

**ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE**  
**Fakulta agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů**  
**katedra Zoologie a rybářství**



**Morfologická determinace parazitárních hlístic  
rodu *Setaria* detekovaných u přežvýkavé spárkaté zvěře  
na území České republiky**

.....  
doktorská disertační práce

Autor: **Ing. Sylva Lanková**

Školitel: **prof. Ing. Iva Langrová, CSc.**

© Praha 2021

### **Čestné prohlášení**

Prohlašuji, že jsem disertační práci " Morfologická determinace parazitárních hlístic rodu *Setaria* detekovaných u spárkaté zvěře na území České republiky" vypracovala samostatně pod vedením prof. Ing. Ivy Langrové, CSc. s použitím odborné literatury a dalších informačních zdrojů, které jsou v práci řádně citovány a uvedeny v seznamu literatury. Jako autorka uvedené disertační práce dále prohlašuji, že jsem v souvislosti s jejím vytvořením neporušila autorská práva třetích osob.

V Praze dne

2021

Podpis:

## **Poděkování**

Ráda bych touto cestou poděkovala své školitelce, paní prof. Ing. Ivě Langrové, CSc. za poskytnutí prostoru a mnoha cenných rad během doktorského studia. Děkuji panu doc. Dr. Ing. Pavlu Vejlovi za získání nových znalostí z oblasti molekulární genetiky a za jeho velkou pomoc se zpracováním molekulárně - genetických analýz. Srdečné poděkování nejen za pomoc, milou atmosféru a podporu během mého studia patří mým kolegům a přátelům - Ing. Ivetě Angele Kyriánové, Ph.D., Ing. Anitě Klímové, Ph.D., Ing. Matyáši Orsákovi, Ph.D., Ing. Richardu Sehnalovi, Ph.D., Bc. Jiřímu Novotnému, Ing. Daniele Čílové, Ing. Martině Melounové, Ph.D. a Ing. Filipě Bubeníčkové, Ph.D. Samozřejmě nelze opomenout poděkování mým rodičům a celé rodině za jejich trpělivost, pevné nervy a veškerou pomoc během celého vysokoškolského studia.

## Obsah

1. Úvod.....	6
2. Literární přehled.....	8
2.1 Nadčeleď Filarioidea.....	8
2.2 Hlístice rodu <i>Setaria</i> .....	9
2.3 Historické záznamy a problematika taxonomického zařazení.....	10
2.4 Výskyt <i>Setaria</i> spp. u čeledi Cervidae.....	11
2.5 Epizootologie a patogeneze <i>Setaria</i> spp.....	15
2.5.1 Zoonotický potenciál <i>Setaria</i> spp. ....	17
2.6 Životní cyklus hlístic rodu <i>Setaria</i> a variabilita vektorů.....	18
2.7 Variabilita morfologických znaků <i>Setaria</i> spp. vyskytujících se u volně žijících přežvýkavců na území Evropy.....	20
2.7.1 <i>Setaria cervi</i> (Rudolphi, 1819).....	22
2.7.2 <i>Setaria tundra</i> Isaichikov & Rajewskaja, 1928.....	23
2.7.3 <i>Setaria labiatopapillosa</i> (Alessandrini, 1848).....	24
2.8 Variabilita <i>Setaria</i> spp. stanovená molekulárně - genetickými analýzami.....	26
2.9 Využití <i>Setaria</i> spp. při výzkumu léků proti filariózám.....	27
3. Vědecké hypotézy a cíle práce.....	29
4. Materiál a metody.....	30
4.1 Původ hostitelů a vzorků.....	30
4.2 Helmintologická pitva.....	32
4.3 Morfologie a druhová příslušnost.....	32
4.4 Statistické vyhodnocení dat.....	33
4.4.1 Shapiro – Wilkův test.....	33
4.4.2 Leveneův test.....	34
4.4.3 Analýza rozptylu.....	34

4.5	Molekulárně - genetické studie a analýzy haplotypů <i>cox1</i> genu.....	34
5	Výsledky .....	38
5.1	Morfologické deskripce vzorků .....	39
5.1.1	Morfologie cefalické části těla.....	41
5.1.2	Morfologie kaudální části těla .....	42
5.1.3	Morfologický klíč .....	45
5.2	Statistické vyhodnocení.....	47
5.3	Molekulárně - genetické analýzy .....	56
5.3.1	Fylogenetická studie .....	57
6.	Diskuze.....	59
7.	Závěr .....	65
8.	Doporučení pro využití poznatků v praxi.....	66
9.	Seznam použité literatury.....	67
10.	Seznam obrázků a tabulek .....	90

## 1. Úvod

Parazitismus je jednou z nejvíce rozšířených životních strategií organismů a hraje důležitou roli v evoluci (Poulin & Morand 2000). Posledních dvě stě let bylo ve znamení významných objevů v oboru parazitologie, paraziti však přesto zůstávají závažným problémem humánní i veterinární medicíny (Volf et al. 2007). Výzkumy prováděné v tomto oboru v minulých letech i v současnosti přinášejí významné poznatky a vytváří i podmínky ke kompletnější znalosti parazitóz a to jak z hlediska regionálního uplatnění, tak i ekologických vztahů a umožňují všestranný přístup k jejich účinnému tlumení (Chroust & Forejtek 2010a).

Paraziti se řadí mezi bezobratlé organismy a jsou příčinou vzniku závažných onemocnění živočichů, což představuje významný problém, neboť mnoho parazitóz má zoonotický potenciál, tyto infekce jsou tedy přenosné ze živočichů na lidi. Infekce způsobené vnitřními parazity mají u domácích i volně žijících přežvýkavců negativní vliv na jejich kondici, schopnost reprodukce a tím i na celkovou užitkovost. V některých případech jsou letálního charakteru a způsobují vysoké ekonomické ztráty farmářům (Lanková et al. 2018).

Lovná zvěř je nedílnou součástí naší přírody a její úspěšný chov a následný lov je významnou složkou mysliveckého hospodaření. Je však nutno zdůraznit, že je to především zdravotní stav zvěře, který je limitujícím faktorem všestranně ovlivňujícím fitness zvěře a kvalitu zvěřiny, a tím i výsledky mysliveckého hospodaření. V našich podmínkách jsou to především parazitární onemocnění, která mohou zdravotní stav zvěře velmi nepříznivě narušit. Přitom je nutno zdůraznit, že ztráty vyvolané parazitózami jsou dány především jejich značnou rozšířeností a dále i početností druhů, které se obvykle na infekcích podílejí. Z hlediska ekonomického nelze totiž posuzovat jejich závažnost pouze na základě přímých ztrát, tj. počtu uhynulých kusů, neboť je prokázáno, že kromě zjevně nemocných kusů se jedná i o stavy bez zjevných symptomů, které mohou podstatně snižovat schopnost reprodukce a urychlovat onemocnění jiné etiologie (infekční, nutriční a jiné). Zejména u mláďat mohou nepříznivě ovlivňovat základní fyziologické procesy i odolnost organismu v důležitých fázích jejich vývinu a růstu (Winkelmayer et al. 2005).

Dlouholetá vyšetřování prováděná celostátně, a to jak za využití autopsií, tak i koprologickými metodami, prokázala, že parazitózy se mohou v některých oblastech zásadně podílet na celkových ztrátách zvěře, především v zimním a jarním období, a to až v 50% podílu. Je tedy nutné trvale zaměřovat pozornost především na nejrozšířenější a nejvíce patogenní druhy parazitů (Chroust & Forejtek 2010b).

Management lesní zvěře má v Evropě dlouhou historii. Je však evidentní nárůst populací přežvýkavé spárkaté zvěře a mnohdy byl prokázán negativní vztah mezi nadbytkem populací volně žijící přežvýkavé spárkaté zvěře a jejich zdravotním stavem (Gortázar et al. 2007; Macháček et al. 2014; Zbořil 2017). Tato zvěř navíc často vstupuje na pastviny domácích přežvýkavců a šíří tak parazitární infekce na hospodářská zvířata. Proto v současnosti získává na důležitosti dohled nad onemocněními přežvýkavé spárkaté zvěře a jejich kontrola (Nechybová et al. 2018).

Ačkoli většina druhů filariodních hlístic (vlasovců) je nepatogenních a nebývá mnohdy ani důvod je v organismu hledat (Bartlett 2008), tak přesto je dohled nad nově se vyskytujícími infekčními chorobami především zoonotického potenciálu způsobovanými filáriemi z čeledi Onchocercidae důležitou prioritou vyžadující neustálou pozornost (Lafferty 2014).

Filarioidní viviparní hlístice rodu *Setaria* Viborg, 1795 (Nematoda: Filarioidea), čítající více než čtyřicet druhů (Gibson et al. 2014), se mohou vyskytovat ve tkáních všech obratlovců kromě ryb. Jejich přítomnost bývá prokázána obvykle u skotu, koní, ovcí, koz a volně žijících přežvýkavců (Anderson 2000; Singh et al. 2014; Singla et al. 2014). Z veterinárního hlediska reprezentují nejvýznamnější druhy filariodních nematod detekovaných u přežvýkavé spárkaté zvěře (Rehbein et al. 2014).

Navzdory veterinárnímu významu a širokému výskytu *S. cervi* nebyl vývoj této hlístice v hostitelích doposud důkladně studován. Existuje pouze minimum morfologických studií a v některých případech jsou tyto studie nejednoznačné. Proto byla disertační práce zaměřena na podrobné zkoumání morfologických struktur těla, popis podrobných charakteristik a odlišností larválních stádií, juvenilních a adultních samic i na deskripci morfologii samců.

