0 \mu\text{m} \pm 0,5$ (0,6–1,5) (n=2). Počet závitů pólových váček nepozorován.

Molekulární data: Kompletní SSU rDNA sekvence o délce 1504 bp (izoláty LPM3 a LPM6) ohraničena primery budd-f/budd-r; ve fylogenetickém stromě označena jako *Malacosporea* ex *Lampetra planeri*.

Poznámky: Získaná kompletní sekvence SSU rDNA z izolátů parazita z mihule potoční se na úseku dlouhém 1436 bp na 99,9 % (rozdíl 2 nukleotidy) shodovala se sekvencemi izolátů parazita z *F. indica* (Genbank: KJ150272; Hartikainen a kol. 2014) a z *F. sultana* (Genbank: KJ150273; Hartikainen a kol. 2014). Jedná se o první nález tohoto druhu Malacospora u obratlovců, proto nebylo možné provést morfologické srovnání.

Třída: Myxosporea Bütschli, 1881

Řád: Bivalvulida Shulman, 1959

Čeleď: Ceratomyxidae Doflein, 1899

Rod: *Ceratomyxa* Thélohan, 1892

***Ceratomyxa* sp. z *Galeocерdo cuvier* (Obrázek 8B)**

Hostitel: *Galeocерdo cuvier* (Péron a Lesueur, 1822), žralok tygří (Chondrichthyes, Selachimorpha, Carcharhiniformes).

Lokalita: St. Michaels, Jihoafrická republika.

Místo sporogonického vývoje: Žlučník – volně plovoucí stádia ve žluči (coelozoická lokalizace).

Prevalence infekce: 25,0 % (1/4).

Izolát: KZN 20.11.

Popis plasmodií: Nebyla pozorována.

Popis spor: Zralé myxospory ve tvaru protáhlého půlměsíce, délka $8,7 \mu\text{m} \pm 1,0$ (7,1–10,2) (n=6), tloušťka $46,9 \mu\text{m} \pm 6,5$ (40,4–53,3) (n=2). Kulaté pólové váčky asymetricky umístěné u apexu spory, délka $4,7 \mu\text{m} \pm 0,4$ (4,3–5,4) (n=6) a šířka $4,4 \mu\text{m} \pm 0,6$ (3,5–5,3) (n=6). Chlopně spory stejně dlouhé. Zadní (posteriorní) konvexní úhel ($166,3^\circ$ – $170,4^\circ$) (n=2). Triradiální aberantní spory pozorovány v jednom případě.

Molekulární data: Částečná SSU rDNA sekvence o délce 1404 bp ohraničena primery MyxospecF/18R.

Poznámky: Pomocí morfologických a morfometrických srovnání bylo zjištěno, že pozorovaná *Ceratomyxa* z *G. cuvier* neodpovídá charakteristice druhu *Ceratomyxa lunata* Davis, 1917 dříve popsáno ze žlučníku stejného druhu žraloka (Davis 1917, Eiras 2006, Tabulka 5). V Genbank databázi bohužel nejsou dostupná žádná molekulární data pro srovnání obou druhů. SSU rDNA sekvence našeho izolátu se na úseku dlouhém 1239 bp na 99,6 % shodovala se sekvencí *Ceratomyxa* sp. 1 ze žlučníku jiného druhu žraloka *Sphyrna tiburo* (Lisnerová a kol. 2020, Lisnerová a kol. v revizi). I když sekvenční a fylogenetická data (Obrázek 9) naznačují jejich konspecificitu, nedostupnost morfologických dat ze zmiňovaného druhu neumožňují

vyvození jakýkoliv závěrů. Ze žraloků *Sphyrna zygaena* a *S. tiburo* byl popsán druh *Ceratomyxa mesospora* Davis, 1917, který je nápadně podobný našemu nálezu *Ceratomyxa* sp. z *G. cuvier* (Davis 1917, Eiras 2006, Tabulka 5). Konkrétně, oba druhy mají podobné rozměry a tvar spor. Navíc pólové váčky jsou u obou druhů asymetricky umístěné uvnitř velikostně stejných chlopní spor. *C. mesospora* má ale pólové váčky kapkovitého tvaru, zatímco nově nalezená *Ceratomyxa* sp. je má kulaté. Navíc spory *C. mesospora* mají zadní (posteriorní) úhel téměř přímý (180°) na rozdíl od o něco menšího úhlu ($166,3^\circ$ – $170,4^\circ$) svíraného chlopněmi *Ceratomyxa* sp. z *G. cuvier*. Oba druhy myxozoi se dále liší druhem hostitele, jenž infikují a lokalitou nálezu (*C. mesospora* v severní části pobřeží Atlantského oceánu, USA). Molekulární data pro *C. mesospora* nejsou v Genbank databázi dostupná.

Čeleď: Chloromyxidae Thélohan, 1892

Rod: *Chloromyxum* Mingazzini, 1890

Chloromyxum* sp. z *Rhinoptera javanica (Obrázky 8C–E)

Hostitel: *Rhinoptera javanica* Müller a Henle, 1841, siba jávská (Chondrichthyes, Batoidea, Myliobatiformes).

Lokalita: Richards Bay, Jihoafrická republika.

Místo sporogonického vývoje: Žlučník – volně plovoucí stádia ve žluči (coelozoická lokalizace).

Prevalence infekce: 50,0 % (1/2).

Izolát: KZN 20.14.

Popis plasmodií: Monosporická a polysporická plasmodia oválná (n=1) nebo kulatá (n=2) o délce $20,3 \pm 13,7$ (10,1–39,7) μm a šířce $19,5 \pm 12,0$ (10,5–36,4) μm (n=3).

Popis spor: Myxospory subsférického tvaru s čepičkou na apexu spory, délka $8,6 \pm 1,1$ (6,8–10,6) μm a šířka $6,7 \pm 0,9$ (5,8–8,8) μm (n=15). Čtyři pyriformní pólové váčky umístěny u apexu spory, délka $2,2 \pm 0,5$ (1,6–3,1) μm a šířka $1,7 \pm 0,8$ (1,1–3,9) μm (n=9). Celkem 3–4 závitů pólového vlákna v každém pólovém váčku (n=3). Spora s vláskovitými výběžky na terminálním konci o délce 1,9–2,7 μm (n=3). Celkem 5–6 povrchových žeber spor (n=2).

Molekulární data: Kompletní SSU rDNA sekvence o délce 1666 bp ohraničena primery ERIB1/ERIB10.

Poznámky: *Chloromyxum* sp. z *Rhinoptera javanica* se rozměry a tvarem svých spor nejvíc podobá druhu *Chloromyxum noblei* Moser, Kent a Dennis, 1989 (8,0–10,0 μm x 6,0–7,0 μm) popsaného z trnuchy *Taeniura lymma* Forsskil, 1775 a dále nalezeného u *Hemiscyllum ocellatum* Bonnatere, 1788, *Lethrinus chrysostomus* Forster, 1801 a *Diodon hystrix* Linnaeus,

1758 (Moser a kol. 1989, Eiras a kol. 2012). Tyto druhy myxozoi se vzájemně liší velikostí pólových váčků, přičemž pólové váčky *C. noblei* jsou delší a užší (2,0–4,0 μm x 1,0–3,0 μm) než ty u *Chloromyxum* sp. z *R. javanica* (Eiras a kol. 2012, Tabulka 6). Dalšími rozdíly je absence vláskovitých výběžků a žeber na povrchu spor *C. noblei* a větší počet závitů pólového vlákna (6–7 u *C. noblei*). Navíc se oba druhy liší druhem hostitele a lokalitou nálezu (vody u Heron Island, Austrálie u *C. noblei*). V Genbank databázi bohužel nejsou dostupná žádná molekulární data pro srovnání obou druhů. Na základě srovnání dostupných SSU rDNA sekvenčních dat je *Chloromyxum* sp. z *R. javanica* nejvíc podobné druhům *Chloromyxum dasyatidis* (Genbank: MN545786; 94,8 % na úseku dlouhém 1669 bp) a *Chloromyxum myliobati* Gleeson a Adlard, 2012 (Genbank: JN130380; 94,5 % na úseku dlouhém 1406 bp). Publikace s popisem *C. dasyatidis* pro srovnání s morfologií našeho nálezu zatím není k dispozici. Druhý ze srovnávaných druhů se rozměrem svých spor a pólových váčků s *Chloromyxum* sp. z *R. javanica* nepřekrývá (spora 11,9 \pm 0,6 μm x 10,0 \pm 0,6 μm ; pólové váčky 3,9 \pm 0,4 μm x 3,0 \pm 0,2 μm , Gleeson a Adlard, 2012, Eiras a kol. 2012, Tabulka 6).

***Chloromyxum* sp. z *Carcharhinus leucas* (Obrázek 8F)**

Hostitel: *Carcharhinus leucas* (Müller a Henle, 1839), žralok bělavý (Chondrichthyes, Selachimorpha, Carcharhiniformes).

Lokalita: Zinkwazi, Jihoafrická republika.

Místo sporogonického vývoje: Žlučník – volně plovoucí stádia ve žluči (coelozoická lokalizace).

Prevalence infekce: 100,0 % (1/1).

Izolát: KZN 20.23.

Popis plasmodií: Polysporická plasmodia oválná (n=2) nebo kulatá (n=1) o délce 42,3 \pm 2,7 (38,6–44,4) μm a šířce 36,1 \pm 5,8 (28,4–42,2) μm (n =3).

Popis spor: Myxospory subsférického tvaru se zřetelně špičatým apexem, délka 11,5 \pm 0,6 (10,6–12,4) μm a šířka 8,8 \pm 0,4 (8,3–9,3) μm (n=5). Čtyři pyriformní pólové váčky umístěny u apexu spory, délka 2,4 \pm 0,1 (2,3–2,5) μm a šířka 1,3 \pm 0,3 (1,1–1,8) μm (n=3). Závitů pólového vlákna v pólových váčkách nepozorovány. Výrazně ornamentální povrch spor s celkem 8 povrchovými žebry (n=1). Vlásokovité výběžky na terminálním konci spory nepozorovány.

Molekulární data: Částečná SSU rDNA sekvence o délce 1392 bp ohraničena primery Myx1F/MX3.

Poznámky: *Chloromyxum* sp. z *Carcharhinus leucas* je tvarem a velikostí spor nejvíce podobné druhu *Chloromyxum kuhlii* Gleeson a Adlard, 2012 (11,4 \pm 0,3 μm x 8,8 \pm 0,3 μm),

kteře je popsane z trnuchy *Neotrygon kuhlii* (Müller a Henle, 1841). Tyto druhy myxozoi se vzájemně liší rozměry pólových váček, které jsou u *C. kuhlii* téměř dvakrát větší ($4,1 \pm 0,3 \mu\text{m} \times 2,8 \pm 0,1 \mu\text{m}$) (Gleeson a Adlard 2012, Eiras a kol. 2012, Tabulka 6). Navíc se oba druhy liší druhem hostitele a lokalitou nálezů (Lizard Island – typová lokalita a Moreton Bay – další lokalita, Austrálie u *C. kuhlii*). Na základě srovnání SSU rDNA sekvencí můžeme s jistotou říct, že se nejedná o stejné druhy, protože jejich sekvence (*C. kuhlii* Genbank: JN130375, JN130376) se liší 11,8 % na úseku dlouhém 1140 bp. Na základě srovnání dostupných SSU rDNA sekvenčních dat je *Chloromyxum* sp. z *C. leucas* nejvíc podobné nepopsanému druhu *Chloromyxum* sp. ze *Sphyrna tiburo* izolát ST3 (Genbank: MK937848) jejichž sekvence se na úseku dlouhém 862 bp shodují na 89,8 %.

***Chloromyxum* sp. ze *Sphyrna lewini* (Obrázky 8G–H)**

Hostitel: *Sphyrna lewini* (Griffith a Smith, 1834), kladivoun bronzový (Chondrichthyes, Selachimorpha, Carcharhiniformes).

Lokalita: Richards Bay, Jihoafrická republika.

Místo sporogonického vývoje: Žlučník – volně plovoucí stádia ve žluči (coelozoická lokalizace).

Prevalence infekce: 25,0 % (1/4).

Izolát: KZN 20.16.

Popis plasmodií: Tetrasporická nebo polysporická plasmodia oválná ($n=4$) nebo kulatá ($n=3$) o délce $22,5 \pm 16,2$ ($5,7\text{--}46,5$) μm a šířce $18,4 \pm 11,5$ ($5,7\text{--}33,7$) μm ($n = 7$).

Popis spor: Zralé myxospory subsférického tvaru s mírně zašpičatělým apexem, délka $11,0 \pm 0,8$ ($9,4\text{--}12,3$) μm a šířka $9,1 \pm 0,8$ ($7,7\text{--}10,5$) μm ($n=11$). Čtyři pyriformní pólové váčky umístěné u apexu spory, délka $3,5 \pm 0,8$ ($2,3\text{--}4,7$) μm a šířka $2,3 \pm 0,4$ ($1,5\text{--}3,0$) μm ($n=9$).