## 2. Literární přehled

### 2.1 Nadčeleď Filarioidea

Zástupci této skupiny parazitů mohou infikovat různé obratlovce včetně plazů, obojživelníků, ptáků a savců, tedy i lidí. Velké množství rodů včetně *Setaria* spp. je zahrnuto do čeledi Onchocercidae (Sanchez-Godoy et al. 2020). Existuje mnoho druhů filárií a infekce se může vyskytovat častěji, než je dosud známo nebo dokumentováno ve vědeckých studiích, navíc filariodní hlístice se při pitvě často obtížně hledají. Některé druhy jsou životaschopné pouze po krátkou dobu a mohou zmizet krátce po svém rozmnožení, tedy v okamžiku, kdy samice vyprodukují v těle hostitele larvy (mikrofilárie).

Celosvětovým závažným zdravotním problémem, zejména v tropických a subtropických oblastech, jsou hlístice řádu Spirurida (Morales - Hojas 2009). Způsobují infekce, které mohou vést až k úmrtí (Urquhart et al. 1987). Závažným onemocněním postihujícím v současné době přibližně 90 milionů lidí v 52 zemích je lymfatická filarióza, projevující se lymfatickým edémem - tzv. elefantiázou. Existují tři filarioidní hlístice způsobující toto závažné onemocnění: *Brugia malayi*, *Brugia timori* a *Wuchereria bancrofti*. Poslední jmenovaná hlístice je příčinou 90 % všech případů lymfatické filariózy (Paily et al. 2006; Kroidl et al. 2019; Small et al. 2019).

Významné jsou nejen lékařské, ale i veterinární a ekonomické důsledky, přičemž jsou kosmopolitně ohroženy miliony lidí i zvířat (World Health Organization, 2012, 2014). Riziku infekcí způsobených filariodními hlísticemi je vystavena více než jedna miliarda obyvatel (Behm et al. 2005). Z tohoto důvodu jsou parazitické hlístice zařazené do řádu Spirurida předmětem rozsáhlého výzkumu s cílem objasnit epidemiologické podmínky přenosu (Bain et al. 2008; Sallés & Garner 2019).

Adultní zástupci filárií jsou obvykle dlouhé a tenké hlístice vyskytující se v hostitelích v různých tkáních vyjma gastrointestinálního traktu (Strait et al. 2012).



Vektory těchto parazitů jsou hematofágní členovci (Anderson 2000), jejichž migrační způsob lze považovat za ukazatele klimatických změn (Genchi et al 2009; Laaksonen 2010). Klimatické změny významně ovlivňují frekvenci, intenzitu a geografickou distribuci filariodních hlístic, především jejich larválních stádií u hostitelů vzhledem k nárůstu migrace bezobratlých vektorů (Okulewicz 2017). Tyto hlístice jsou z důvodu migrace vektorů i vzniku anthelmintických rezistencí obtížně kontrolovatelné (Yatawara et al. 2007). Molekulárně - genetické analýzy jsou nezbytné k potvrzení jejich morfologických popisů i taxonomické klasifikace a tedy i ke zlepšení našeho chápání epidemiologie těchto druhů (Yatawara et al. 2007; Alasaad et al. 2012).

## 2.2 Hlístice rodu *Setaria*

V Evropě bylo zaznamenáno pět druhů patřících do rodu *Setaria* (Gibson et al. 2014), z nichž čtyři druhy (*Setaria cervi* (Rudolphi, 1819), *Setaria tundra* Isaichikov & Rajewskaja, 1928, *Setaria labiatopapillosa* Alessandrini, 1848 a *Setaria transcaucasica* Assadov, 1952) byly prokázány u volně žijících přežvýkavců (Schwangart 1940; Blažek et al. 1968; Shol & Drobishchenko 1973; Kotrlá 1984; Husák et al. 1986; Korsholm 1988; Baruš 1994; Jarvis 1995; Aguirre et al. 1999; Anderson 2000; Rehbein & Visser 2007; Laaksonen et al. 2009a; Chroust & Forejtek 2010a; Kowal et al. 2013; Rehbein et al. 2014; Demiaszkiewicz et al. 2015; Rajský 2015; Angelone - Alasaad et al. 2016; Enemark et al. 2017).

Druh *Setaria equina* (Abildgaard, 1789) se vyskytuje u koní, oslů a mul (Hornok et al. 2007; Regnier et al. 2019), výskyt byl však zjištěn i u skotu (Becklund & Walker 1969).

Údaje o výskytu druhu *S. digitata* Linstow, 1906 v Evropě jsou nejisté a jeho skutečný přirozený výskyt v Itálii nebyl nikdy potvrzen molekulárně - genetickými metodami (Alasaad et al. 2012).

Nejvyšší prevalence a s tím související vysoké ekonomické ztráty zejména u skotu způsobují hlístice *Setaria* spp. především v Asii: Mohanty et al. (2000) a Shin et al. (2002) uvádějí prevalenci 70 % u skotu, Sundar & D'Souza (2015) 18,96 - 56,8% rovněž u skotu. Tung et al. (2003) prokázali u buvolů a skotu prevalenci 22,6 - 56,4%. V Evropě

(v Itálii), činila u skotu prevalence *Setaria labiatopapillosa* 11,28 - 35,1 % (Pietrobelli et al. 1995).

### 2.3 Historické záznamy a problematika taxonomického zařazení

Liang-Sheng (1959) uvádí datování některých veterinárně významných filarioidních druhů hlístic již z doby života Carla Linného. Rod *Setaria* Viborg, 1795 se tehdy nazýval rodem *Filaria* a zahrnoval seznam s vysokou pravděpodobností synonymních druhů, neboť v tehdejší době nemohlo být jejich ověření realizovatelné. Autor uvádí zařazení rodu *Setaria* v podčeledi Setariidae ve spojitosti s výskytem u hostitelů čeledi Equidae, zatímco v souvislosti s čeledí Cervidae býval zmiňován rod *Artionema*.

Baylis (1936) ve své práci uvádí, že hlístici *Setaria altaica* Rajewsky (1928) nalezenou v organismu jelena sibiřského (*Cervus canadensis asiaticus*), známého též jako wapiti sibiřský, popsal Rajewsky jako odlišnou od ostatních druhů tím, že má na rozdíl od ostatních druhů pět párů cefalických papil. To je však dle jiných autorů počet typický pro druh *Setaria labiatopapillosa* (Rajewsky však u tohoto druhu popisuje párů sedm). Naopak Baylis (1936) uvádí, že morfologické studie *S. altaica* a *S. labiatopapillosa* nevykazují žádný rozdíl a považuje tyto druhy za synonymní. Problematika synonym byla zaznamenána i u jiných druhů: Purvis (1931) v krátkém písemném sdělení uzavřel, že *S. labiatopapillosa* a *Setaria digitata* Linstow, 1906 jsou jeden druh. Jeho závěr byl v pozdějších dobách jinými autory podporován i zpochybňován. Liang-Sheng (1959), Osipov (1966) a Shol et al. (1971) zmiňují druh *Setaria cervi* Maplestone (1931) jako synonymum druhu *S. altaica*. Baylis (1936) ovšem zastává názor, že *Setaria cervi* (Rudolphi, 1819) je jednoznačně synonymním druhem *S. labiatopapillosa*.

Pochybnosti ohledně taxonomického označení provázely druh *Setaria cervi*. Baylis (1936), který na existenci druhu *Setaria cervi* (Rudolphi, 1819) poukázal, ve své práci popisuje, že Rudolphi použil název „*Filaria cervi*“ pro hlístice získané z jelena evropského (*Cervus elaphus*) z muzejní sbírky ve Vídni. Pravdou zůstává, že nikdy neprovedl morfologický popis a název je označen křížkem, což značí, že Rudolphi sám tento exemplář detailně nestudoval. Nicméně výčty a citace hostitelů spolu s výskytem hlístic v nich objevených mohlo být v roce 1819 dostačující pro splnění podmínek

Mezinárodních pravidel zoologické nomenklatury a uvedení jeho jména k tomuto druhu. Ovšem později Liang-Sheng (1959) uvádí, že první deskripci *Setaria cervi* nalezené u jelínka vepřího (*Hyelaphus porcinus*) a axise indického (*Cervus axis*) provedl až Maplestone v roce 1931 a to pouze u dvou samic. Maplestone popisoval hlístice jako podobné *S. digitata* dle popisu tohoto druhu Boulengerem (1920), ale udává, citují, že „ve všech rozměrech jsou o něco menší“. Jako konzistentní zůstává dle Baylise (1936) z hlediska taxonomie název *Setaria cervi* (Rudolphi, 1819), lze se však setkat i s názvem „*Setaria cervi* (Rudolphi, 1819) Maplestone, 1931“, jak uvádí ve své studii Ansari (1963).

Poměrně problematická diskriminace druhů na základě morfologických popisů naznačuje, že v tomto velkém druhovém spektru mohou být přítomna i v současné době mnohá synonyma (Bürger et al. 2006; Taylor et al. 2015), proto je pro korektní taxonomickou klasifikaci rodu *Setaria* nezbytné využití molekulárních metod, které pomohou tento problém vyřešit (Lanková et al. 2019). V současné době je rod *Setaria* řazen do řádu Spirurida, nadčeledi Filarioidea a čeledi Setariidae (National Center for Biotechnology Information, NCBI, 2019).

#### **2.4 Výskyt *Setaria* spp. u čeledi Cervidae**

Jelenovití (Cervidae) tvoří významnou čeleď savců řádu sudokopytníků (Artiodactyla) a podřádu přežvýkavých (Ruminantia). Tato čeleď zahrnuje čtyřicet druhů jelenů rozmístěných na severní polokouli, stejně jako v Jižní Americe a jihovýchodní Asii (Gilbert et al. 2006).

V České republice dle statistických záznamů dlouhodobě stoupá populační dynamika přežvýkavé spárkaté zvěře. Zbořil (2017) uvádí za rok 2016 více než čtyřnásobný nárůst populace jelena evropského (dvacet šest tisíc kusů) oproti roku 1968 (šest tisíc kusů). U introdukovaného jelena siky (*Cervus nippon*) zmiňuje tento autor v roce 1968 počet pouhých dvě stě kusů, v roce 2010 již osm tisíc kusů a v roce 2016 dokonce více než šestnáct tisíc kusů. Přemnožení volně žijících přežvýkavců s sebou nese spolu se změnou klimatu i změnu druhového spektra vektorů i zvýšené riziko výskytu těchto filárií u hostitelů nejen čeledi Cervidae, ale i u ostatních obratlovců (Genchi et al. 2009).

*Setaria cervi* je typickým parazitem čeledí Cervidae a Bovidae, které se vyskytují napříč celou Evropou a Asií (Anderson 2000). V Evropě byl prokázán relativně vysoký výskyt *S. cervi* u jelena evropského, jelena kavkazského (*Cervus elaphus maral*) a daňka skvrnitého (*Dama dama*) (Schwangart 1940; Blažek et al. 1968; Shol & Drobishchenko 1973; Husák et al. 1986; Aguirre et al. 1999; Chroust & Forejtek 2010a; Rehbein et al. 2014; Demiaszkiewicz et al. 2015; Rajský 2015). Naopak u jelena siky bývá výskyt vzácnější (Rehbein & Visser 2007).

Zřejmě nejstarší informaci o výskytu *S. cervi* u dvou kusů jelenů v Německu, z nichž oba jevíli příznaky paralýzy zadní části těla, publikoval Schwangart (1940). Devět let trvající epidemiologická studie uvádí *S. cervi* jako příčinu úhynu srců ve Švédsku s uvedenou prevalencí 8 % (Aguirre et al. 1999). V abdominální dutině daňka evropského popisují její nález Husák et al. (1986). U jelenů sika v Rakousku se prokázala prevalence výskytu 8 % (Rehbein & Visser 2007). V České republice Chroust & Forejtek (2010a) udávají prevalenci 20 % u jelenů evropských. Mráčková (2015) molekulárně – genetickými metodami detekovala mikrofilárie *S. cervi* u jelena evropského v České republice.

*S. labiatopapillosa* byla v Evropě prokázána zejména u skotu, ovcí a koz (Soulsby 1982; Pietrobelli et al. 1995; Khedri et al. 2014), ale i u jelenů evropských, jelenů sika (Anderson 2000) a také u srců obecných (Richter 1959). Výskyt u zubrů evropských (*Bison bonasus*) s prevalencí 71 % v Polsku uvádějí autoři Demiaszkiewicz et al. (2007).

Dalším významným druhem v Evropě je *S. tundra*, známá svým rozsáhlým výskytem u sobů polárních (*Rangifer tarandus*) ve Finsku (Laaksonen et al. 2007). V poslední době roste počet zpráv popisujících výskyt u srců obecných (Laaksonen et al. 2009a; Bednarski et al. 2010; Chroust & Forejtek 2010a; Rajský 2015;), u losů evropských (*Alces alces*) ve Finsku (Laaksonen 2010) a nálezy byly popsány i v Polsku (Demiaszkiewicz et al. 2015). Výskyt mikrofilárií *S. tundra* byl prokázán na území Evropy molekulárně - genetickými metodami rovněž v jejich vektorech: v Itálii (Favia et al. 2003), ve Finsku (Laaksonen et al. 2009b), v Německu (Czajka et al. 2012; Kronefeld et al. 2014), v Dánsku (Enemark et al. 2017), v Maďarsku (Kemenesi et al. 2015; Zittra et al. 2015) a ve Španělsku (Angelone-Alasaad et al. 2016). Vzhledem

ke klimatickým změnám vedoucím k teplejšímu a vlhčímu počasí se očekává nárůst populace komárů a tedy i lepší podmínky pro vývoj mikrofilárií ve vektorech, což může vést ke zvýšení prevalence této filarioidní hlístice v hostitelích (Enemark et al. 2017).

Publikovaná hodnota prevalence *S. tundra* u srnců obecných byla v České republice 15 % (Chroust & Forejtek 2010a). V Polsku 9,4 % (Kowal et al. 2013), 23 % (Demiaszkiewicz et al. 2015), 5,6 % (Tomczuk et al. 2017) a Ološ et al. (2019) uvádějí celkovou prevalenci 27,3 % (nález *S. cervi* i *S. tundra*). V Chorvatsku byl prokázán výskyt s uvedenou hodnotou prevalence 24,4 % (Čurlík et al. 2019), ve Finsku 40,1 - 44 % (Laaksonen et al. 2009b; Laaksonen 2010). V Itálii uvádějí Beraldo et al. (2016) prevalenci 47,1 %. Ve Finsku u losů evropských udává Laaksonen (2010) prevalenci 1,8 % a u sobů polárních (*R. tarandus*) 23 %.

Velmi nejednoznačný taxonomický status má *Setaria transcaucasica*. Tento druh byl v některých studiích zmiňován v souvislosti s nálezem u volně žijící přežvýkavé zvěře v Evropě včetně České a Slovenské republiky (Kotrlá 1984; Baruš 1994; Jarvis 1995). Korsholm (1988) uvádí nález tří hlístic u srnce obecného na území ostrova Læsø v Dánsku. V této studii popisuje, že hlístice získané z mladších zvířat byly zapouzdřeny ve viscerálních orgánech a tkáních, zatímco u zvířat starších se nacházely v peritoneální dutině volně. Enemark et al. (2017) ve své studii prokázali u dvanácti hlístic lokalizaci v subkapsulární vrstvě viscerálních orgánů (konkrétně jater) u dospělého hostitele. Tito autoři shodně s Rajským (2010) zmínili nejednoznačný taxonomický status této hlístice, neboť v literatuře lze nalézt jen málo informací o její morfologii, druhovém spektru vektorů i způsobu přenosu. Autoři předpokládali, že *S. transcaucasica* může být dřívějším synonymem druhu *S. tundra*, což potvrzuje skutečnost, že pro *S. transcaucasica* nelze nalézt žádné molekulární údaje v mezinárodních genomických databázích a proto není možno provést žádnou komparativní studii (Lanková et al. 2019).

Poslední druh s potvrzeným výskytem v Evropě, *Setaria equina*, nebyl prokázán u volně žijících přežvýkavců. Je obvyklou filarioidní hlísticí koní, mul a oslů (Mohamed & Ahmed 1994; Oge & Oge 2003; Boch & Bauer 2006; Hornok et al. 2007; Marzok & Desouky 2009; Regnier et al. 2019). Její výskyt u oslů v Makedonii a v Řecku

prokázali Sotiraky et al. (1997) a v Polsku její nález u koní uvádí Gawor (1995). V Tabulce 1 je uveden přehledný souhrn známých druhů hlístic *Setaria* spp.

Tab. 1: Seznam druhů hlístic rodu *Setaria*

<i>Setaria africana</i> Yeh, 1959	<i>Setaria kabarga</i> Kadenazii, 1948
<i>Setaria altaica</i> Rajewskaja, 1928	* <i>Setaria labiatopapillosa</i> Alessandrini, 1848
<i>Setaria bernardi</i> Railliet & Henry, 1911	<i>Setaria latilineata</i> Xia, Zhan & Li in Xia, Zhan, Li, Wu & Su, 1979
<i>Setaria bicoronata</i> Linstow, 1901	<i>Setaria longicauda</i> Chabaud & Rousselot, 1956
<i>Setaria bidentata</i> Molin, 1858	<i>Setaria loveridgei</i> Sandground, 1928
<i>Setaria boulengeri</i> Thwaite, 1927	<i>Setaria loveridgei</i> Sandground, 1928
<i>Setaria capreoli</i> Kadenazii, 1957	<i>Setaria machadoi</i> Desset, 1966
<i>Setaria castroi</i> Ortlepp, 1964	<i>Setaria marshalli</i> Boulenger, 1931
* <i>Setaria cervi</i> (Rudolphi, 1819)	<i>Setaria pillersi</i> Thwaite, 1927
<i>Setaria congolensis</i> Sandground, 1933	<i>Setaria poultoni</i> Thwaite, 1927
<i>Setaria cornuta</i> Linstow, 1899	<i>Setaria rodhaini</i> Van Den Berghe & Vuylsteke, 1936
* <i>Setaria digitata</i> Linstow, 1906	<i>Setaria saegeri</i> Le Van Hoa, 1962
<i>Setaria dipetalonematoides</i> Chabaud & Rousselot, 1956	<i>Setaria sandersoni</i> Baylis, 1936
<i>Setaria dubosti</i> Desset, 1966	<i>Setaria scalprum</i> Linstow, 1908
<i>Setaria effilaria</i> Linstow, 1897	<i>Setaria shohoi</i> Desset, 1966
* <i>Setaria equina</i> (Abildgaard, 1789)	<i>Setaria southwelli</i> Thwaite, 1927
<i>Setaria gagarini</i> Mamedov, 1970	<i>Setaria thomasi</i> Sandosham, 1954
<i>Setaria gaillardii</i> Desset, 1966	<i>Setaria thwaitei</i> Mönnig, 1933
<i>Setaria hartwichi</i> (Yeh, 1959)	* <i>Setaria transcaucasica</i> Assadov, 1952
<i>Setaria hornbyi</i> Boulenger, 1921	<i>Setaria transversata</i> Linstow, 1907
<i>Setaria hyracis</i> Baylis, 1932	* <i>Setaria tundra</i> Isaichikov & Rajewskaja, 1928
<i>Setaria indica</i>	<i>Setaria yehi</i> Desset, 1966
<i>Setaria javensis</i> Vevers, 1923	<i>Setaria yorkei</i> Thwaite, 1927

Zdroj: Gibson et al. (2014) a Gibson (2017) - <https://fauna-eu.org>.