Vlákna v pólových váčkách stočená do 3–4 závitů ($n=4$). Vlásokovité výběžky na terminálním konci spory dlouhé $4,5\text{--}10,4$ μm ($n=2$). Celkem 7–10 jemných žeber na povrchu spory ($n=2$).

Molekulární data: Částečná SSU rDNA sekvence o délce 1477 bp ohraničena primery MyxospecF/18R.

Poznámky: Spory *Chloromyxum* sp. ze *Sphyrna lewini* velikostně odpovídají rozměrům spor udávaným pro *Chloromyxum levigatum* Jameson, 1931 popsané z polorejnoka *Squatina californica* Ayres, 1859 ($11,0\text{--}13,0 \mu\text{m} \times 8,0\text{--}10,0 \mu\text{m}$) (Jameson 1931, Tabulka 6). Druhy se liší povrchem spor (*C. levigatum* má spory hladké bez výběžků), druhem hostitele a lokalitou nálezů (vody u Severní Kalifornie u *C. levigatum*). V Genbank databázi nejsou pro *C. levigatum* dostupné žádné sekvence. Dále je nalezené *Chloromyxum* sp. ze *S. lewini* podobné *Chloromyxum mingazzini* Gleeson a Adlard, 2012 popsanému ze žraloka *Pristiophorus*

nudipinnis Günther, 1870, přičemž délka spor u obou druhů se překrývá a šířka spor *C. mingazzini* ($11,1 \pm 0,3 \mu\text{m} \times 8,8 \pm 0,3 \mu\text{m}$) je menší oproti *Chloromyxum* sp. ze *S. lewini*. Šířka i délka pólových váčků u spor *C. mingazzini* ($3,8 \pm 0,5 \mu\text{m} \times 2,7 \pm 0,2 \mu\text{m}$) je větší než u *Chloromyxum* sp. ze *S. lewini* (Eiras a kol. 2012, Gleeson a Adlard 2012, Tabulka 6). Oba druhy myxozoí se navíc liší druhem hostitele a lokalitou nálezu (Hobart, Tasmania u *C. mingazzini*). Sekvenčně jsou si izoláty *Chloromyxum* sp. ze *S. lewini* a *C. mingazzini* (JN130379) podobné na úseku dlouhém 1370 bp na 96,2 %. Na základě srovnání dostupných SSU rDNA sekvenčních dat je *Chloromyxum* sp. ze *S. lewini* téměř identické (99,5 % na úseku dlouhém 869 bp) s dosud nepopsaným druhem *Chloromyxum* sp. z *Poroderma pantherinum* (Genbank: MK937848). Tento druh má ovšem větší spory a větší pólové váčky (spora: $13,0 \pm 0,4 \mu\text{m} \times 11,3 \pm 0,8 \mu\text{m}$; pólové váčky: $4,6 \pm 0,3 \mu\text{m} \times 2,9 \pm 0,2 \mu\text{m}$; Lisnerová a kol. v přípravě) než nalezený druh (Tabulka 6).

Chloromyxum* sp. z *Raja straeleni (Obrázek 8I, J)

Hostitel: *Raja straeleni* (Poll, 1951), rejnok Straelenův (Chondrichthyes, Batoidea, Rajiformes).

Lokalita: Hawston, Jihoafrická republika.

Místo sporogonického vývoje: Žlučník – volně plovoucí stádia ve žluči (coelozoická lokalizace).

Prevalence infekce: 42,9 % (3/7).

Izolát: HE 19.2, HE 19.10, HE 19.11.

Popis plasmodií: Disporická oválná (n=12) a kulatá (n=4) plasmodia o délce $26,3 \pm 7,1$ (9,5–41,5) μm a šířka $27,5 \pm 7,0$ (8,9–37,5) μm (n = 16).

Popis spor: Zralé myxospory vejcovitého tvaru s výraznou čepičkovitou strukturou na anteriorním konci, délka $12,7 \pm 1,0$ (10,8–15,2 μm) a šířka $10,7 \pm 0,9$ (9,2–12,0 μm) (n=25).

Čtyři pyriformní pólové váčky umístěny u apexu spory, délka $3,8 \pm 0,7$ (2,8–5,3 μm) a šířka $2,7 \pm 0,5$ (2,0–3,8 μm) (n=17). Tři závitě pólového vlákna (n=12). Vlásokovité výběžky na terminálním konci spor dlouhé 1,5–5,4 μm (n=5). Celkem 7–8 výrazných žeber na povrchu spory (n=17).

Molekulární data: Kompletní SSU rDNA sekvence o délce 1668 bp ohraničena primery ERIB1/ERIB10 a získána z izolátů HE 19.2 a HE 19.10.

Poznámka: Ve žlučníku *R. straeleni* pocházejícího z vod u Západní Sahary byl dosud popsán druh *Chloromyxum schulmani* Kovaljova, 1988 (Kovaljova 1988). Druhy jsou si kromě stejného druhu hostitele podobné rozměry pólových váčků (*C. schulmani* 3,2–4,5 x 2,0–2,6 μm) a výrazným povrchem spor s terminálními vláskovitými výběžky. *C. schulmani* má ovšem

mnohem vyšší počet žeber na povrchu spor (13) a menší spory (9,7–10,6 x 6,7–8,0 μm) (Eiras a kol. 2012, Tabulka 6). V GenBank databázi nejsou pro *C. schulmani* k dispozici žádné sekvenční údaje pro srovnávací analýzu. Spory *Chloromyxum* sp. z *R. straeleni* jsou dále rozměrově podobné druhu *Chloromyxum lissosporum* Kovaljova, 1988 z polorejnoka *Squatina oculata* Bonaparte, 1840, přičemž *C. lissosporum* má spory o něco užší než nalezené *Chloromyxum* a jeho spory nenesou vláskovité výběžky. Délka pólových váčků *C. lissosporum* (5,3–5,6 μm x 3,5–4,0 μm) je větší, ale šířka pólových váčků obou druhů je podobná (Eiras 2012, Tabulka 6). Tyto druhy myxosporeí se dále liší druhem hostitele a lokalitou nálezu (*C. lissosporum* z vod u Republiky Guinea Bissau). V GenBank databázi nejsou pro *C. lissosporum* k dispozici žádné sekvenční údaje pro srovnávací analýzu. Na základě srovnání dostupných SSU rDNA dat je *Chloromyxum* sp. z *R. straeleni* nejvíce sekvenčně podobné rejnočímu izolátu *Chloromyxum leydingi* Mingazzini, 1890 (GenBank: AY604199; 98,4 % na úseku dlouhém 1342 bp) a *Chloromyxum mahdoinsis* (GenBank: MN953427; 98,2 % na úseku dlouhém 1342 bp). Publikace s popisem *C. mahdoinsis* pro srovnání s morfologií našeho nálezu zatím není k dispozici a rozměry pro izolát *C. leydingi* z rejnoka *Torpedo marmorata* Risso, 1810 nejsou v publikaci udány (Fiala a Dyková 2004).

***Chloromyxum* sp. z *Carcharias taurus* (Obrázek 8K)**

Hostitel: *Carcharias taurus* Rafinesque, 1810, žralok písečný (Chondrichthyes, Selachimorpha, Carcharhiniformes).

Lokalita: Durban, Jihoafrická republika.

Místo sporogonického vývoje: Žlučník – volně plovoucí stádia ve žluči (coelozoická lokalizace).

Prevalence infekce: 100,0 % (1/1).

Izolát: KZN 20.24.

Popis plasmodií: Polysporická plasmodia oválná (n=3) nebo kulatá (n=2) o délce $43,4 \pm 14,7$ (18,5–64,8) μm a šířce $42,7 \pm 12,2$ (23,9–61,4) μm (n=5).

Popis spor: Myxospory subsférického tvaru s mírně zašpičatělým koncem, zralé spory délky $9,5 \pm 0,8$ (8,7–10,3) μm a šířky $8,4 \pm 0,8$ (8,2–8,6) μm (n=2), nezralé spory délky $10,3 \pm 0,7$ (9,0–11,6) μm a šířky $9,2 \pm 0,5$ (8,5–9,9) μm (n=11). Čtyři pyriformní pólové váčky umístěny u apexu spory. Pólové váčky zralých spor – délka $2,7 \pm 0,2$ (2,5–2,8) μm a šířka $2,1 \pm 0,1$ (1,9–2,2) μm (n=2), pólové váčky nezralých spor – délka $2,5 \pm 0,6$ (1,8–3,3) μm a šířka $1,8 \pm 0,4$ (1,4–2,4) μm (n=11). Celkem tři závitý pólových váčků (n=2). Celkem 7 výrazných žeber na povrchu spory (n=1). Vlaskovité výběžky na terminálním konci spory o délce 2,0 μm (n=1).

Molekulární data: Částečná SSU rDNA sekvence o délce 1369 bp ohraničena primery

Myx1F/MX3.

Poznámky: Spory *Chloromyxum* sp. z *Carcharias taurus* se nejvíce podobají *C. schulmani*, přičemž délka spor obou druhů je odpovídající, ale jejich šířka je u *C. schulmani* menší (9,7–10,6 μm x 6,7–8,0 μm). Šířka pólových váčku u obou druhů se překrývá, ale jejich délka je *C. schulmani* větší (3,2–4,5 μm x 2,0–2,6 μm) (Kovaljova 1988, Eiras a kol. 2012, Tabulka 6). Tyto druhy myxosporeí se navíc liší druhem hostitele (*R. straeleni*) a lokalitou nálezů (vody poblíž Západní Sahary). V GenBank databázi nejsou pro *C. schulmani* k dispozici žádné sekvenční údaje pro srovnávací analýzu. Na základě srovnání dostupných SSU rDNA sekvenčních dat je *Chloromyxum* sp. z *C. taurus* téměř identické (99,5 % na úseku dlouhém 1354 bp) s dosud nepopsaným druhem *Chloromyxum* sp. z *Mustelus mustelus* (izolát HE18.11), přičemž morfologie jejich spor je také velmi podobná (spora: SP $1,0 \pm 0,7 \mu\text{m}$ x $8,8 \pm 0,4 \mu\text{m}$, pólové váčky: $2,2 \pm 0,4 \mu\text{m}$; Lisnerová a kol. v přípravě, Tabulka 6).

6. Diskuze

V této práci byla zkoumána diverzita a fylogeneze myxozoí ve starobylých skupinách obratlovců (mihule, paryby, úhoři, jeseteři, bichiři a bichirci) – nejpravděpodobnějších ancestrálních mezihostitelích této skupiny parazitů. Celkem bylo nalezeno osm druhů myxozoí, přičemž šest jich pocházelo z paryb, jeden z úhoře říčního a jeden z mihule potoční. Vzorky z bichirů, bichirků a jeseterů byly na Myxozoa negativní.

Výsledky bakalářské práce potvrdily, že nejčastěji se vyskytujícím rodem myxozoí u paryb je *Chloromyxum*. V rámci tohoto rodu bylo detekováno pět, nejpravděpodobněji, nových druhů. Tyto druhy vykazovaly typickou morfologii pro daný rod, a to subsférické spory se čtyřmi pólovými váčky, přičemž u některých druhů byly pozorovány na terminálním konci spor vláskovité výběžky. Takové výběžky se vyskytují jen u druhů infikujících paryby, u druhů popsanych ze sladkovodních ryb a obojživelníků se takové výběžky nevyskytují (Eiras a kol. 2012). Jak se dalo předpokládat na základě známých trendů v klastrování myxozoí, nově nalezené druhy z tohoto rodu se seskupily uvnitř *Chloromyxum sensu stricto* kladu sjednocujícího druhy výhradně z paryb. V rámci této skupiny nově nalezené druhy u žraloků klastrovaly s druhy rovněž izolovanými ze žraločích hostitelů a podobný trend byl pozorován u druhů nalezených u rejnoků. Při hlubším prozkoumání jednotlivých podskupin uvnitř *Chloromyxum sensu stricto* kladu bylo ovšem nalezeno několik výjimek tohoto trendu v klastrování, které mohou být vysvětleny hostitelskými přeskoky v průběhu evoluce (Holzer a kol. 2018, Lisnerová a kol. 2020). Další alternativou může být skutečnost, že některé druhy rodu *Chloromyxum* nejsou striktně hostitelsky specifické (jeden druh může infikovat jak

rejnocka tak i žraloka, ovšem sekvenční data pochází jenom z jednoho z nich). Druhou hypotézu potvrzují nálezy typového druhu *C. leydigi* u 21 druhů paryb zahrnujících žraloky i rejnoky (shrnuto v Gleeson a Adlard 2012, Rocha a kol. 2014), i když se nedá vyloučit, že *C. leydigi* je komplexem druhů (Atkinson a kol. 2015, Cantatore a kol. 2018). O tom svědčí i existence dvou odlišných sekvencí pro izoláty *C. leydigi* ze žraloka a rejnoka (Obrázek 10, kapitola 5.2.). Nově nalezený druh *Ceratomyxa* ze žraloka *G. cuvier* (jedince měřícího 17,3 m a vážícího 34 kg) se seskupil s ostatními druhy stejného rodu myxosporeí ze žraloků. Morfologická a morfometrická charakteristika nově nalezeného druhu, jehož spory dosahují tloušťky až kolem 53 μm , potvrdila pozorování Lisnerové a kol. (v revizi). Tito autoři zjistili, že druhy rodu *Ceratomyxa* mají u paryb, a obecně u ryb s velkými rozměry těla, spory větších rozměrů než u ryb s malými rozměry těla. To může být způsobeno tím, že tyto jejich obratlovčí hostitelé žijí ve větší hloubce, kde na ně působí vyšší tlak a zvýšená hustota vody. Aby mohly spory klesnout ke dnu a nakazit definitivního hostitele (pravděpodobně mnohoštětinatce) musí mít takové druhy spory větší/těžší (Lisnerová a kol. v revizi).