Pozn.: \* druhy považované v Evropě za potenciální parazity obratlovců

## 2.5 Epizootologie a patogeneze *Setaria* spp.

Dospělé filarioidní nematody žijí obvykle volně v peritoneální dutině, na povrchu střev, jater, na hrudní a břišní stěně, na plicích, perikardu, močovém měchýři, děloze a fascii (Davoodi 2014; Sundar & D'Souza 2015), v subkapsulární vrstvě viscerálních orgánů (Enemark et al. 2017) i subkutánně (Husák et al. 1986) a bývají snadno viditelné již při vyvrhování orgánů zvěře (Chroust & Forejtek 2010a).

V malém počtu nebývají obvykle považovány za patogenní a často nebývá u hostitelů jejich přítomnost zjištěna. Výskyt malého počtu hlístic může způsobit mírnou, klinicky obvykle nevýznamnou fibrinózní peritonitidu (Sigraskar et al. 1999; Golovko & Shchetinsky 2005; Davoodi 2014). Byly však popsány případy masivní invaze těmito filáriemi. Například Richter (1959) popsal nález čtyřiceti tří druhově nespecifikovaných zástupců rodu *Setaria* v peritoneální dutině jednoho kusu srnce obecného (*Capreolus capreolus*), dále Bednarski et al. (2010) uvádějí nález čtrnácti dospělých hlístic *S. tundra* rovněž v peritoneální dutině srnce obecného. V obou případech byla zvířata bez výrazných patologických příznaků. Ve vzácných případech může přítomnost dospělých hlístic v peritoneální dutině vést k těžkému průběhu peritonitidy, jejichž ohniska byla zaznamenána v sedmdesátých letech 20. století u sobů (*R. tarandus*) ve Švédsku a Norsku a později v letech 2003 - 2005 u sobů a losů evropských ve Finsku, což vedlo k významným ekonomickým ztrátám (Laaksonen et al. 2007).

Výskyt byl prokázán i v podkožním vazivu, kde tyto filárie vytvářejí různě velké noduly (Husák et al. 1986). Zaznamenány byly makroskopické léze, zesílená zánětlivá ložiska na povrchu břišních orgánů, bránice i kalcifikace v oblasti peritonea a oementa (Rao 1941; Beraldo et al. 2016). Larvální stádia (mikrofilárie) se vyskytují v krevním oběhu, především v kapilárách uložených v kůži a podkoží, výjimečně v mléce nebo v předních částech očních komor (Rommel et al. 2000). Přítomnost těchto hlístic v očích hostitele může způsobit oční setariózu, projevující se slzením, zákalem rohovky a konjunktivitidou (Shin et al. 2002; Mohan et al. 2009; Verma et al. 2016).

Migrovat mohou ovšem i do lymfatických cév (Sundar & D'Souza 2015). Autorský tým Gaipova et al. (2018) ve své studii poprvé popsal výskyt zástupců rodu *Setaria*, konkrétně druhu *S. labiatopapillosa* v mezenterických mízních uzlinách u skotu.

Thirumurthy et al. (1995) popisují nález hlístice *Setaria* spp. v moči mladého býčka. Prokázán byl i transplacentární přenos z matky na mládě. Mikrofilarie mohou proniknout do placenty, vstoupit do krevního oběhu plodu a v něm se vyvinout v dospělou hlístici (Fujii et al. 1995; Kim et al. 2010; Schuster et al. 2019).

Přítomnost mikrofilárií stádia L1 v krevním oběhu přirozeného hostitele vede k mikrofilarióze obvykle s nevýznamnými klinickými důsledky (Sigraskar et al. 1999). Nebezpečí nastává, jakmile mikrofilarie migrují do centrálního nervového systému především svých nepřirozených hostitelů, např. ovcí a koz (Bazargani et al. 2008; Dehkordi et al. 2015) a vedou k závažným a ve většině případů k fatálním neuropatologickým poruchám známých pod názvy epizootická cerebrospinální setarióza / nematodióza (Wijesundera et al. 1996; Tung et al. 2003; Sundar & D'Souza 2015) nebo encephalomyelitída (Boch & Bauer 2006). Tyto neuropatologické poruchy vedou k dysfunkci centrálního nervového systému, vyvolávající příznaky poruch motoriky, slabost, ataxii, lumbální ochrnutí a vedou ke smrti infikovaných zvířat (Innes & Shoho 1952). Larvální stádia *S. cervi* byla nalezena v mozkomíšní tekutině dvou jelenů evropských, což vedlo k lumbální paralýze a následnému exitu (Schwangart 1940). Mikrofilarie vstupují do centrálního nervového systému podél spinálních a mozkových nervů, migrují také přes mozkovou a míšní tkáň (Blažek et al. 1968). Ansari (1963) uvádí, že navzdory velkým tělesným rozměrům hostitelů bývá množství adultních filárií obvykle velmi nízké, stejně tak i počet mikrofilárií v krevním řečišti, což pro studijní účely představuje značné potíže.

Pozorování Sharma et al. (1998) odhalila systémové patologické změny po experimentální infekci *Setaria*, konkrétně hepatomegálii, zvětšení ledvin a sleziny, hemoragická ložiska v mozku a míše a emfyzém v plicích. Podle autorů mohou být tyto změny způsobeny cirkulací a absorpcí vylučovaných sekretů hlístic produkovaných během jejich růstu a reprodukce i produkty rozpadu mrtvých hlístic a mikrofilárií.



### 2.5.1 Zoonotický potenciál *Setaria* spp.

Zoonotický potenciál hlístic *Setaria* spp. nelze podcenit. Dle Nelsona (1962) může být druh *S. labiatopapillosa* u lidí příčinou neurologických stavů nespecifikovaného charakteru. Cancrini et al. (1997) uvádějí, že ačkoli do té doby dosud nebyly zdokumentovány u lidí žádné takové případy, zmiňují toto riziko zejména u chovatelů skotu. Charakteristické zooantropofilní druhy komárů (*A. caspius*, *A. vexans*, ale i druhy *A. claviger* a *A. maculipennis*) jsou nejčastějšími vektory hlístic *S. labiatopapillosa*, což podporuje hypotézu možného přenosu této hlístice na člověka. Konkrétně v Itálii je tato eventualita dále posílena přítomností druhu *A. albopictus* (Cancrini et al. 1995). Ve skutečnosti je tento komár obzvláště agresivní vůči skotu i lidem a v současné době se rychle šíří. Experimentální studie prokázaly tento druh jako účinného vektora nejen pro přenos *S. labiatopapillosa*, ale i pro jiné filárie zařazené do čeledi Onchocercidae, např. *Dirofilaria repens*, jejichž výskyt byl prokázán u psovitých šelem i lidí na území České republiky (Matějů et al. 2016).

V Rumunsku (Bukurešť) popsali první případy subkonjunktivální oční infekce způsobené hlísticí *S. labiatopapillosa* Panaitescu et al. (1999). Všechny čtyři pacientky žily v sousedství jezera Pantelimon, oblasti známé svým druhově bohatým spektrem vektorů těchto nematod.

V Iránu byla nalezena v oku patnáctileté dívky hlístice, jež byla morfologicky i molekulárně - genetickými metodami identifikována jako samice *S. equina* (Nabie et al. 2017). U lidí jsou nejčastěji popisovány oční infekce, avšak infekce způsobené hlísticemi rodu *Setaria* mohou způsobovat i abscesy, alergické reakce, zvětšení lymfatických uzlin a pneumonitidy (Rodrigo et al. 2014).

Ṭālu et al. (2012) popsali kazuistiku subkonjunktivální setariózy u šedesátipětiletého muže diagnostikovaného dva roky po cestě do Singapur. Hlístice byla okamžitě odstraněna ze subkonjunktiválního prostoru a pacientovi byly podány lokální antibiotické a protizánětlivé oční kapky. Byla zaznamenána úplná remise onemocnění. Přítomnost motilní hlístice pod lidskou spojivkou je vzácný stav, který vyžaduje neodkladná opatření, aby se zabránilo její migraci do méně přístupných míst.

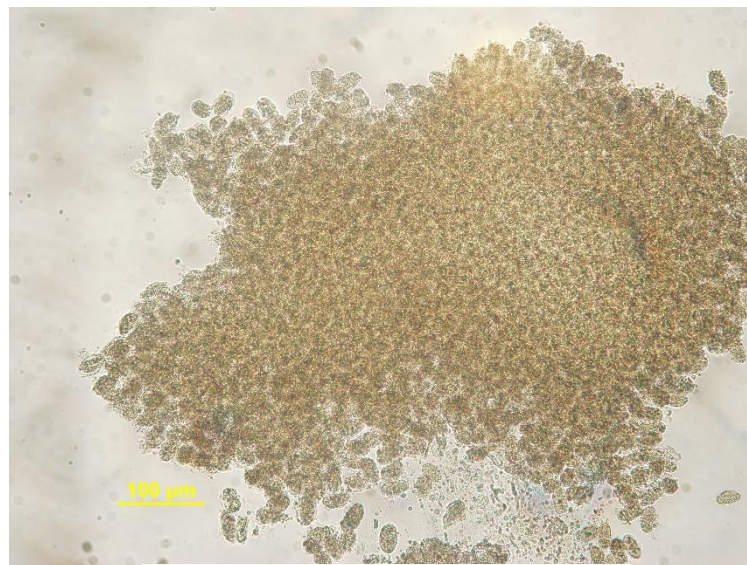
Vzhledem k tomu, že člověk je konečným (slepým) hostitelem neumožňujícím těmto hlísticím reprodukci, je jediným řešením chirurgické odstranění nalezené hlístice.

## 2.6 Životní cyklus hlístic rodu *Setaria* a variabilita vektorů

Adultní viviparní samice osídlující peritoneální a thorakální dutiny produkují denně tisíce larev (mikrofilárií) vyvíjejících se v děloze z vajíček (viz Obrázek 1) do krevního oběhu svých hostitelů. U druhu *S.labiatopapillosa* Nelson (1966) popisuje v děloze samice minimálně padesát tisíc mikrofilárií vývojového stádia L1. Nikander et al. (2007) a Laaksonen et al. (2009a) uvádějí jedno sto osmdesát až dvě stě tisíc mikrofilárií L1 přítomných v děloze samice *S.tundra*.

Při sání krve se mikrofilárie dostávají do přenašečů, komárů čeledi Culicidae, kde se z nich po dvojím svlékání kutikuly stávají infekční larvy L3 vývojová stádia. Jakmile infikovaný komár znovu saje krev, larva L3 se dostává bodavým ústrojím do těla hostitele, v němž jejich vývoj pokračuje dalšími svlékáními kutikuly a dostávají se do břišní či hrudní dutiny (Laaksonen et al. 2009a).

Samice a samci hlístic *Setaria* spp. přirozeně pobývají v břišní a peritoneální dutině po dobu až 1,5 roku (Anderson 2000).



Obr. 1: Vajíčka *S. cervi*  
(foto: Sylva Lanková, 2018)

Mikrofilárie *S. cervi* jsou na počátku svého vývoje ve fázi L1 stádia 280  $\mu\text{m}$  dlouhé a 8  $\mu\text{m}$  široké. Během 10 dnů musí v hrudní svalovině komára projít mnoha změnami, než dosáhnou infekčního stádia. Po prvním svléknutí migrují larvy do hrudní svaloviny vektora a diferencují se po 24 hodinách na krátké larvy vývojového stádia L2 o rozměrech 215 x 9  $\mu\text{m}$ , po 48 hodinách 171 x 17  $\mu\text{m}$  a třetí den 120 x 20  $\mu\text{m}$ . K přeměně na infekční L3 stádium dochází po druhém svléknutí devátý den. Infekční L3 larvy jsou dlouhé 2318  $\mu\text{m}$  a 39  $\mu\text{m}$  široké. Jedenáctý den se většina infekčních larev hromadí v hlavě a bodavém aparátu komára a může se uskutečnit přenos na dalšího obratlovce (Wajihullah & Ansari 1981), v němž pokračuje jejich další vývoj.

Mikrofilárie se zpočátku u svých definitivních hostitelů shromažďují v pojivové nebo aponeurotické tkáni a poté migrují obvykle do břišní či hrudní dutiny, kde podléhají dvojímu svlékání kutikuly (ekdyzi), tedy poprvé z infekční L3 larvy do vývojového stádia L4 a podruhé do juvenilního stádia L5 (Tung et al. 2003). Juvenilní samci i samice L5 dospívají v adultní jedince přibližně během deseti měsíců až jednoho roku (Bain & Babayan 2003; Perumal et al. 2015) a v tomto období výrazně rostou (Sommerville 1960; Wilson 1976; Sonin 1977). L4 larvální stádia a juvenilní samice byly morfologicky studovány a popsány jen částečně u druhů *Setaria marshalli* (Boulenger, 1921) a *Setaria digitata* (Tung et al. 2003). U *S. cervi* byla dosud publikována pouze velikost těla dospělých hlístic (Blažek et al. 1968; Sonin 1977).

Prepatentní perioda trvá u hlístic *S. tundra* od tří do čtyř měsíců (Laaksonen et al. 2009a; Laaksonen 2010). Dobu trvání u v Evropě se nevyskytujícího druhu *Setaria marshalli* dvanáct až čtrnáct měsíců uvádějí Fujii et al. (1995). Shol' & Drobishchenko (1973) popisují u *S. cervi* délku prepatentní periody v průměru dvě stě dvacet čtyři dnů.

Mezi obvyklé vektory druhu *S. cervi* se řadí komáři, především rody *Culex*, *Armigeres* a *Mansonia* (Tung et al. 2003; Joardar et al. 2018), dále druhy *Aedes vexans*, *Ochlerotatus annulipes*, *O. sticticus*, *O. cantans*, *O. rusticus*, *Coquillettidia richiardii*, *Anopheles hyrcanus*, *A. claviger* (Czajka et al. 2012; Kemenesi et al. 2015) i muchničky a mouchy čeledí Simuliidae, Muscidae, zejména rod *Stomoxys* (Baldacchino et al. 2013) a druh *Haematobia stimulans* (Azari-Hamidian et al. 2019).

*S. tundra*, hojně se vyskytující v oblasti Skandinávie, zejména ve Finsku, je nejčastěji přenášena komáry rodu *Aedes*. Teplá léta podporují vývoj těchto filárií ve vektorech tím, že nutí soby k jejich shlukování v mokřadech bohatých na výskyt komárů, což samozřejmě podporuje přenos a genezi infekce (Laaksonen et al. 2009b). V Maďarsku byly mikrofilárie *S. tundra* detekovány u komárů druhu *C. richiardi* (Kemenesi et al. 2015).

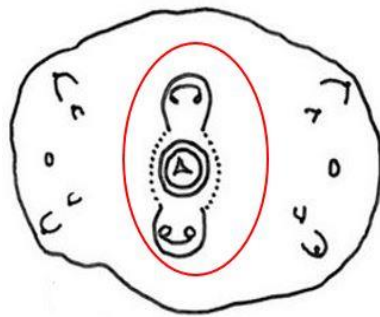
Ačkoli je pro většinu vektorů, zejména komárů, přenášejících mikrofilárie na definitivní hostitele charakteristický nokturnální způsob přenosu (Behera & Bhatnagar 2017; Mukherjee et al. 2017), tak v mnoha evropských regionech včetně České republiky, Chorvatska, Švédska a Francie byla naopak pozorována denní aktivita komárů (Jaenson 1988; Merdič & Boca 2004; Ponçon et al. 2007; Šebesta et al. 2011).

## **2.7 Variabilita morfologických znaků *Setaria* spp. vyskytujících se u volně žijících přežvýkavců na území Evropy**

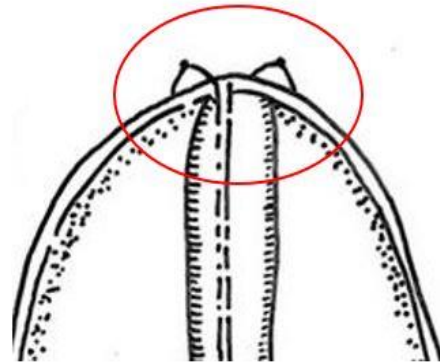
Hlístice rodu *Setaria* jsou vlasovité, mléčně bílé hlístice, jejichž samice dosahují délky až 156 mm a samci 80 mm (Blažek et al. 1968; Žďárská & Scholl 1978; Wee et al. 1996; Nakano et al. 2007; Bednarski et al. 2010; Kim et al. 2010; Kuligowska et al. 2015; Singh et al. 2013; Sundar & D'Souza 2015; Enemark et al. 2017). Za zásadní determinační znaky charakteristické pro tento rod lze považovat zejména cefalické zakončení těla, především uspořádání jednotlivých struktur peribukální koruny (ventrální a dorzální výčnělky, tvar ústního otvoru) (viz Obrázek 2 a 3), společné pro obě pohlaví a kaudální zakončení těla, které je rovněž důležitým rozlišovacím znakem pro určení pohlaví. Především tvar a lokalizace ocasních přívěsků a u samců počet a uspořádání papil (viz Obrázek 5) je druhově specifické (Becklund & Walker 1969; Shoho & Uni 1977; Žďárská & Scholl 1978, Nakano et al. 2007, Kowal et al. 2013, Sundar & D'Souza 2015, Kumar & Kumar 2016, Enemark et al. 2017). Méně výrazné, ve srovnání s jinými druhy, jsou ocasní přívěsky u *S. tundra* (Enemark et al. 2017). Kaudální část zakončená hladkým „knoflíkem“ (viz Obrázek 4) je typická pro samice *S. labiatopapillosa*, zatímco u *S. cervi* a *S. tundra* má tato struktura hrubší, pórovitější charakter (Blažek et al. 1968; Žďárská & Scholl 1978; Subhachalat & Adachi 1997; Sundar & D'Souza 2015; Kumar & Kumar 2016; Enemark et al. 2017).

Pro korektní deskripci počtu a umístění prekloakálních, kloakálních, postkloakálních, dorsolaterálních a dalších přídatných papil na kaudální části těla a také pro přesný popis tvaru ústního otvoru a lokalizaci amfidů i papil na cefalickém zakončení těla je nezbytné využití skenovací elektronové mikroskopie (Žďárská & Scholl 1978; Almeida et al. 1991; Subhachalat & Adachi 1997; Nakano et al. 2007; Kowal et al. 2013; Kumar & Kumar 2016; Enemark et al. 2017).

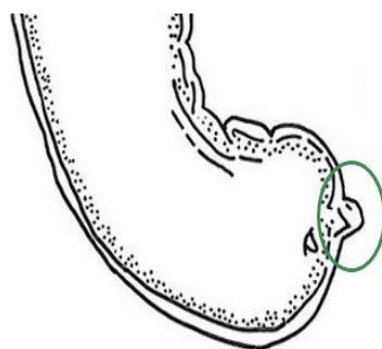
Pro jednoznačnou taxonomickou klasifikaci druhů v rámci rodu *Setaria* je nezbytná kombinace morfologických technik a molekulárně - genetických metod (Ferri et al. 2009). Morfologicky nelze určit druhy larválních stádií (Cancrini & Kramer 2001), proto i zde je na místě využití molekulárně - genetických metod k identifikaci parazitů ve všech jejich vývojových fázích (Alasad et al. 2012).