Nálezy malakosporeí u úhořů a mihulí v rámci bakalářské práce jsou naprosto unikátní a převratné. I když se Malacosporea u ryb vyskytují poměrně často, převážná většina nálezů těchto parazitů pochází z odvozenějších linií paprskoploutvých ryb (lososovité, kaprovité, okounovité ryby) (Grabner a El-Matbouli 2010, Bartošová-Sojková a kol. 2014, Patra a kol. 2017, Naldoni a kol. 2019, Naldoni a kol. 2020). U evolučně starobylých skupin obratlovců existují jenom dva záznamy malakosporeí (Mori a kol. 2000, Naldoni a kol. 2020). U mihulí se za jediný pravděpodobný nález této skupiny parazitů dá považovat již v úvodu zmiňovaný druh (Mori a kol. 2000), jehož časná vývojová stádia svou morfologií a přítomností sporoplasmozomů na svém povrchu nápadně připomínají Malacosporea (Canning a kol. 2007, Feist a kol. 2015). Popis druhu a molekulární charakterizace tohoto parazita ovšem chybí. Nově nalezený druh malakosporea u mihule potoční se v této bakalářské práci povedlo zachytit nejen pomocí PCR, ale i mikroskopicky pozorováním sporogonických stádií parazita v ledvinách hostitele. Proto se domnívám, že se může jednat o skutečného hostitele daného druhu Malacosporea, který je součástí životního cyklu parazita. Tento komplexní cyklus dále zahrnuje produkci laločnatých stádií s malakosporami uvnitř tělové dutiny mechovek rodu *Fredericella* (*F. sultana*, *F. indica*, Hartikainen a kol. 2014). Vzhledem k tomu, že mihule jsou jedny z nejbazálnějších skupin obratlovců a nově nalezený druh parazita klastruje na bázi všech malakosporeí, může jeho životní cyklus v důsledku koevoluce hostitele a parazita (Holzer a kol. 2018) představovat jeden z nejstarších životních cyklů myxozoí, který se zachoval až do současnosti.

PCR detekce druhu *B. allmani* u úhoře říčního z Itálie je rovněž zajímavá, jelikož úhoři jsou jedna ze starobylých bazálních linií kostnatých ryb. V Itálii (lokalita Lago di Piediluco) byl tento druh parazita již zaznamenán (Hill a Okamura 2007), a to u jeho definitivního hostitele *L. crystallinus* (Canning a kol. 2007), jenž je běžně se vyskytující druh mechovky s areálem rozšíření sahajícím od východní nearktické oblasti až po západní palearkt včetně Itálie (Ceccagnoli a kol. 1997, Elia a kol. 2001). Dá se předpokládat, že úhoři mohou představovat chybějící pojitko v pradávném a dosud zachovalém vývojovém cyklu *B. allmani*. Pro ověření této hypotézy je ale v budoucnu zapotřebí doplnit tyto poznatky založené na molekulárních datech o chybějící mikroskopické nálezy sporogonických vývojových stádií parazita v úhořích, a také o experimentální důkaz kompletnosti životního cyklu pomocí přenosových studií (ryba – mechovka a mechovka – ryba). To rovněž platí o nálezu druhu *Malacosporea* u mihule potoční, u kterého je zapotřebí získat dokumentaci s průkaznějším pozorováním spor v ledvinách hostitele a provést přenosové studie. Vzhledem k tomu, že doposud byly životní cykly potvrzeny u nízkého počtu druhů malakosporeí (*B. plumatellae*, *T. bryosalmonae* a *T. vermiformis*) (Morris a Adams 2006, Fiala a kol. 2015a, Patra a kol. 2017), by rozpoznání a následné potvrzení dalších cyklů zásadně obohatilo znalosti o biologii této skupiny parazitů. Je zajímavé, že druh *B. allmani* nově nalezený u úhoře říčního se ve fylogenetické analýze seskupil s druhem, jenž byl detekován u sladkovodního rejnoka *P. motoro* a u různých druhů kostnatých ryb (Naldoni a kol. 2020) a dále klastroval s druhem stejného rodu zachyceným u kaprovitých ryb (Bartošová-Sojková a kol. 2014). Tím se uvnitř malakosporeí vytvořila skupina druhů rodu *Buddenbrockia* parazitujících ve sladkovodním prostředí u evolučně starobylých i odvozenějších skupin ryb a u mechovek (Obrázek 11). Bohužel, u všech těchto nálezů se jednalo o PCR detekci DNA parazitů v ledvinách ryb, mikroskopická pozorování vývoje parazitů chybí. Vzhledem k neexistujícím důkazům o tom, že se jedná o jejich skutečné hostitelé a k nízkému počtu sekvenčních dat druhů ze starobylých hostitelů uvnitř dané fylogenetické skupiny se nedají vytvořit jakékoliv závěry o evoluční historii této konkrétní skupiny parazitů.

Vzhledem k negativním výsledkům vyšetřovaných paryb zůstává nevyjasněno, jestli životní cykly malakosporeí probíhají výlučně ve sladkovodním prostředí, jak bylo zdokumentováno u všech dosud nalezených druhů, nebo jestli existují i druhy cirkulující v mořích. Nálezy malakosporeím podobných červovitých stádií u mořských mechovek (*Beania magellanica*, *Camptoplites giganteus*, *Notoplites drygalski*, *Notoplites vanhoffeni*, *Notoplites tenuis* a *Menipea flagellifera*) z moří kolem Falkland a patagonského pobřeží (Hastings 1943) naznačují, že tato možnost existuje. Navíc většinu diverzity mechovek tvoří mořské druhy

(Gordon 1999) a společný předek mechovek třídy Phylactolaemata – cílové hostitelské skupiny malakosporeí se vyvinul v mořském prostředí a až sekundárně vstoupil do sladkých vod (Koletic a kol. 2015). Otázkou je, jestli takové mořské životní cykly pořád existují, nebo jestli probíhaly jen u vymřelých skupin mořských mechovek, jak naznačují Holzer a kol. (2018).

Výsledky bakalářské práce potvrdily původní hypotézy, v nichž se předpokládalo zjištění nejvyšší druhové diverzity a prevalence infekce myxozoi u paryb a úhořů. Druhy rodů *Chloromyxum* a *Ceratomyxa* nově zjištěné u paryb opravdu klastrovaly v rámci linií definovaných příslušností myxozoi k této skupině obratlovců a nemísily se s druhy zjištěnými u paprskoploutvých ryb. Podobně, dosud nepopsaný druh *Malacospora* nalezen u mihule potoční reprezentoval samostatnou bazální linii všech malakosporeí. Druh *B. allmani* detekován u úhoře říčního se umístil ve skupině uvnitř fylogenetického stromu a klastroval společně s druhy nalezenými u dalších evolučně odvozenějších paprskoploutvých ryb.

Důvodem pro v literatuře úplně chybějící nebo málo frekvencovaná pozorování myxozoi u všech mnou studovaných skupin obratlovců je nejspíš fakt, že tyto druhy ryb obvykle nebývají předmětem detailních studií diverzity této skupiny parazitů. Dalším důvodem může být obtížnost získávání vzorků těchto obratlovců vzhledem k jejich vysokému stupni ohrožení (Dulvy a kol. 2014, IUCN 2021). Východiskem v budoucnu může být zkoumání diverzity druhů myxozoi pomocí neinvazivních molekulárních metod jako jsou např. metabarcoding environmentální DNA (eDNA), kdy se DNA vývojových stádií parazita detekuje pomocí molekulárních metod v prostředí (v případě myxozoi ve vodě a sedimentu) a není zapotřebí rybu usmrtit (Hartikainen a kol. 2016, Alama-Bermejo a Holzer 2021). Takové metody mají ovšem řadu nevýhod spojených s potřebou filtrace ohromného množství vody/sedimentu, dizajnu velice účinných PCR primerů a chybějícími daty o morfologii parazita a jeho vývoji v hostiteli. Dalším důvodem poměrně nízkého počtu existujících záznamů je skutečnost, že životní stadia myxozoi jsou poměrně malá a v orgánech/tkáních se ne vždy povede zachytit spory (stadia nesoucí dostatek morfologické informace pro detekci druhu). Navíc plasmodia některých druhů jsou vzhledem k jejich hyalinnímu vzhledu těžce rozlišitelná, proto mohou v mikroskopu lehce uniknout pozornosti. Z těchto důvodů je nutné každý, i mikroskopicky negativní, vzorek podrobit Myxozoa-specifickému PCR skríninku – metodě, která v minulosti nebyla využívána. Dalšími důvody pro nízký počet druhů myxozoi identifikovaných u evolučně starobylých skupin obratlovců, nejen v minulosti, ale i v rámci této práce může být sezónnost výskytu parazita, jenž se v hostiteli vyvíjí pouze v určité části roku (Hendrickson a kol. 1989, Holzer a kol. 2005). Další příčinou může být chybějící výskyt myxozoi na

studovaných lokalitách např. v důsledku nevyhovujících podmínek prostředí nebo nepřítomnosti definitivního hostitele na lokalitě vzorkování/odchytu. Kromě nedostatečně probádané diverzity myxozoi ve starobylých liniích obratlovců může být dalším významným faktorem obecně nízká druhová rozmanitost této skupiny parazitů ve zmiňovaných obratlovcích jako následek nižší diverzifikace u jejich ancestrálních hostitelů, která probíhala explozivně až u evolučně pokročilejších skupin kostnatých ryb (např. Salmoniformes, Perciformes, Cypriniformes) (Holzer a kol. 2018).

7. Souhrn výsledků

- Z celkového počtu 257 vzorků 123 jedinců vyšetřených mihulí, paryb a paprskoploutvých ryb bylo u 17 jedinců zaznamenáno 8 druhů myxozoi patřících do rodů *Chloromyxum* (5 druhů), *Ceratomyxa* (1 druh), *Buddenbrockia* (1 druh) a blíže neurčeného rodu v rámci skupiny Malacosporea (1 druh).
- Morfologická a morfometrická data byla získána pro sedm druhů a SSU rDNA sekvence byly amplifikovány pro všech osm nálezů myxozoi.
- Druhy rodů *Chloromyxum* a *Ceratomyxa* nalezené ve žlučnicích paryb klastrovaly ve fylogenetických stromech v samostatných liniích s dalšími druhy stejného rodu infikující paryby.
- *Buddenbrockia allmani* z úhoře se seskupila s izoláty tohoto druhu z mechovky křišťálové. Blíže neurčený druh Malacosporea nalezený u mihule potoční reprezentuje první nález této skupiny myxozoi u obratlovců mimo paprskoploutvé ryby. Tento druh se umístil v samostatné linii na bázi všech malakosporeí spolu s téměř totožnými izoláty parazita z mechovek rodu *Fredericella*. U obou nalezených druhů malakosporeí se může jednat o objev chybějících pojítek komplexních, evolučně pradávných (ale pořád existujících), životních cyklů těchto parazitů.
- K již popsanému druhu byl přiřazen pouze nález *B. allmani* v úhoři říčním. Vzhledem k tomu, že se zbylé nálezy neshodují s existujícími druhy, se pravděpodobně jedná o nové druhy myxozoi, jejichž formální popisy budou provedeny v rámci plánovaných publikací.

8. Závěr

Tato práce přispěla k hlubšímu poznání diverzity a fylogeneze myxozoi ve studovaných starobylých liniích studenokrevných obratlovců, kteří se považují za ancestrální mezihostitele této skupiny parazitů. Poznatky získané v rámci bakalářské práce poskytují cenný soubor dat využitelný při budoucích kofylogenetických analýzách zaměřených na studium koevoluce

myxozoi a jejich hostitelů. I když je procento nalezených druhů poměrně nízké, tyto nálezy představují evolučně a morfologicky velice zajímavé druhy. Na základě výsledků bakalářské práce se dá říct, že má význam pokračovat ve výzkumu diverzity myxozoi ve studovaných skupinách hostitelů. Zároveň může být přínosné rozšířit seznam vzorků o doposud neprozkoumané a málo prozkoumané skupiny hostitelů myxozoi např. sladkovodní paryby, sliznatky a chiméry.

9. Seznam použité literatury

Alama-Bermejo, G., Jirků, M., Kodádková, Pecková, H., Fiala, I., Holzer, A.S., 2016. Species complexes and phylogenetic lineages of *Hoferellus* (Myxozoa, Cnidaria) including revision of the genus: A problematic case for taxonomy. *Parasites & Vectors*, 9, 13.

Alama-Bermejo, G., Holzer, A.S., 2021. Advances and Discoveries in Myxozoan Genomics. *Trends in Parasitology*, 19, 1471–4922.

Amaral, C.R.L., Pereira, F., Silva, D.A., Amorim, A., de Carvalho, E.F., 2018. The mitogenomic phylogeny of the Elasmobranchii (Chondrichthyes). *Mitochondrial DNA part A*, 29, 867–878.

Andree, K.B., MacConnell, E., Hedrick, R.P., 1998. A nested polymerase chain reaction for the detection of genomic DNA of *Myxobolus cerebralis* in rainbow trout *Oncorhynchus mykiss*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 34, 145–154.

Asahida, T., Kobayashi, T., Saitoh, K., Nakayama, I., 1996. Tissue preservation and total DNA extraction from fish stored at ambient temperatures using buffers containing urea. *Fisheries Science*, 62, 727–730.

Atkinson, A.S., Bartošová-Sojková, P., Whipps, C.M., Bartholomew, J.L., 2015. Approaches for Characterising Myxozoan Species. Within the Myxozoa. In: Okamura, B., Gruhl, A., Bartholomew, J.L. (Eds.). *Myxozoan Evolution, Ecology and Development*. Springer International Publishing, Cham, pp. 11–123.

Atkinson, S.D., Bartholomew, J.L., Lotan, T., 2018. Myxozoans: Ancient metazoan parasites find a home in phylum Cnidaria. *Zoology*, 129, 66–68.

Awerinzew, S., 1913. Ergebnisse der Untersuchungen über parasitische Protozoen der tropischen Region Afrikas. *Zoologischer Anzeiger*, 42, 151–156.

Azevedo, C., Casal, G., Garcia, P., Matos, P., Teles-Grilo, L., Matos, E., 2009. Ultrastructural and phylogenetic data of *Chloromyxum riorajum* sp. nov. (Myxozoa), a parasite of the stingray *Rioraja agassizii* in Southern Brazil. *Diseases of Aquatic Organisms*, 85, 41–51.

- Barta, J.R., Martin, D.S., Liberator, P.A., Dashkevich, M., Anderson, J.W., Feighner, S.D., Elbrecht, A., Perkins-Barrow, A., Jenkins, M.C., Danforth, H.D., Ruff, M.D., Profous-Juchelka, H., 1997. Phylogenetic relationships among eight *Eimeria* species infecting domestic fowl inferred using complete small subunit ribosomal DNA sequences. *Journal of Parasitology*, 83, 262–271.
- Bartošová-Sojtková, P., Hrabcová, M., Pecková, H., Patra, S., Kodádková, A., Jurajda, P., Tým, T., Holzer, A.S., 2014. Hidden diversity and evolutionary trends in malacosporean parasites (Cnidaria: Myxozoa) identified using molecular phylogenetics. *International Journal for Parasitology*, 44, 565–577.
- Bauer, O.N., Pugachev, O.N., Voronin, V.N., 2002. Review Study of parasites and diseases of sturgeons in Russia: a review. *Journal of Applied Ichthyology*, 18, 420–429.
- Bemis, W.E., Kynard, B., 1997. Sturgeon rivers: An introduction to Acipenseriform biogeography and life history. *Environmental Biology of Fishes*, 48, 167–184.
- Betancur-R, R., Broughton, R.E., Wiley, E.O., Carpenter, K., López, J.A., Li, C., Holcroft, N.I., Arcila, D., Sanciangco, M., Cureton, J.C., Zhang, F., Buser, T., Campbell, M.A., Ballesteros, J.A., Roa-Varon, A., Willis, S., Borden, W.C., Rowley, T., Reneau, P.C., Hough, D.J., Lu, G., Grande, T., Arratia, G., Ortí, G., 2013. The Tree of Life and a New Classification of Bony Fishes. *Public Library of Science Currents*, 5.
- Budgett, J.S., 1900. Observations on *Polypterus* and *Protopterus*. *Proceedings of the Cambridge Philosophical Society*, 10, 236–240.
- Bütschli, O., 1882. Myxosporidia. In: Bronn's Klassen und Ordnungen des Tierreichs. 1. Protozoa, Second Edition. C.F. Winter, pp. 590–603.
- Canning, E.U., Curry, A., Feist, Stephen, Longshaw, M., Okamura, B., 1998. *Tetracapsula bryosalmonae* n. sp. for PKX organism, the cause of PKD in salmonid fish. *Bulletin of the European Association of Fish Pathologists*, 199, 203–206.
- Canning, E.U., Curry, A., Hill, S.L., Okamura, B., 2007. Ultrastructure of *Buddenbrockia allmani* n. sp. (Myxozoa, Malacosporea), a parasite of *Lophopus crystallinus* (Bryozoa, Phylactolaemata). *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 54, 247–62.
- Cantatore, D. M. P., Irigoitia, M. M., Holzer, A. S., Bartošová-Sojtková, P., Pecková, H., Fiala, I., Timi, J. T., 2018. The description of two new species of *Chloromyxum* from skates in the Argentine Sea reveals that a limited geographic host distribution causes phylogenetic lineage separation of myxozoans in Chondrichthyes. *Parasite*, 25, 47.

- Ceccagnoli, D., Minelli, A., Moroni, M., Taticchi, M.I., 1997. Monthly variations of 5' nucleotidase in *Lophopus crystallinus*, a freshwater bryozoan. *Journal of Zoology*, 64, 131–134.
- Davis, H.S., 1917. Myxosporidia of the Beaufort region, a systematic and biologic study. *U.S. Bureau of Fisheries Bulletin*, 35, 199–243.
- Dulvy, N.K., Fowler, S.L., Musick, J.A., Cavanagh, R.D., Kyne, P.M., Harrison, L.R., Carlson, J.K., Davidson, L.N., Fordham, S.V., Francis, M.P., Pollock, C.M., Simpfendorfer, C.A., Burgess, G.H., Carpenter, K.E., Compagno, L.J., Ebert, D.A., Gibson, C., Heupel, M.R., Livingstone, S.R., Sanciangco, J.C., Stevens, J.D., Valenti, S., White, W.T., 2014. Extinction risk and conservation of the world's sharks and rays. *Elife*, 21, e00590.
- Dzido, J., Rolbiecki, L., Izdebska, J.N., Bednarek, R., 2020. Checklist of the parasites of European eel *Anguilla anguilla* (Linnaeus, 1758) (Anguillidae) in Poland. *Biodiversity Data Journal*, 8, e52346.
- Eiras, J.C., Molnár, K., Lu, Y.S., 2005. Synopsis of the species of *Myxobolus* Bütschli, 1882 (Myxozoa: Myxosporidia: Myxobolidae). *Systematic Parasitology*, 61, 1–46.
- Eiras, J.C., 2006. Synopsis of the species of *Ceratomyxa* Thélohan, 1892 (Myxozoa: Myxosporidia: Ceratomyxidae). *Systematic Parasitology*, 65, 49–71.
- Eiras, J.C., Saraiva, A., Cruz, C.F., Santos, M.J., Fiala, I., 2011. Synopsis of the species of *Myxidium* Bütschli, 1882 (Myxozoa: Myxosporidia: Bivalvulida). *Systematic Parasitology*, 80, 81.
- Eiras, J.C., Lu, Y.S., Gibson, D.I., Fiala, I., Saraiva, A., Cruz, C., Santos, M.J., 2012. Synopsis of the species of *Chloromyxum* Mingazinni, 1890 (Myxozoa: Myxosporidia: Chloromyxidae). *Systematic Parasitology*, 83, 203–25.
- Elia, A.C., Taticchi, M.I., Ludovisi, S.A., 2001. Study of seasonal variations of glutathione and detoxification enzyme in *Lophopus crystallinus* Pallas (Bryozoa) from Lake Piediluco (Umbria, Italy). *Journal of Zoology*, 68, 291–297.
- Emery, C., 1909. I missosporidii sono Protozoi? *Monitore Zoologico Italiano*, 22, 247.
- Eszterbauer, E., Atkinson, S., Diamant, A., Morris, D., El-Matbouli, M., Hartikainen, H., 2015. Myxozoan Life Cycles: Practical Approaches and Insights. In: Okamura, B., Gruhl, A., Bartholomew, J.L. (Eds.). *Myxozoan Evolution, Ecology and Development*. Springer International Publishing, Cham, pp. 175–198.

- Evans, T.M., Janvier, P., Docker, M.F., 2018. The evolution of lamprey (Petromyzontida) life history and the origin of metamorphosis. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 28, 825–838.
- Feist, S.W., Morris, D.J., Alama-Bermejo, G., Holzer, A.S., 2015. Cellular Processes in Myxozoans. In: Okamura, B., Gruhl, A., Bartholomew, J.L. (Eds.). *Myxozoan Evolution, Ecology and Development*. Springer International Publishing, Cham, pp. 139–154.
- Ferenc, B., 1990. *Chloromyxum inexpectatum* n. sp. and *Sphaerospora colomani* n. sp. (Myxozoa: Myxosporea), parasites of the urinary system of the sterlet, *Acipenser ruthenus* L. *Systematic Parasitology*, 16, 185–193.
- Fernholm, B., 1998. Hagfish systematics. In: Jørgensen, J.M., Lomholt, J.P., Weber R.E., Malte, H. (Eds.) *The biology of hagfishes*. Chapman & Hall, London, pp. 33–44.
- Fiala, I., Dyková, I., 2004. The phylogeny of marine and freshwater species of the genus *Chloromyxum* Mingazzini, 1890 (Myxosporea: Bivalvulida) based on small subunit ribosomal RNA gene sequences. *Folia Parasitologica*, 51, 211–214.
- Fiala, I., 2006. The phylogeny of Myxosporea (Myxozoa) based on small subunit ribosomal RNA gene analysis. *International Journal for Parasitology*, 36, 1521–1534
- Fiala, I., Bartošová-Sojková, P., Okamura, B., Hartikainen, H., 2015a. Adaptive Radiation and Evolution Within the Myxozoa. In: Okamura, B., Gruhl, A., Bartholomew, J.L. (Eds.). *Myxozoan Evolution, Ecology and Development*. Springer International Publishing, Cham, pp. 69–84.
- Fiala, I., Bartošová-Sojková, P., Whipps, C.M., 2015b. Classification and Phylogenetics of Myxozoa. In: Okamura, B., Gruhl, A., Bartholomew, J.L. (Eds.). *Myxozoan Evolution, Ecology and Development*. Springer International Publishing, Cham, pp. 85–110.
- Foxx, J., Siddall, M.E., 2015. The Road To Cnidaria: History of Phylogeny of the Myxozoa. *Journal of Parasitology*, 101, 369–274.
- Freeman, M.A., Shinn, A.P., 2011. Myxosporean hyperparasites of gill monogeneans are basal to the Multivalvulida. *Parasites & Vectors*, 4, 220.
- Freeman, M.A., Kristmundsson, Á., 2015. Histozoic myxosporeans infecting the stomach wall of elopiform fishes represent a novel lineage, the Gastromyxidae. *Parasites & Vectors*, 8, 517.
- Freeman, M.A., Kristmundsson, Á., 2018. Studies of *Myxidium giardi* Cépède, 1906 infections in Icelandic eels identifies a genetically diverse clade of myxosporeans that represents the *Paramyxidium* n. g. (Myxosporea: Myxidiidae). *Parasites & Vectors*, 11, 551.