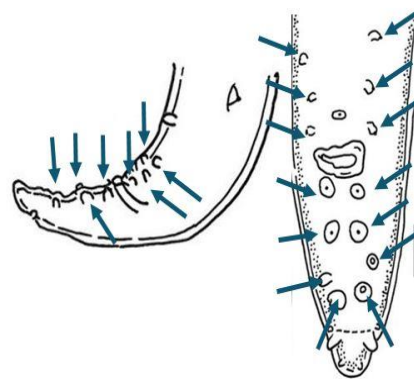
Obr. 2: Peribukální koruna *Setaria* spp. frontální pohled (Watermeyer et al. 2013)



Obr. 3: Peribukální koruna *Setaria* spp. laterální pohled (Watermeyer et al. 2013)



Obr. 4: „Knoflíkovitá“ struktura na kaudálním zakončení ♀ *Setaria* spp. (Watermeyer et al. 2013)



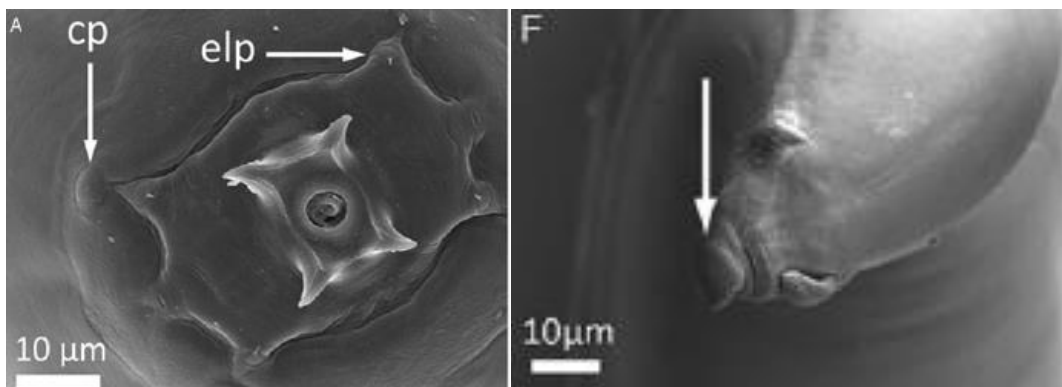
Obr. 5: Papily na kaudálním zakončení ♂ *Setaria* spp. (Watermeyer et al. 2013)

### 2.7.1 *Setaria cervi* (Rudolphi, 1819)

Cephalická část těla je identická u samců i u samic. Peribukální koruna má kruhovitý charakter, kruhovitý tvar má i ústní otvor. Dlouhé dorzálních i ventrálních výčnělků připomínají čtyřcípou hvězdu (Ološ et al. 2019). Poloha jednoho páru amfidů a dvou párů cefalických papil i externolabiálních papil jsou typické pro druhy rodu *Setaria*, nerozštěpené rty půlměsíčitého tvaru jsou viditelné pouze z laterálního pohledu (viz Obrázek 6 a 8) (Almeida et al. 1991).

Samice dosahují tělesné délky 76 - 142 mm a šířky 440 - 804  $\mu\text{m}$  (Blažek et al. 1968; Rommel et al. 2000). Charakteristickým znakem samic je zakončení ocasu strukturou podobnou knoflíku (viz Obrázek 7 a 9) (Sundar & D'Souza 2015) a povrch ocasu je hladký (Ološ et al. 2019). Williams (1955) popisuje trnité zakončení kaudálního konce samic.

Tělo samců je dlouhé 38 - 76 mm a široké 324 - 390  $\mu\text{m}$ . U adultních samců prokázala studie založená na skenování elektronovým mikroskopem přítomnost laterálních výčnělků ve tvaru rohů a pruhovaných pásů na ventrální straně ocasu (Blažek et al. 1968; Almeida et al. 1991). Kaudální konec samců je výrazně stočený (viz Obrázek 10).



Obr. 6: Frontální pohled - peribukální koruna *S. cervi*  
(SEM foto: Ološ et al. 2019)

Obr. 7: Kaudální zakončení ♀ *S. cervi*  
(SEM foto: Ološ et al. 2019)



Obr. 8: Cefalické zakončení *S. cervi* (LM foto: Sylva Lanková 2018)

Obr. 9: Kaudální zakončení ♀ *S. cervi* (LM foto: Sylva Lanková, 2018)

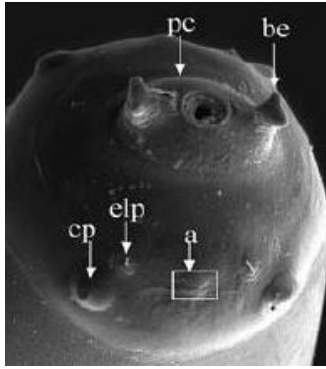
Obr. 10: Kaudální zakončení ♂ *S. cervi* (LM foto: Sylva Lanková, 2018)

### 2.7.2 *Setaria tundra* Isaichikov & Rajewskaja, 1928

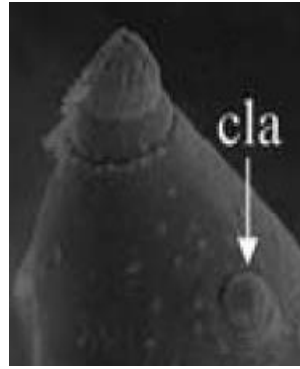
Peribukální koruna je oválná, tvar ústního otvoru je kruhovitý, dorzální a ventrální výběžky mají společnou základnu a na povrchu jsou rozdvojené, velmi krátké a jsou od sebe laterálně vzdálené. Na cefalické části těla jsou viditelné dva páry papil cefalických, dva páry papil externolabiálních a pár amfidů (viz Obrázek 11 a 14).

Samice dosahují délky 46 - 80 mm a šířky 605 - 792 µm (Nikander et al. 2007). Ocas samice je dlouhý, štíhlý, mírně stočený s mnoha výstupky na povrchu a zakončený pupenovitou, zašpičatělou strukturou a množstvím drážek a otvorů. Laterální přívěsky mají pod světelným mikroskopem trojúhelníkovitý tvar, pod skenovacím mikroskopem se však jeví spíše zaobleně. Kaudální část těla samice je zakončena kuželovitým útvarem hrubého a pórovitého charakteru (viz Obrázek 12 a 15).

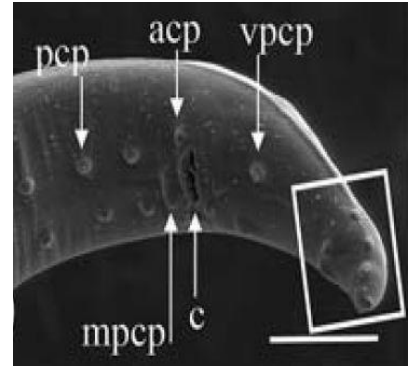
Samci dosahují délky 28 - 37 mm a šířky 320 - 347 µm. Samci mají ocas vývrtkovitě stočený se čtyřmi smyčkami. Na ventrální části kaudálního zakončení tři páry prekloakálních papil, jeden pár kloakálních, tři páry postkloakálních (Laaksonen et al. 2009a; Enemark et al. 2017), Nikander et al. (2007) popisují navíc dva páry dorsolaterálních papil a dvojici velmi malých papil v těsné blízkosti zakřivení ocasního konce (viz Obrázek 13 a 16).



Obr. 11: Frontální pohled *S. tundra* (SEM foto: Nikander et al. 2007)



Obr. 12: Kaudální zakončení ♀ *S. tundra* (SEM foto: Nikander et al. 2007)



Obr. 13: Kaudální zakončení ♂ *S. tundra* (SEM foto: Nikander et al. 2007)



Obr. 14: Cefalické zakončení *S. tundra* (LM foto: Bednarski et al. 2010)



Obr. 15: Kaudální zakončení ♀ *S. tundra* (LM foto: Bednarski et al. 2010)



Obr. 16: Kaudální zakončení ♂ *S. tundra* (LM foto: Kuligowska et al. 2015)

### 2.7.3 *Setaria labiatopapillosa* (Alessandrini, 1848)

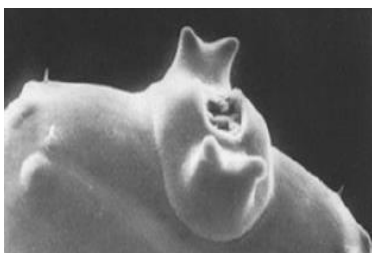
Ústní otvor je obklopen malým bukálním zesílením, krátké rozdvojené dorzální i ventrální výčnělky vycházejí ze společné základny, na povrchu se rozdvoují a mají oblé zakončení (Žďárská & Scholl 1978; Mrifag et al. 2020), ústa samce i samice jsou oválného tvaru (viz Obrázek 17 a 20). Tělo se zužuje kaudálním směrem, jehož konec je spirálovitě zatočen (Singh et al. 2013; Sundar & D'Souza, 2015).

Samice jsou dlouhé 84 - 150 mm a v průměru 550 - 600 μm široké (Nakano et al. 2007; Sundar & D'Souza 2015; Singh et al. 2013; Mrifag et al. 2020). Tělesné zakončení samic je tenké, kuželovitého tvaru se dvěma špičatými laterálními přívěsky



a ocas je zakončen výraznou trnitou strukturou (Žďárská & Scholl 1978; Subhachalat & Adachi 1997; Nakano et al. 2007; Singh et al. 2013) (viz Obrázek 18 a 21).