- Fujita, T., 1929. The skin-disease of the eel. *Annotationes Zoologicae Japonenses*, 12, 245–250.
- Gioia, I., Cordeiro, N.S., 1996. Brazilian Myxosporidians checklist (Myxozoa). *Acta Parasitologica*, 35, 137–149.
- Gleeson, R.J., Adlard, R.D., 2011. Morphological and genetic analysis of three new species of *Ceratomyxa* Thélohan, 1892 (Myxozoa: Myxosporea) from carcharhinid sharks off Australia. *Systematic Parasitology*, 80, 117.
- Gleeson, R.J., Adlard, R.D., 2012. Phylogenetic relationships amongst *Chloromyxum* Mingazzini, 1890 (Myxozoa: Myxosporea), and the description of six novel species from Australian elasmobranchs. *Parasitology International*, 61, 267–274.
- Gordon, D.P., 1999. Bryozoan diversity in New Zealand and Australia. In: Ponder, W., Lunney, D. (Eds). *The Other 99%. The Conservation and Biodiversity of Invertebrates*. Transactions of the Royal Zoological Society of New South Wales, Mosman, pp. 199–204.
- Grabner, D.S., El-Matbouli, M., 2010. Experimental transmission of malacosporean parasites from bryozoans to common carp (*Cyprinus carpio*) and minnow (*Phoxinus phoxinus*). *Parasitology*, 137, 4, 629–639.
- Grassé, P.P., 1970. Embranchement des Myxozoaires. In: Grassé, P.P., Poisson, R.A., Tuzet, O. (Eds.). *Précis de Zoologie 1, Invertébrés*. Second Edition. Mason et Cie, Paris, pp. 107–112.
- Gruhl, A., Okamura, B., 2012. Development and myogenesis of the vermiform *Buddenbrockia* (Myxozoa) and implications for cnidarian body plan evolution. *Evodevo*, 3, 10.
- Hallett, S.L., Diamant, A., 2001. Ultrastructure and small-subunit ribosomal DNA sequence of *Henneguya lesteri* n. sp. (Myxosporea), a parasite of sand whiting *Sillago analis* (Sillaginidae) from the coast of Queensland, Australia. *Diseases of Aquatic Organisms*, 46, 197–212.
- Hallett, S.L., Atkinson, S.D., Bartholomew, J.L., Székely, C., 2015. Myxozoans Exploiting Homeotherms. In: Okamura, B., Gruhl, A., Bartholomew, J.L. (Eds.). *Myxozoan Evolution, Ecology and Development*. Springer International Publishing, Cham, pp. 125–133.
- Hartigan, A., Fiala, I., Dyková, I., Rose, K., Phalen, D., Šlapeta, J., 2012. New species of Myxosporea from frogs and resurrection of the genus *Cystodiscus* Lutz, 1889 for species with myxospores in gallbladders of amphibians. *Parasitology*, 139, 478–496.

- Hartikainen, H., Gruhl, A., Okamura, B., 2014. Diversification and repeated morphological transitions in endoparasitic cnidarians (Myxozoa: Malacosporea). *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 76, 261–269.
- Hartikainen, H., Bass, D., Briscoe, A.G., Knipe, H., Green, A.J., Okamura, B., 2016. Assessing myxozoan presence and diversity using environmental DNA. *International Journal for Parasitology*, 46, 781–792.
- Hastings, A.B., 1943. Polyzoa (Bryozoa). 1. Scrupocellariidae, Epistomiidae, Farciminariidae, Bicellariellidae, Aeteidae, Scrupariidae. *Discovery Reports*, 32, 301–510.
- Hendrickson, G.L., Carleton, A., Manzer, D., 1989. Geographic and seasonal distribution of the infective stage of *Ceratomyxa shasta* (Myxozoa) in northern California. *Diseases of Aquatic Organisms*, 7, 165–169.
- Hill, S., Okamura, B., 2007. Endoparasitism in colonial hosts: Patterns and processes. *Parasitology*, 134, 841–852.
- Hillis, D.M., Dixon, M.T., 1991. Ribosomal DNA: molecular evolution and phylogenetic inference. *The Quarterly Review of Biology*, 66, 411–453.
- Hine, P.M., 1975. Three new species of *Myxidium* (Protozoa: Myxosporidia) parasitic in *Anguilla australis* Richardson, 1848 and *A. dieffenbachii* Gray, 1842 in New Zealand. *Journal of the Royal Society of New Zealand*, 5, 153–161.
- Hine, P.M., 1980. A Review of Some Species of *Myxidium* Bütschli, 1882 (Myxosporea) From Eels (*Anguilla* spp.). *The Journal of Protozoology*, 27, 260–267.
- Holzer A.S., Sommerville C., Wootten R., 2004. Molecular relationships and phylogeny in a community of myxosporeans and actinosporeans based on their 18S rDNA sequences. *International Journal for Parasitology*, 34, 1099–1111.
- Holzer A.S., Sommerville C., Wootten R., 2005. Molecular studies on the seasonal occurrence and development of five myxozoans in farmed *Salmo trutta* L. *Parasitology*, 132, 193–205.
- Holzer, A.S., Hartigan, A., Patra, S., Pecková, H., 2014. Molecular fingerprinting of the myxozoan community in common carp suffering Swim Bladder Inflammation (SBI) identifies multiple etiological agents. *Parasites & Vectors*, 7, 398.
- Holzer, A.S., Bartošová-Sojková, P., Born-Torrijos, A., Lövy, A., Hartigan, A., Fiala I., 2018. The joint evolution of the Myxozoa and their alternate hosts: A cnidarian recipe for success and vast biodiversity. *Molecular Ecology*, 27, 1651–1666.

- Chang, E.S., Neuhof, M., Rubinstein, N.D., Diamant, A., Philippe, H., Huchon, D., Cartwright, P., 2015. Genomic insights into the evolutionary origin of Myxozoa within Cnidaria. *Proceedings of the National Academy of Sciences*, *112*, 14912–14917.
- Chen, Q.L., Ma, C.L., 1998. Myxozoa. Myxosporia. Fauna Sinica, Science Press, Beijing, pp. 292–528.
- Ikeda, I., 1912. Studies on some sporozoan parasites of sipunculoids. I. The life history of a new actinomyxidian *Tetractinomyxon intermedium* g. et sp. nov. *Archiv für Protistenkunde*, *25*, 240–272.
- IUCN 2021. The IUCN Red List of Threatened Species. Version 2021-1. <https://www.iucnredlist.org>. Staženo [12.4.2021].
- Jacob, E., Bremen, H.B., 1953. Eine bislang unbekannte Sphaerosporose des Flussaals, hervorgerufen durch *Sphaerospora reichenowi* nova species, mit eigenartigen Sitz im Darm. *Berliner und Münchener tierärztliche Wochenschrift*, *66*, 326–328.
- Jameson, P.A., 1929. Myxosporidia from californian fishes. *Journal of Parasitology*, *16*, 59–68.
- Jameson, A.P., 1931. Notes on Californian Myxosporidia. *Journal of Parasitology*, *18*, 59–68.
- Jiménez-Guri, E., Philippe, H., Okamura, B., Holland, P.W., 2007. *Buddenbrockia* is a cnidarian worm. *Science*, *317*, 5834.
- Jurine, L.L., 1825. Histoire des poissons du Lac Léman. *Mémoires de la Société de Physique et d'Histoire Naturelle de Genève*, *3*.
- Katoh, K., Kuma, K.I., Toh, H., Miyata, T., 2005. MAFFT version 5: improvement in accuracy of multiple sequence alignment. *Nucleic Acids Research*, *33*, 511–518.
- Kayal, E., Bentlage, B., Pankey, M.S., Ohdera, A.H., Medina, M., Plachetzki, D.C., Collins, A.G., Ryan J.F., 2018. Phylogenomics provides a robust topology of the major cnidarian lineages and insights on the origins of key organismal traits. *BMC Evolutionary Biology*, *18*, 68.
- Kearse, M., Moir, R., Wilson, A., Stones-Havas, S., Cheung, M., Sturrock, S., Buxton, S., Cooper, A., Markowitz, S., Duran, C., Thierer, T., Ashton, B., Meintjes, P., Drummond, A., 2012. Geneious Basic: an integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics*, *28*, 1647–1649.

- Kent, M.L., Khattra, J., Hervio, D.M.L., Devlin, R.H., 1998. Ribosomal DNA Sequence Analysis of Isolates of the PKX Myxosporean and Their Relationship to Members of the Genus *Sphaerospora*. *Journal of Aquatic Animal Health*, 10, 12–21,
- Kodádková, A., Bartošová-Sojtková, P., Holzer, A.S., Fiala, I., 2015. *Bipteria vetusta* n. sp. – an old parasite in an old host: tracing the origin of myxosporean parasitism in vertebrates. *International Journal for Parasitology*, 4, 269–276.
- Koletic, N., Novosel, M., Rajevic, N., Franjevic, D., 2015. Bryozoans are returning home: Recolonization of freshwater ecosystems inferred from phylogenetic relationships. *Ecology and Evolution*, 5, 255–264.
- Kondo, M., Yasumoto, S., 2020. Neutrophil Granules of the Inshore Hagfish *Eptatretus burgeri* Infested with Parasites. *Journal of National Fisheries University*, 68, 83–91.
- Korytář, T., Chan, J.T.H., Vancová, M., Holzer, A.S., 2019. Blood feast: Exploring the erythrocyte-feeding behaviour of the myxozoan *Sphaerospora molnari*. *Parasite Immunology*, 42, 1–7.
- Kovaljova, A.A., 1988. Suborder sphaeromyxina (myxosporea, bivalvulida), its structure and position in myxosporidian system. *Zoologicheskyy Zhurnal*, 67, 1616–1620.
- Krieger, J., Fuerst, P.A., 2002. Evidence for a slowed rate of molecular evolution in the order Acipenseriformes. *Molecular Biology and Evolution*, 19, 1644.
- Kristmundsson, Á., Helgason, S., 2007. Parasite communities of eels *Anguilla anguilla* in freshwater and marine habitats in Iceland in comparison with other parasite communities of eels in Europe. *Folia Parasitologica*, 54, 141–153.
- Kudo, R.R., 1933. A taxonomic consideration of Myxosporidia. *Transactions of the American Microscopical Society*, 52, 195–216.
- Kuznetsova, I.G., 1977. Myxosporidians of Chondrostei from the Patagonian shelf. *Parazitologiya*, 11, 74–77.
- Landsberg, J.H., Lom, J., 1991. Taxonomy of the genera of the *Myxobolus/Myxosoma* group (Myxobolidae: Myxosporea), current listing of species and revision of synonyms. *Systematic Parasitology*, 18, 165–186.
- Lisnerová, M., Fiala, I., Cantatore, D., Irigoitia, M., Timi, J., Pecková, H., Bartošová-Sojtková, P., Sandoval, C.M., Luer, C., Morris, J., Holzer, A.S., 2020. Mechanisms and Drivers for the Establishment of Life Cycle Complexity in Myxozoan Parasites. *Biology* 9, 1–10.

- Lisnerová, M., Lisner, A., Cantatore, D.M.P., Schaeffner, B.C., Pecková, H., Tymł, T., Fiala, I., Bartošová-Sojková, P., Holzer, A.S. Correlated evolution of fish host and parasite spore size: A tale from new myxozoan species inhabiting elasmobranchs. V revizi v *International Journal for Parasitology*.
- Lisnerová, M., Martinek, I.N., Boubelová, K., Fiala, I., Alama-Bermejo, G., Schaeffner, B.C., Holzer, A.S., Bartošová-Sojková, P. *Chloromyxum* species in elasmobranchs: Diversity, phylogeny, co-phylogeny and phylogeography. V přípravě.
- Liu, Y., Kodádková, A., Gu, Z., Fiala, I., 2019. Phylogeny of Myxobolidae (Myxozoa) and the evolution of myxospore appendages in the *Myxobolus* clade. *International Journal for Parasitology*, 49, 523–530.
- Lom, J., Dyková, I., Pavlásková, M., Grupcheva, G., 1983. *Sphaerospora molnari* sp. nov. (Myxozoa:Myxosporidia), an agent of gill, skin and blood sphaerosporosis of common carp in Europe. *Parasitology*, 86, 529–535.
- Lom, J., Arthur, J.R., 1989. A guideline for the preparation of species descriptions in Myxosporidia. *Journal of Fish Diseases*, 12, 151–156.
- Lom, J., 1990. Phylum Myxozoa. In: Margolis, L., Corliss, J.O., Melkonian, M., Chapman, D.J. Handbook of Protozoology. Jones and Bartlett Publishers, Boston, pp. 36–52.
- Lom, J., Dyková, I., 2006. Myxozoan genera: definition and notes on taxonomy, life-cycle terminology and pathogenic species. *Folia Parasitologica*, 53, 1–36.
- Markiw, M.E., 1991. Whirling disease: earliest susceptible age of rainbow trout to the triactinomyxid of *Myxobolus cerebralis*. *Aquaculture*, 92, 1–6.
- Marquet, E., Sobel, H., 1970. A Protozoan in the Central Nervous System of the Lungfish *Polypterus enlicheri*. *The Journal of Protozoology*, 17, 71–76.
- Matsche, M.A., Yurakhno, V., Zhang, J., Sato, H., 2020. Synopsis of the species of the genus *Zschokkella* Auerbach, 1910 (Myxozoa: Bivalvulida: Myxidiidae). *Systematic Parasitology*, 98, 25–55.
- Melendy, J., Cone, D., 2001. Initial infection, distribution, and seasonal occurrence of *Hoferellus gilsoni* (Myxozoa) within a population of *Anguilla rostrata* (Anguillidae) in southern Nova Scotia. *The Journal of Parasitology*, 87, 957–960.
- Mingazzini, P., 1890. Sullo sviluppo dei Myxosporidi. *Bollettino della Società dei naturalisti in Napoli*, 4, 160–164.

- Molnár, K., 1979. Gill sphaerosporosis in the common carp and grasscarp. *Acta veterinaria Academiae Scientiarum Hungaricae*, 27, 99–113.
- Molnár, K., Lom, J., Malík, E., 1986. A skin disease of the eels caused by *Myxobolus kotlani* n. sp. *Journal of Applied Ichthyology*, 2, 42–48.
- Mori, K., Takahashi-Iwanaga, H., Iwanaga, T., 2000. Parasitic forms of a myxosporean in the kidney of the arctic lamprey, *Lampetra japonica*: An ultrastructural study. *The Japanese Journal of Veterinary Research*, 48, 137–46.
- Moritz, T., Britz, R., 2019. Revision of the extant Polypteridae (Actinopterygii: Cladistia). *Ichthyological Exploration of Freshwaters*, 1094, 1–96.
- Morris, D., Adams, A., 2006. Transmission of *Tetracapsuloides bryosalmonae* (Myxozoa: Malacosporea), the causative organism of salmonid proliferative kidney disease, to the freshwater bryozoan *Fredericella sultana*. *Parasitology*, 133, 701–709.
- Moser, M., Kent, M.L., Dennis, D., 1989. Gall-Bladder Myxosporea in Coral-Reef Fishes From Heron Island, Australia. *Australian Journal of Zoology*, 37, 1.
- Musilová, Z., 2016a. Nová fylogeneze paprskoploutvých ryb. *Živa*, 4, 95–98.
- Musilová, Z., 2016b. Skrytá rozmanitost pod vodní hladinou: evoluce druhově nejbohatší skupiny obratlovců. *Živa*, 4, 175–178.
- Nagasawa, K., Katahira, H., 2017. A revised and updated checklist of the parasites of eels (*Anguilla* spp.) (Anguilliformes: Anguillidae) in Japan (1915–2017). *Biosphere Science* 56, 33–69.
- Naldoni, J., Adriano, E.A., Hartigan, A., Sayer, C., Okamura, B., 2019. Malacosporean myxozoans exploit a diversity of fish hosts. *Parasitology*, 146, 968–978.
- Naldoni, J., Okamura, B., Hartikainen, H., Corrêa, L.L., Adriano, E.A., 2020. Broad but restricted detection of malacosporeans in a Neotropical cradle of diversification. *Parasitology*, 148, 511–518.
- Nelson, J.S., 1984. Fishes of the world. Second edition. JohnWiley & Sons, Inc., New York, pp. 523.
- Nelson, J.S., 1994. Fishes of the world. Third edition. John Wiley & Sons, Inc., New York, pp. 600.
- Noble, E.R., 1948. A new Myxosporidian (Protozoan) parasite from *Scyliorhinus torazame*. *Transactions of the American Microscopical Society*, 67, 254–256.

- Okamura, B., Gruhl, A., Bartholomew, J.L., 2015a. An Introduction to Myxozoan Evolution, Ecology and Development. In: Okamura, B., Gruhl, A., Bartholomew, J.L. (Eds.). *Myxozoan Evolution, Ecology and Development*. Springer International Publishing, Cham, pp. 1–20.
- Okamura, B., Gruhl, A., 2015b. Myxozoan Affinities and Route to Endoparasitism. In: Okamura, B., Gruhl, A., Bartholomew, J.L. (Eds.). *Myxozoan Evolution, Ecology and Development*, Springer International Publishing, Cham, pp. 23–44.
- Okamura, B., Hartigan, A., Naldoni, J., 2018. Extensive Uncharted Biodiversity: The Parasite Dimension. Integrative and Comparative. *Integrative and Comparative Biology*, 58, 1132–1145.
- Patra, S., Hartigan, A., Morris, D.J., Kodádková, A., Holzer, A.S., 2017. Description and experimental transmission of *Tetracapsuloides vermiformis* n. sp. (Cnidaria: Myxozoa) and guidelines for describing malacosporean species including reinstatement of *Buddenbrockia bryozoides* n. comb. (syn. *Tetracapsula bryozoides*). *Parasitology*, 144, 1–15.
- Patra, S., Bartošová-Sojtková, P., Pecková, H. Fiala, I., Eszterbauer, E., Holzer, A.S., 2018. Biodiversity and host-parasite cophylogeny of *Sphaerospora (sensu stricto)* (Cnidaria: Myxozoa). *Parasites & Vectors*, 11, 347.
- Posada, D., 2008. jModelTest: phylogenetic model averaging. *Molecular Biology and Evolution*, 25, 1253–1256.
- Raikova, E.V., 1990. Fine structure of the nematocysts of *Polypodium hydriforme* Ussov (Cnidaria). *Zoologica Scripta*, 19, 1–11.
- Renaud, C.B., Canadian Museum of Nature, 2011. Lampreys of the world. An annotated and illustrated catalogue of lamprey species known to date. FAO Species Catalogue for Fishery Purposes. FAO, pp. 109.
- Righton, D., Aarestrup, K., Jellyman, D., Sebert, P., van den Thillart, G., Tsukamoto, K., 2012. The *Anguilla* spp. migration problem: 40 million years of evolution and two millennia of speculation. *Journal of Fish Biology*, 81, 365–386.
- Rocha, S., Casal, G., Rangel, L., Severino, R., Castro, R., Azevedo, C., Santos, M., 2013. Ultrastructural and phylogenetic description of *Zschokkella auratis* sp. nov. (Myxozoa), a parasite of the gilthead seabream *Sparus aurata*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 107, 19–30.

- Rocha, S., Casal, G., Al-Quraishy, S., Azevedo, C., 2014. Morphological and ultrastructural redescription of *Chloromyxum leydigi* Mingazzini, 1890 (Myxozoa: Myxosporea), type species of the genus, infecting the gall bladder of the marine cartilaginous fish *Torpedo marmorata* Risso (Chondrichthyes: Torpedinidae), from the Portuguese Atlantic coast. *Folia Parasitologica*, 61, 1–10.
- Rowat, D., Brooks, K.S., 2012. A review of the biology, fisheries and conservation of the whale shark *Rhincodon typus*. *Journal of Fish Biology*, 80, 1019–1056.
- Seymour, R.S., Wegner, N.C., Graham, J.B., 2008. Body size and the air-breathing organ of the Atlantic tarpon *Megalops atlanticus*. *Comparative Biochemistry and Physiology Part A: Molecular & Integrative Physiology*, 150, 282–287.
- Shen, Y.J., Yang, N., Liu, Z.H., Chen, Q.L., Li, Y.W., 2020. Phylogenetic perspective on the relationships and evolutionary history of the Acipenseriformes. *Genomics*, 112, 3511–3514.
- Schlegel, M., Lom, J., Stechmann, A., Bernhard, D., Leipe, D., Dyková, I., Sogin, M.L., 1996. Phylogenetic analysis of complete small subunit ribosomal RNA coding region of *Myxidium lieberkuehni*: Evidence that Myxozoa are Metazoa and related to the Bilateria. *Archiv für Protistenkunde* 147, 1–9.
- Siddall, M.E., 1995. Phylogeny of adeleid blood parasites with a partial systematic revision of the haemogregarine complex. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, 42, 116–125.
- Sitjà-Bobadilla, A., Schmidt-Posthaus, H., Wahli, T., Holland, J.W., Secombes, C.J., 2015. Fish immune responses to Myxozoa. In: Okamura, B., Gruhl, A., Bartholomew, J.L. (Eds.). *Myxozoan Evolution, Ecology and Development*. Springer International Publishing, Cham, pp. 253–280.
- Smothers, J.F., von Dohlen, C.D., Smith, L.H., Spall R.D., 1994. Molecular evidence that the myxozoan protists are metazoans. *Science*, 26, 719–1721.
- Sommerset, I., Krossoy, B., Biering, E., Frost, P., 2005 Vaccines for fish in aquaculture. *Expert Review of Vaccines*, 4, 89–101.
- Sousa, R., Furo, I. Oliveira-Filho, A., Brito, C., Rabelo, L., Guimarães-Costa, A., De Oliveira, E., Vallinoto, M., Oliveira, G., 2020. The role of the chromosomal rearrangements in the evolution and speciation of Elopiformes fishes (Teleostei; Elopomorpha). *Zoologischer Anzeiger A Journal of Comparative Zoology*, 290, 40–48.
- Stamatakis, A., 2006. RAxML-VI-HPC: Maximum likelihood-based phylogenetic analyses with thousands of taxa and mixed models. *Bioinformatics*, 22, 2688–2690.

- Stein, R.W., Mull, C.G., Kuhn, T.S. Aschliman, N.C., Davidson, L.N.K., Joy, J.B., Smith, G.J., Dulvy, N.K., Mooers, A.O., 2018. Global priorities for conserving the evolutionary history of sharks, rays and chimaeras. *Nature Ecology & Evolution*, 2, 288–298.
- Štolc, A., 1899. Actinomyxidies, nouveau groupe de Métazoaires parent des Myxosporidies. *Bulletin International de l'Académie des Sciences de Bohême Prague*, 22, 1–12.
- Thélohan, P., 1892. Observations sur les Myxosporidies et essai de classification de ces organismes. *Bulletin de la Société Philomathique de Perpignan*, 4, 165–178.
- van Ginneken, V.J.T., Maes, G.E., 2005. The European eel (*Anguilla anguilla*, Linnaeus), its Lifecycle, Evolution and Reproduction: A Literature Review. *Reviews in Fish Biology and Fisheries*, 15, 367–398.
- Vita, P., Corral, L., Matos, E., Azevedo, C., 2004. Ultrastructural description of *Agarella gracilis* Dunkerly, 1915 (Myxozoa, Chloromyxidae) parasite of the dipnoan *Lepidosiren paradoxa* from the River Amazon. *European Journal of Protistology*, 40, 213–218.
- Weill, R., 1938. L'interprétation des Cnidosporidies et la valeur taxonomique de leur cnidome. Leur cycle comparé à la phase larvaire des Narcomeduses cuninides. *Travaux de la Station Zoologique de Wimereux*, 13, 727–744.
- Wierzbicka, J., 1994. Revision of the *Sphaerospora* Thélohan, 1892 (Myxosporea) protozoans parasitising the eel, *Anguilla anguilla* (L.). *Acta Ichthyologica et Piscatoria*, 24, 21–24.
- Wisner, R.L., 1999. Descriptions of two new subfamilies and a new genus of hagfishes (Cyclostomata: Myxinidae). *Zoological Studies*, 38, 307–313.
- Własow, T., 1991. Azjatycki nicień *Anguillicola* spp. w pęcherzu pławnym węgorza europejskiego *Anguilla anguilla* L. *Komunikaty Rybackie*, 3, 21–22.
- Woolcock, V., 1936. *Chloromyxum pristiophori*, a new species of Myxosporidia parasitic in the gall-bladder of *Pristiophorus cirratus* (saw-shark). *Parasitology*, 28, 72–78.
- Zhang, J., Gu, Z., Chaganti, K., Eiras, J., Liu, Y., Guo, Q., Molnár, K., 2013. Synopsis of the species of *Thelohanellus* Kudo, 1933 (Myxozoa: Myxosporea: Bivalvulida). *Systematic Parasitology*, 86, 235–56.
- Zrzavý, J., Hypša, V., 2003. Myxozoa, *Polypodium*, and the origin of the Bilateria: The phylogenetic position of „Endocnidozoa“ in light of the rediscovery of *Buddenbrockia*. *Cladistics*, 19, 164–169.

10. Přílohy

Tabulka 4: Přehled vyšetřovaných hostitelů a nálezů myxozoi pomocí světelné mikroskopie a PCR.