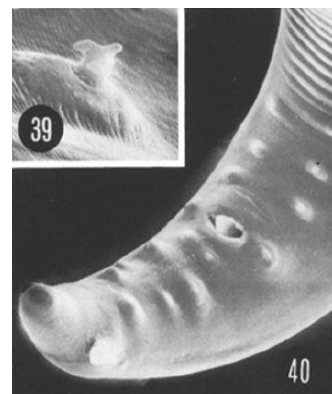
Délka těla samců se pohybuje kolem 80 mm a šířka 400  $\mu\text{m}$ . Na povrchu kaudálního zakončení samce je patrné příčné zvlnění (Žďárská & Scholl 1978; Sundar & D'Souza 2015) a čtyři páry postkloakálních, tři páry prekloakálních a jeden pár kloakálních papil (Subhachalat & Adachi 1997) (viz Obrázek 19 a 22).



Obr. 17: Peribukální koruna  
*S. labiatopapillosa*  
(SEM foto: Shoho & Uni  
1977)



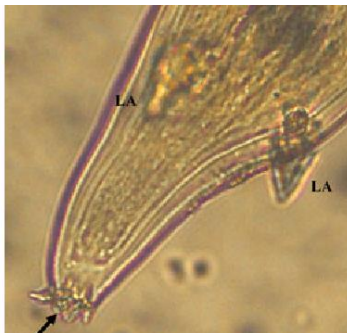
Obr. 18: Kaudální zakončení  
♀ *S. labiatopapillosa*  
(SEM foto: Shoho & Uni  
1977)



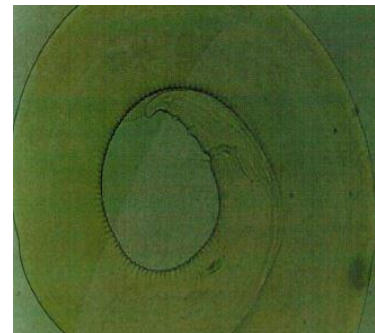
Obr. 19: Kaudální zakončení  
♂ *S. labiatopapillosa*  
(SEM foto: Shoho & Uni 1977)



Obr. 20: Cefalické zakončení  
*S. labiatopapillosa*  
(foto LM: Singh et al. 2013)



Obr. 21: Kaudální zakončení  
♀ *S. labiatopapillosa*  
(foto LM: Singh et al. 2013)



Obr. 22: Kaudální zakončení ♂  
*S. labiatopapillosa* (foto LM:  
Sundar & D'Souza 2015)

## 2.8 Variabilita *Setaria* spp. stanovená molekulárně - genetickými analýzami

Molekulární data jsou široce využívána k rychlému posouzení druhové diverzity různých organismů. DNA barcoding zahrnuje rychlé sekvenování jednoho nebo několika genů od několika jedinců stejného druhu, stejně jako porovnávání těchto sekvencí v rámci druhů i mezi nimi. Byla porovnána výkonnost DNA barcodingu s různými parametry, měřícími sílu korelace mezi morfologickými a molekulárními způsoby identifikace a porovnány různé kombinace zpracování dat vedoucí k tvorbě silnějšího nástroje pro snadnou identifikaci filaroidních hlístic (Ferri et al. 2009).

Lanková et al. (2019) analyzovali jedno sto dvacet dva záznamů charakterizujících nukleotidové sekvence druhů rodu *Setaria* uložených v databázi Národního centra pro biotechnologické informace (NCBI). Většina záznamů představuje konzervované genové sekvence, jako jsou jaderné a mitochondriální geny rDNA nebo *cox 1* gen kódující cytochrom c oxidasu I. Minimum nukleotidových záznamů se týká strukturních genů, např. *IFP* genu (Takesue et al. 2015), gen kódující „heat shock protein“ 70 (Jayasena et al. 1999), gen *MLC-3* pro lehký řetězec alkalického myosinu (Muruganathan et al. 2009), gen pro aktin (Chandrasekharan et al. 1998), gen *SXP-1* kódující hypodermálně exprimovaný SXP/RAL2 protein (Sasisekhar et al. 2005), *rpb1* gen pro RNA polymerázu, gen *MyoHC* kódující těžký řetězec myosinu (Lefoulon et al. 2015), gen pro NADH dehydrogenázu podjednotku 4 (Laaksonen et al. 2005), gen kódující fosfoglycerátkinázu (Kumar et al. 2015), gen pro H2B histon (Yadav et al. 2012a), gen kódující galectin (Yadav et al. 2012b), gen pro acidofosfatázu (Yadav et al. 2012c) a gen kódující hexokinázu (Arya et al. 2003).

Vzhledem k tomu, že je většina DNA barcodingových systémů založena na sekvenčních polymorfismech konzervativních genů, je v taxonomii *Setaria* spp. využíván především *cox1* gen i další jaderné a mitochondriální geny rDNA. Ačkoli existuje relativně velký počet sekvenčních záznamů v mezinárodní genomické databázi NCBI, je třeba poznamenat, že publikované sekvence mají často odlišný původ a charakter. Odlišný charakter sekvencí vyplývá zejména z variability jejich délky, neboť často jde pouze o částečné sekvence, které byly získány s různými záměry, např. pro

fylogenetické studie, identifikaci vzorků získaných z disekcí nebo konzervovaných sbírek či pro diagnostiku mikrofilárií v hostitelích a vektorech (Lanková et al. 2019).

Kompletní sekvence genu *cox1* byla dosud provedena pouze u druhů *S. digitata* (Yatawara et al. 2010; Liu et al. 2017). *S. labiatopapillosa* (Gao et al. 2019). Do této doby byly v mezinárodní genomické databázi NCBI u druhu *S. cervi* zveřejněny pouze parciální sekvence.

## 2.9 Využití *Setaria* spp. při výzkumu léků proti filariózám

Lymfatická filarióza, zásadní a nebezpečné infekční onemocnění přenášené krevsajícími vektory bývá způsobena nejčastěji filariodními hlísticemi *Wuchereria bancrofti*, *Brugia malayi*, *Brugia timori* a *Loa loa*. Způsobuje chronické postižení v tropických a subtropických zemích (Gaur et al. 2008; Bakajika et al. 2014). Mezi hlavní léky používané proti lymfatické filarióze patří diethylkarbamazin, ivermektin a albendazol (Singh & Rathaur 2010; Taylor et al. 2010; Nayak et al. 2011). Tato terapeutika účinně likvidují larvální stádia červů (mikrofilárie), ale jejich nadměrné používání může vést k rezistenci. Navíc tyto farmaceutické preparáty nejsou obvykle účinné v případě léčby adultních hlístic a jsou tak odpovědné za rozvoj chronických patologických lézí (Gaur et al. 2008). Studie Nayak et al. (2011) prokázala v podmínkách *in vitro*, že postupné zvyšování koncentrace albendazolu vede nejen u mikrofilárií, ale i u adultních hlístic *S. cervi* ke zhoršování jejich motility a následně rychlé smrti.

Rozvoj účinných strategií na podporu programované buněčné smrti u filariodních hlístic zůstává proto nadále klíčovou výzvou pro výzkum vývoje dalších léků. Modelovým organismem pro vývoj spolehlivých antifilariatik se stává velmi často druh *S. cervi*. Yadav et al. (2013) a Joardar et al. (2018) uvádějí u této hlístice přítomnost významných enzymů, glutathion reduktázy (GR) a thioredoxin reduktázy (TrxR), které se vyskytují ve všech fázích vývoje: v oocytech, v mikrofiláriích i u adultních jedinců. Jde o důležité enzymy oxidačně-redukčního systému, které parazitům pomáhají udržovat adekvátní intracelulární prostředí. Filárie včetně hlístic *Setaria* spp. jsou paraziti s dlouhým životem a přítomnost obou těchto enzymů může být zodpovědná za jejich schopnost přežít v hostiteli navzdory jeho imunitního systému.

Nayak et al. (2012) ve své studii zvolili molekulární a biochemické postupy k pochopení molekulárního základu pro antifilariální aktivitu zprostředkovanou konkrétně kurkuminem (diferuloyl methane) u *S. cervi*. Výsledky testu ukázaly, že kurkumin způsobuje významné snížení životaschopnosti nejen mikrofilárií, ale i dospělých hlístic svou schopností vyvolat apoptózu.

### 3. Vědecké hypotézy a cíle práce

Na základě dosavadních poznatků byly stanoveny následující hypotézy:

H 1: Morfologické struktury využívané pro potřeby taxonomie nejsou identické u juvenilních a adultních stádií *Setaria* spp.

H 2: Morfologická determinace na základě současných standardů, především využití světelné mikroskopie, vede k chybnému druhovému určení v rámci *Setaria* spp.