Taxonomické zařazení hostitele	Druh hostitele	Počet jedinců	Geografický původ (země: lokalita)	Orgán	Počet vzorků	Světelná mikroskopie (druh Myxozoa; prevalence)	PCR (druh Myxosporea; prevalence)	PCR (druh Malacosporea; prevalence)
Agnatha/ Cyclostomata/ Petromyzontiformes	<i>Lampetra planeri</i> (Bloch, 1784)	13	ČR: ř. Černá – Benešov n. Černou, Hejšt'ský p., ř. Malše – D. Dvořiště, Skoronice, ř. Trnava – u obce Samšín; ř. Vltava – Branišov	žlučník	1	0 %	0 %	NP
				ledviny	9	Malacosporea sp.; 11,1 %	0 %	Malacosporea sp; 22,2 %
				játra	1	0 %	0 %	NP
				průřez těla	8	0 %	0 %	NP
				svalovina	1	0 %	0 %	NP
				žábry	3	0 %	0 %	NP
				střevo	1	0 %	0 %	NP
Chondrichthyes/ Selachimorpha/ Carcharhiniformes	<i>Carcharhinus brevipinna</i> (Müller a Henle, 1839)	2	JR: Karridene; Gln	žlučník	2	0 %	0 %	NP
				ledviny	2	0 %	0 %	0 %
				játra	2	0 %	0 %	NP
	<i>Carcharhinus leucas</i> (Müller a Henle, 1839)	1	JR: Zinkwazi	žlučník	1	<i>Chloromyxum</i> sp.; 100,0 %	<i>Chloromyxum</i> sp.; 100,0 %	NP
				ledviny	1	0 %	0 %	0 %
	<i>Carcharhinus obscurus</i> (Lesueur, 1818)	1	JR: Durban	žlučník	1	0 %	0 %	NP
				ledviny	1	0 %	0 %	0 %
				játra	1	0 %	0 %	NP
	<i>Carcharias taurus</i> Rafinesque, 1810	1	JR: Durban	žlučník	1	<i>Chloromyxum</i> sp.; 100,0 %	<i>Chloromyxum</i> sp.; 100,0 %	NP
				ledviny	1	0 %	0 %	0 %

	<i>Galeocerdo cuvier</i> (Péron a Lesueur, 1822)	4	JR: Umhlanga; Trafalgar; St. Michaels	žlučník	4	<i>Ceratomyxa</i> sp.; 25,0 %	<i>Ceratomyxa</i> sp.; 25,0 %	NP	
				ledviny	4	0 %	0 %	0 %	
				játra	3	0 %	0 %	NP	
	<i>Poroderma pantherinum</i> (Müller a Henle, 1838)	3	JR: Danger Point; Gansbaai	žlučník	3	0 %	0 %	NP	
				ledviny	1	0 %	0 %	0 %	
	<i>Sphyrna lewini</i> (Griffith a Smith, 1834)	4	JR: Zinkwazi; Richards Bay	žlučník	4	<i>Chloromyxum</i> sp.; 25,0 %	<i>Chloromyxum</i> sp.; 25,0 %	NP	
				ledviny	4	0 %	0 %	0 %	
				játra	3	0 %	0 %	NP	
	<i>Sphyrna zygaena</i> (Linnaeus, 1758)	1	JR: Ramsgate	žlučník	1	0 %	0 %	NP	
				ledviny	1	0 %	0 %	0 %	
	Chondrichthyes/ Batoidea/ Myliobatiformes	<i>Aetomylaeus bovinus</i> (Geoffroy Saint-Hilaire, 1817)	3	JR: Zinkwazi; Richards Bay	žlučník	3	0 %	0 %	NP
					ledviny	3	0 %	0 %	0 %
játra					1	0 %	0 %	NP	
<i>Mobula eregoodootenkee</i> (Bleeker, 1859)		2	JR: Zinkwazi; Richards Bay	žlučník	2	0 %	0 %	NP	
				ledviny	2	0 %	0 %	0 %	
				játra	1	0 %	0 %	NP	
<i>Mobula kuhlii</i> (Müller a Henle, 1841)		1	JR: Isipingo	žlučník	1	0 %	0 %	NP	
				ledviny	1	0 %	0 %	0 %	
				játra	1	0 %	0 %	NP	
<i>Rhinoptera javanica</i> Müller a Henle, 1841		2	JR: Scottburgh; Richards Bay	žlučník	2	<i>Chloromyxum</i> sp.; 50,0 %	<i>Chloromyxum</i> sp.; 50,0 %	NP	
				ledviny	2	0 %	0 %	0 %	

Chondrichthyes/ Batoidea/ Rajiformes	<i>Rostroraja alba</i> (Lacepède, 1803)	2	JR: Danger Point; Gansbaai	žlučník	2	0 %	0 %	NP
				ledviny	2	0 %	0 %	0 %
	<i>Raja straeleni</i> Poll, 1951	7	JR: Walker Bay; Hermanus	žlučník	7	<i>Chloromyxum</i> sp.; 42,9 %	<i>Chloromyxum</i> sp.; 42,9 %	NP
				ledviny	5	0 %	0 %	0 %
Actinopterygii/ Acipenseriformes	<i>Acipenser ruthenus</i> Linnaeus, 1758	2	ČR: lokalita neznámá	žlučník	2	0 %	0 %	NP
				ledviny	2	0 %	0 %	0 %
Actinopterygii/ Elopomorpha/ Anguilliformes	<i>Anguilla anguilla</i> (Linnaeus, 1758)	32	Itálie: delta řeky Pád	ledviny	3	JP	JP	0 %
			Itálie: s. – oblast Mantova	ledviny	27	JP	JP	<i>Buddenbrockia allmani</i> ; 25,9 %
		22	ČR: o.r. Golčův Jeníkov; p. Chotovinský, Stříbrná Huť v.n. Jordánka; v.n. Klíčava; v.n. Římov; s. Soběkury; v.n. Želivka	ledviny	22	JP	JP	0 %
Actinopterygii/ Polypteriformes	<i>Erpetoichthys calabaricus</i> Smith, 1865	5	Indonésie: lokalita neznámá	žlučník	5	0 %	0 %	NP
				ledviny	5	0 %	0 %	0 %
				žábry	5	0 %	0 %	NP
				svalovina	5	0 %	0 %	NP
				játra	5	0 %	0 %	NP
	<i>Polypterus delhezi</i> Boulenger, 1899	5	Nigérie: lokalita neznámá	žlučník	5	0 %	0 %	NP
				ledviny	5	0 %	0 %	0 %

				žábry	5	0 %	0 %	NP
				svalovina	5	0 %	0 %	NP
				játra	5	0 %	0 %	NP
	<i>Polypterus endlicheri</i> Heckel, 1847	5	Indonésie: lokalita neznámá	žlučník	5	0 %	0 %	NP
				ledviny	5	0 %	0 %	0 %
				žábry	5	0 %	0 %	NP
				svalovina	5	0 %	0 %	NP
				játra	4	0 %	0 %	NP
	<i>Polypterus ornatipinnis</i> Boulenger, 1902	5	Indonésie: lokalita neznámá	žlučník	5	0 %	0 %	NP
				ledviny	5	0 %	0 %	0 %
žábry				5	0 %	0 %	NP	
svalovina				5	0 %	0 %	NP	
játra				5	0 %	0 %	NP	
Celkový počet druhů hostitelů/ jedinců/vzorků/lokalit/ typů orgánů/zaznamenaných druhů myxosporeí a malacosporeí	21	123	28	7	257	6	6	2

Vysvětlivky:

NP: PCR v těchto vzorcích nebyla prováděna, jelikož daný orgán není místem sporogonického vývinu malacosporeí.

JP: mikroskopické a molekulární vyšetření vzorků na přítomnost myxosporeí bylo prováděno v rámci jiného souvisejícího projektu laboratoře.

Státy: JR: Jihoafrická republika; ČR: Česká republika, v.n.: vodní nádrž, ř.: řeka, p.: potok, o.r.: obecní rybník, s.: sádka.

Tabulka 5: Morfometrické porovnání druhů rodu *Ceratomyxa* ze žraloků a rejnoků (převzato a upraveno z Lisnerová a kol. v revizi).

Druh rodu <i>Ceratomyxa</i>	Druh hostitele	SSU rDNA GenBank přístupový kód nebo číslo izolátu	Rozměry spor (délka x tloušťka); rozměry pólových váčků (délka x šířka)	Reference
<i>Ceratomyxa abbreviata</i> Davis, 1917	<i>Rhizoprionodon terraenovae</i> (Richardson, 1836)	NA	SP 14 x 17; PC 4,5 x 4,5	Davis (1917)
<i>Ceratomyxa agilis</i> Thélohan, 1892	<i>Dasyatis pastinaca</i> (Linnaeus, 1758)	NA	SP 6–7 x 11–12	Thélohan (1892)
<i>Ceratomyxa attenuata</i> Davis, 1917	<i>Rhizoprionodon terraenovae</i> (Richardson, 1836)	NA	SP 9 x 115; PC 4,5	Davis (1917)
<i>Ceratomyxa barbini</i> Lisnerová, Fiala, Cantatore, Irigoitia, Timi, Pecková, Bartošová-Sojtková, Sandoval, Luer, Morris a Holzer 2020	<i>Myliobatis goodei</i> Garman, 1885	MK937839	SP 11,7 ± 1,3 (9,5–13,8) x 32,9 ± 8,1 (20,0–44,9); PC 3,7 ± 0,4 (3,0–4,4) x 3,7 ± 0,3 (3,0–4,2)	Lisnerová a kol. (2020)
<i>Ceratomyxa carcharhini</i> Gleeson a Adlard, 2011	<i>Carcharhinus melanopterus</i> (Quoy a Gaimard, 1824)	JF911815–16	SP 10,0 ± 0,7 (9,0–11,5) x 58,1 ± 7,1 (46,0–77,5); PC 3,8 ± 0,2 (3,5–4,0) x 3,7 ± 0,2 (3,5–4,0)	Gleeson a Adlard (2011)
<i>Ceratomyxa flagellifera</i> Davis, 1917	<i>Carcharhinus</i> sp.	NA	SP 12 x 118; PC 6	Davis (1917)
<i>Ceratomyxa jamesoni</i> Kudo, 1933 (<i>C. taenia</i> Jameson, 1931)	<i>Triakis semifasciata</i> Girard, 1855	NA	SP 7,5–9,5 x 95–117	Jameson (1931); Kudo (1933)
<i>Ceratomyxa lunata</i> Davis, 1917	<i>Galeocerdo cuvier</i> (Péron a Lesueur, 1822)	NA	SP 7–9 x 15–30; PC 4	Davis (1917)
<i>Ceratomyxa melanopteri</i> Gleeson a Adlard, 2011	<i>Carcharhinus melanopterus</i> (Quoy a Gaimard, 1824)	JF911817	SP 11,3 ± 1,2 (10–13,5) x 44,5 ± 9,3 (28–58,5); PC 3,9 ± 0,1 (3,5–4) x 4,0 ± 0,2 (3,5–4,5)	Gleeson a Adlard (2011)
<i>Ceratomyxa mesospora</i> Thélohan, 1892	<i>Sphyrna zygaena</i> (Linnaeus, 1758); <i>Sphyrna tiburo</i> (Linnaeus, 1758)	NA	SP 8 x 50–60; PC 4,5	Thélohan (1892)

<i>Ceratomyxa negaprioni</i> Gleeson a Adlard, 2011	<i>Negaprion acutidens</i> (Rüppell, 1837)	JF911816	SP 11,1 ± 0,7 (10–12,5) x 27,7 ± 2,7 (20,5–33); PC 5 ± 0,4 (3,5–5,5) x 4,9 ± 0,3 (3,5–5,5)	Gleeson a Adlard (2011)
<i>Ceratomyxa recurvata</i> Davis, 1917	<i>Sphyrna zygaena</i> (Linnaeus, 1758)	NA	SP 8–9 x 16; PC 4,5	Davis (1917)
<i>Ceratomyxa scissura</i> (<i>Leptotheca scissura</i>) Davis, 1917	<i>Dasyatis hastata</i> (DeKay, 1842); <i>Gymnura altavela</i> (Linnaeus, 1758)	NA	SP 11 x 22	Davis (1917)
<i>Ceratomyxa sigmoidea</i>	<i>Mustelus mustelus</i> (Linnaeus, 1758)	MW396732	SP 11,5 ± 0,7 (10,4–12,6) x 85,0 ± 4,8 (77,7–92,1); PC 5,4 ± 0,5 (4,3–5,9) x 5,4 ± 0,5 (4,1–6,0)	Lisnerová a kol. (v revizi)
<i>Ceratomyxa</i> sp. 2 ex <i>Sphyrna tiburo</i>	<i>Sphyrna tiburo</i> (Linnaeus, 1758)	MK937838	SP 6,9 ± 0,0 x 48,9 ± 2,7 (46,2–51,5); PC 2,7 ± 0,1 (2,6–2,8) x 2,8 ± 0,1 (2,7–3,0)	Lisnerová a kol. (2020)
<i>Ceratomyxa sphaerulosa</i> Thélohan, 1892	<i>Mustelus canis</i> (Mitchill, 1815); <i>Galeorhinus galeus</i> (Linnaeus, 1758)	NA	SP 10–12 x 90–100; PC 6–7 x 5	Thélohan (1892)
<i>Ceratomyxa sphairophora</i> Davis, 1917	<i>Rhizoprionodon terraenovae</i> (Richardson, 1836)	NA	SP 12 x 115–149; PC 6	Davis (1917)
<i>Ceratomyxa taenia</i> Davis, 1917	<i>Rhizoprionodon terraenovae</i> (Richardson, 1836)	NA	SP 6 x 140–150; PC 3	Davis (1917)
<i>Ceratomyxa</i> sp.	<i>Galeocerdo cuvier</i> (Péron a Lesueur, 1822)	KZN 20.11	SP 8,7 ± 1,0 (7,1–10,2) x 46,9 ± 6,5 (40,4–53,3); PC 4,7 ± 0,4 (4,3–5,4) x 4,4 ± 0,6 (3,5–5,3)	Tato práce

Vysvětlivky: SP – spora; PC – pólový váček; NA – informace není k dispozici.

Tabulka 6: Morfometrické porovnání druhů rodu *Chloromyxum* ze žraloků a rejnoků (převzato a upraveno z Lisnerová a kol. 2020 a Lisnerová a kol. v přípravě).

Druh rodu <i>Chloromyxum</i>	Druh hostitele	SSU rDNA GenBank přístupový kód nebo číslo izolátu	Rozměry spor (délka x šířka); rozměry pólových váčků (délka x šířka)	Reference
<i>C. atlantoraji</i> Cantatore, Irigoitia, Holzer, Bartošová- Sojková, Pecková, Fiala a Timi, 2018	<i>Atlantoraja castelnaui</i> (Miranda-Ribeiro, 1907)	MG652633	SP 10,5 ± 0,4 (9,7–11,4) x 8,5 ± 0,4 (7,7–9,4); PC 3,5 ± 0,3 (3,0–4,5) x 2,4 ± 0,2 (1,9–3,0)	Cantatore a kol. (2018)
<i>C. clavatum</i> Rocha, Casal, Rangel, Severino, Castro, Azevedo a Santos, 2013	<i>Raja clavata</i> Linnaeus, 1758	JQ793641	SP 14,4 ± 0,5 x 11,9 ± 0,5; PC 5,5 ± 0,4 x 2,9 ± 0,5	Rocha a kol. (2013)
<i>C. dogieli</i> Kovaljova, 1988	<i>Raja miraletus</i> Linnaeus, 1758	NA	SP 10,6–12,0 x 8,0–8,3; PC 3,3–3,9 x 2,6	Kovaljova (1988)
<i>C. hemiscyllii</i> Gleeson a Adlard, 2012	<i>Hemiscyllium ocellatum</i> (Bonnaterre, 1788)	JN130374	SP 11,8 ± 0,2 x 9,8 ± 0,5; PC 4,1 ± 0,3 x 3,2 ± 0,2	Gleeson a Adlard (2012)
<i>C. kuhlii</i> Gleeson a Adlard, 2012	<i>Neotrygon kuhlii</i> (Müller a Henle, 1841)	JN130375–6	SP 11,4 ± 0,3 x 8,8 ± 0,3; PC 4,1 ± 0,3 x 2,8 ± 0,1	Gleeson a Adlard (2012)

<i>C. lesteri</i> Gleeson a Adlard, 2012	<i>Cephaloscyllium laticeps</i> (Duméril, 1853)	JN130377–8	SP 10,4 ± 0,4 x 8,4 ± 0,3; PC 3,6 ± 0,3 x 2,7 ± 0,2	Gleeson a Adlard (2012)
<i>C. levigatum</i> Jameson, 1931	<i>Squatina californica</i> Ayres, 1859	NA	SP 11,0–13,0 x 8,0–10,0	Jameson (1931)
<i>C. leydigi</i> Mingazzini, 1890	<i>Squatina squatina</i> (Linnaeus, 1758); <i>Centroscymnus coelolepis</i> Barbosa du Bocage a de Brito Capello, 1864; <i>Torpedo marmorata</i> Risso, 1810 etc.	AY604199; DQ377710	SP 6,0–16,0 x 5,0–14,0; PC 2,0–5,0 x 1,0–3,0	Mingazzini (1890); Jameson (1929); Fiala a Dyková (2004); Fiala (2006); Rocha a kol. (2014)
<i>C. liae</i> Kuznetsova, 1977	<i>Prionace glauca</i> (Linnaeus, 1758)	NA	SP 4,4–5,2 x 3,7; PC 1,48	Kuznetsova (1977)
<i>C. lissosporum</i> Kovaljova, 1988	<i>Squatina oculata</i> Bonaparte, 1840	NA	SP 12,0–13,3 x 6,7–8,0; PC 5,3–5,6 x 3,5–4,0	Kovaljova (1988)
<i>C. magnum</i> Awerinzew, 1913	<i>Squalus blainville</i> as <i>Acanthias blainville</i> (Risso, 1827)	NA	SP 40,0–48,0 x 30,0–38,0; PC 12,0–15,0	Awerinzew (1913)
<i>C. mingazzinii</i> Gleeson a Adlard, 2012	<i>Pristiophorus nudipinnis</i> Günther, 1870	JN130379	SP 11,1 ± 0,3 x 8,8 ± 0,3; PC 3,8 ± 0,5 x 2,7 ± 0,2	Gleeson a Adlard (2012)
<i>C. myliobati</i> Gleeson a Adlard, 2012	<i>Myliobatis tenuicaudatus</i> Hector, 1877	JN130377–8	SP 11,9 ± 0,6 x 10,0 ± 0,6; PC 3,9 ± 0,4 x 3,0 ± 0,2	Gleeson a Adlard (2012)
<i>C. noblei</i> Moser, Kent a Dennis 1989	<i>Taeniura lymma</i> (Forsskål, 1775)	NA	SP 8,5 (8,0–10,0) x 6,0–7,0; PC 3,5 (2,0–4,0) x 2,7 (1,0–3,0)	Moser a kol. (1989)

<i>C. ovatum</i> Jameson, 1929	<i>Raja miraletus</i> Linnaeus, 1758, <i>Squalus sucklii</i> (Girard 1855), <i>Tetronarce californica</i> (Ayres, 1855), <i>Squalus acanthias</i> Linnaeus, 1758	NA	SP 10,0–14,0 x 7,0–11,0; PC 4,0–4,5 x 2,0	Jameson (1929); Kovaljova (1988)
<i>C. parvicostatum</i> Kuznetsova, 1977	<i>Bathyraja brachyurops</i> (Fowler, 1910)	NA	SP 5,2–5,9 x 4,4–4,7; PC 2,2–2,3	Kuznetsova (1977)
<i>C. pristiophori</i> Woolcock, 1936	<i>Pristiophorus cirratus</i> (Latham, 1794)	NA	SP 11,0 x 8,0–9,0; PC 5,0–6,0 x 3,0	Woolcock (1936)
<i>C. riorajum</i> Azevedo, Casal, Garcia, Matos, Teles-Grilo a Matos 2009	<i>Rioraja agassizii</i> (Müller a Henle, 1841)	FJ624481; MG652631	SP 11,4 ± 0,3 x 5,9 ± 0,5; PC 3,2 ± 0,4 x 2,0 ± 0,3	Azevedo a kol. (2009); Cantatore a kol. (2018)
<i>C. scyliorhinium</i> Noble, 1948	<i>Scyliorhinus torazame</i> (Tanaka, 1908)	NA	SP 10,6 x 9,2; PC 3,0 x 1,9	Noble (1948)
<i>C. schulmani</i> Kovaljova, 1988	<i>Raja straeleni</i> Poll, 1951	NA	SP 9,7–10,6 x 6,7–8,0; PC 3,2–4,5 x 2,0–2,6	Kovaljova (1988)
<i>C. sphyrae</i> Gioia a Cordeiro, 1996	<i>Sphyrna tiburo</i> (Linnaeus, 1758)	NA	SP 15,0 x 13,0; PC 4,0 x 4,0	Gioia a Cordeiro (1996)
<i>C. squali</i> Gleeson a Adlard, 2012	<i>Squalus acanthias</i> Linnaeus, 1758 as <i>S. fernandinus</i>	JN130381–3	SP 11,4 ± 0,5 x 9,4 ± 0,5; PC 3,9 ± 0,3 x 2,9 ± 0,2	Gleeson a Adlard (2012)
<i>C. striatellus</i> Kovaljova, 1988	<i>Scyliorhinus canicula</i> (Linnaeus, 1758)	NA	SP 10,6–11,2 x 6,7–10,6; PC 2,7–3,3 x 2,0	Kovaljova (1988)

<i>C. transversocostatum</i> Kuznetsova, 1977	<i>Squalus acanthias</i> Linnaeus, 1758 as <i>S. fernandinus</i> ; <i>Bathyraja magellanica</i> (Philippi, 1902)	NA	SP 5,8–5,9 x 3,7; PC 2,9	Kuznetsova (1977)
<i>C. zearaji</i> Cantatore, Irigoitia, Holzer, Bartošová-Sojková, Pecková, Fiala, Timi, 2018	<i>Dipturus breviceaudatus</i> as <i>Zearaja chilensis</i> (Guichenot, 1848)	MG652632	SP 11,6 (10,8–12,4) x 9,6 (9,0–10,4)	Cantatore a kol. (2018)
<i>Chloromyxum</i> sp.	<i>Hexanchus griseus</i> (Bonnaterre, 1788)	HE 18.9	SP 9,6 ± 0,5 (8,7–10,8) x 7,6 ± 0,5 (6,9–8,5); PC 2,6 ± 0,3 (2,1–3,0) x 1,9 ± 0,2 (1,4–2,2)	Lisnerová a kol. (v přípravě)
<i>Chloromyxum</i> sp.	<i>Mustelus mustelus</i> (Linnaeus, 1758)	HE 18.11	SP 11,0 ± 0,7 (9,8–11,8) x 8,8 ± 0,4 (8,0–9,2); PC 2,2 ± 0,4 (1,7–2,8) x 1,9 ± 0,3 (1,6–2,4)	Lisnerová a kol. (v přípravě)
<i>Chloromyxum</i> sp.	<i>Notorynchus cepedianus</i> (Péron, 1807)	NC	SP 10,1 ± 0,9 (9,1–11,1) x 7,7 ± 0,6 (6,7–8,1); PC 2,9 ± 0,3 (2,1–3,5) x 2,0 ± 0,3 (1,2–2,6)	Lisnerová a kol. (v přípravě)
<i>Chloromyxum</i> sp.	<i>Poroderma pantherinum</i> (Müller a Henle, 1838)	HE 18.2	SP 13,0 ± 0,4 (12,0–14,3) x 11,3 ± 0,8 (9,7–12,3); PC 4,6 ± 0,3 (4,1–5,0) x 2,9 ± 0,2 (2,6–3,1)	Lisnerová a kol. (v přípravě)
<i>Chloromyxum</i> sp.	<i>Carcharias leucas</i> (Müller a Henle, 1839)	KZN 20.23	SP 11,5 ± 0,6 (10,6–12,4) x 8,8 ± 0,4 (8,3–9,3); PC 2,4 ± 0,1 (2,3–2,5) x 1,3 ± 0,3 (1,1–1,8)	Tato práce
<i>Chloromyxum</i> sp.	<i>Carcharias taurus</i> Rafinesque, 1810	KZN 20.24	SP 9,5 ± 0,8 (8,7–10,3) x 8,4 ± 0,8 (8,2–8,6); NSP 10,3 ± 0,7 (9,0–11,6) x 9,2 ± 0,5 (8,5–9,9); PC 2,7 ± 0,2 (2,5–2,8) x 2,1 ± 0,1 (1,9–2,2); NPC 2,5 ± 0,6 (1,8–3,3) x 1,8 ± 0,4 (1,4–2,4)	Tato práce
<i>Chloromyxum</i> sp.	<i>Raja straeleni</i> Poll, 1951	HE 19.2, HE 19.11	SP 12,7 ± 1,0 (10,8–15,2) x 10,7 ± 0,9 (9,2–12,0); PC 3,8 ± 0,7 (2,8–5,3) x 2,7 ± 0,5 (2,0–3,8)	Tato práce
<i>Chloromyxum</i> sp.	<i>Rhinoptera javanica</i> Müller a Henle, 1841	KZN 20.14	SP 8,6 ± 1,1 (6,8–10,6) x 6,7 ± 0,9 (5,8–8,8); PC 2,2 ± 0,5 (1,6–3,1) x 1,7 ± 0,8 (1,1–3,9)	Tato práce

<i>Chloromyxum</i> sp.	<i>Sphyrna lewini</i> (Griffith a Smith, 1834)	KZN 20.16	SP $11,0 \pm 0,8$ (9,4–12,3) x $9,1 \pm 0,8$ (7,7–10,5); PC $3,5 \pm 0,8$ (2,3–4,7) x $2,3 \pm 0,4$ (1,5–3,0)	Tato práce
-------------------------------	--	-----------	---	------------

Vysvětlivky: SP – spora; PC – pólový váček; SPN – nezralá spora; NPC – nezralý pólový váček; NA – informace není k dispozici.