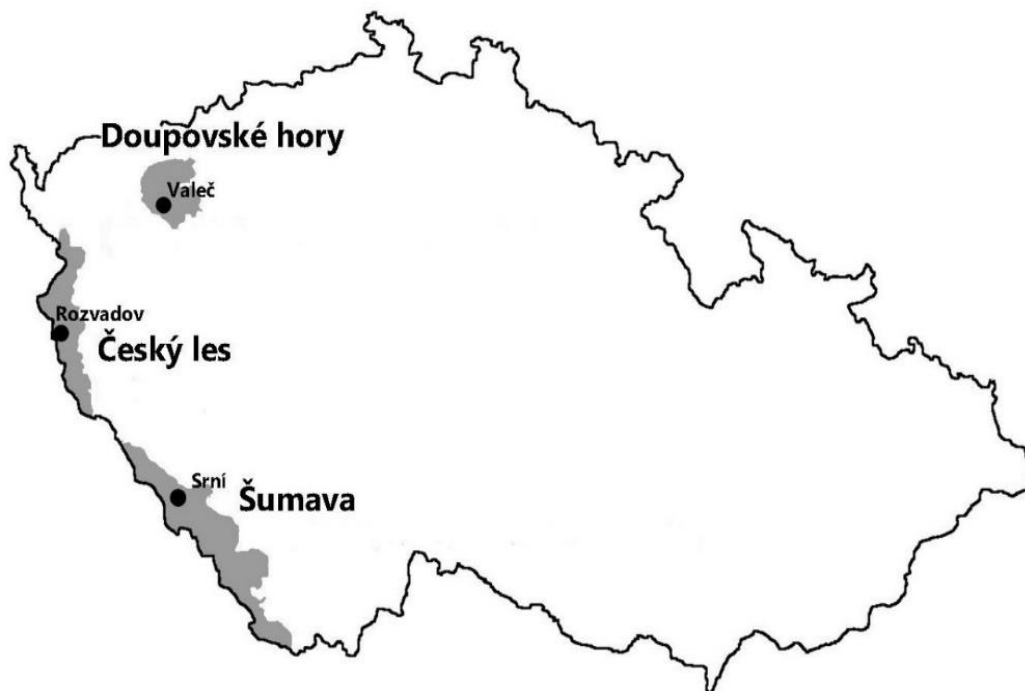
Hlavním cílem disertační práce byla determinace morfologických struktur za využití světelné (LM) i skenovací elektronové mikroskopie (SEM) a vytvoření morfologického klíče k interspecifickému určení hlístic rodu *Setaria* s prokázaným výskytem v Evropě. Další cíle práce byly následující:

- provedení sekvenace kompletního mitochondriálního genu *cox1*
- sekvenační analýzou *cox1* genu ověřit závěry morfologické determinace
- zpracovat fylogenetickou studii

## 4. Materiál a metody

### 4.1 Původ hostitelů a vzorků

V letech 2016 - 2018 byly na Katedru zoologie a rybářství Fakulty agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů ČZU v Praze dopraveny čerstvé orgánové vývrhy dutiny břišní a hrudní devadesáti šesti jedinců přežvýkavé spárkaté zvěře zastřelených při oficiálních lovech ve třech oblastech západních a severních Čech (viz Obrázek 23 a Tabulka 2). Získané orgánové vývrhy pocházely z dvaceti šesti jelenů evropských, čtyřiceti čtyř jelenů sika, dvaceti dvou srnců obecných a tří daňků skvrnitých. Jeden orgánový vývrh pocházel z jednoho zástupce losa evropského, jehož příčinu úhynu způsobila autonehoda v oblasti Šumavy.



Obr. 23: Mapa honiteb, odkud byl získán materiál k helmintologické pitvě  
(Zdroj: Sylva Lanková, 2020)

Tab. 2: Seznam vzorků, jejich pohlaví, hostitelů a lokalit

Vzorek číslo	Vzorek pohlaví	Hostitel a číselné označení	Lokalita	Honitba	Souřadnice	NCBI přístupová čísla
SC1	♀	los evropský 1	Šumava	Srní	49.0872453N, 13.4557319E	MT977050
SC2	♀	los evropský 1	Šumava	Srní	49.0872453N, 13.4557319E	MT977049
SC3	♀	los evropský 1	Šumava	Srní	49.0872453N, 13.4557319E	MT977058
SC4	♀	jelen evropský 1	Doupovské hory	Valeč	50.1811000N, 13.2559772E	MT977051
SC5	♀	jelen evropský 1	Doupovské hory	Valeč	50.1811000N, 13.2559772E	MT977056
SC6	♀	jelen evropský 2	Doupovské hory	Valeč	50.1837383N, 13.2514281E	MT977059
SC7	♀	jelen evropský 3	Český les	Rozvadov	49.6367406N, 12.5702967E	MT977057
SC8	♀	jelen evropský 3	Český les	Rozvadov	49.6367406N, 12.5702967E	MT977060
SC9	♀	jelen evropský 4	Doupovské hory	Valeč	50.1746689N, 13.2402703E	MT977053
SC10	♀	jelen evropský 4	Doupovské hory	Valeč	50.1746689N, 13.2402703E	MT977055
SC11	♀	jelen evropský 5	Šumava	Srní	49.0979453N, 13.4721256E	MT977054
SC12	♀	jelen evropský 5	Šumava	Srní	49.0979453N, 13.4721256E	MT977052
SC13	♀	jelen evropský 6	Šumava	Srní	49.1003553N, 13.4366775E	MT977062
SC14	♀	jelen sika 1	Doupovské hory	Valeč	50.1849064N, 13.2440467E	MT977061
SC15	♀	jelen sika 1	Doupovské hory	Valeč	50.1849064N, 13.2440467E	MT977065
SC16	♀	jelen evropský 7	Doupovské hory	Valeč	50.1862531N, 13.2376522E	MT977066
SC17	♀	jelen evropský 2	Doupovské hory	Valeč	50.1837383N, 13.2514281E	MT977071
SC18	♀	jelen evropský 5	Šumava	Srní	49.0979453N, 13.4721256E	MT977068
SC19	♀	jelen evropský 8	Šumava	Srní	49.1027961N, 13.4587950E	MT977073
SC20	♀	jelen sika 2	Doupovské hory	Valeč	50.1800969N, 13.2443472E	MT977072
SC21	♂	jelen evropský 9	Šumava	Srní	49.1042572N, 13.4651467E	MT977067
SC22	♂	jelen evropský 10	Šumava	Srní	49.1001864N, 13.4594442E	MT977064
SC23	♂	jelen evropský 10	Šumava	Srní	49.1001864N, 13.4594442E	MT977070
SC24	♂	jelen sika 1	Doupovské hory	Valeč	50.1849064N, 13.2440467E	MT977063

Zdroj: Lanková et al. (2021) - přeloženo do českého jazyka

## 4.2 Helmintologická pitva

Orgánové vývrhy byly ihned po skonu zvěře transportovány na Katedru zoologie a rybářství a řádně zaevidovány. Dle množství dovezených orgánových vývrhů proběhla helmintologická pitva ihned nebo byl získaný biologický materiál hluboce zamražen při teplotě  $-20^{\circ}\text{C}$  a pitvy i následné analýzy probíhaly v nejbližších reálných termínech.

Během helmintologické pitvy byly orgány důkladně makroskopicky ohledány a vyšetřeny. Hlístice *Setaria* spp. byly nalezeny na povrchu střev, jater a perikardu (viz Tabulka 4). Centrální nervový systém hostitelů (mícha a mozek) nebyl součástí autopsie.

Detekované hlístice byly propláchnuty fyziologickým roztokem, následně jednotlivě uloženy do mikrozkuhavek typu Eppendorf a fixovány 70% ethanolem v kvalitě p.a. (Lanková et al. 2018).

Všechny experimentální postupy 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.). Všechny experimentální protokoly byly schváleny Českou zemědělskou univerzitou v Praze (Fakultou agrobiologie, potravinových a přírodních zdrojů ČR).

## 4.3 Morfologie a druhová příslušnost

Druhová příslušnost byla stanovena na základě morfologické struktury peribukální koruny na cefalické části těla a charakteristických struktur kaudálního konce podle Sonin (1977), Blažek et al. (1968), Almeida et al. (1991) a Ološ et al. (2019). Pro potvrzení byl každý vzorek podroben molekulární analýze.

Nejprve byla provedena morfometrie vzorků (byla změřena délka těla a šířka v nejširším místě těla hlístic) pod světelným mikroskopem Olympus BX51 při 200x zvětšení a získána fotodokumentace morfologických struktur za využití kamery a programu QuickPHOTO MIKRO 3.1.



Následně byly odseparovány cefalické a kaudální části těl za účelem studia detailních morfologických struktur za využití skenovacího elektronového mikroskopu JEOL 6380 LV na Přírodovědecké fakultě Univerzity Karlovy v Praze. Mediální části hlístic byly uschovány pro následné molekulární analýzy.

#### **4.4 Statistické vyhodnocení dat**

Na základě vyhodnocení velikosti těla (délky a šířky) za využití LM a SEM byly samice rozděleny do tří kategorií: adultní samice, L5 juvenilní samice a L4 larvální samice. Statistické vyhodnocení bylo provedeno pomocí softwaru Statistica (verze 12) (StatSoft©, Inc.2013).

Byla vypočítána popisná statistika pro parametry délka a šířka jedince ve skupinách podle pohlaví a stádia. Pro porovnání naměřených parametrů samic podle typu stádia bylo použito následujících analýz. Všechny statistické analýzy byly vyhodnocovány na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ .

Nejprve byla ověřena normalita a homoskedasticita dat ve skupinách pro výběr vhodné metody porovnání vybraných skupin samic. Normalita dat byla posuzována na základě Shapiro-Wilkova testu, který je spolehlivý pro výběry souborů, kde počet pozorování je menší než 50, a znázorněna pomocí normálních pravděpodobnostních grafů. Vzhledem k tomu, že byl sledován faktor stádia samic, jednalo se o posouzení normality z hlediska úrovně tohoto faktoru.

##### **4.4.1 Shapiro – Wilkův test**

H0: Údaje o délce samic jednotlivých stádií pochází z normálního rozdělení.

H0: Průměrná délka těla se mezi různými vývojovými stádii samic neliší.

H0: Průměrná šířka těla se mezi různými vývojovými stádii samic neliší.

Dalším sledovaným parametrem je homogenita rozptylů, která byla vzhledem k normalitě dat vyhodnocována pomocí Leveneova testu.

#### 4.4.2 Leveneův test

H<sub>0</sub>: Průměrné hodnoty sledovaných parametrů délky a šířky těla samic dle jednotlivých stádií se statisticky významně neliší.

#### 4.4.3 Analýza rozptylu

Analýza rozptylu (ANOVA) byla použita pro další vyhodnocení, mezi kterými stádii je statisticky významný rozdíl.

H<sub>0</sub>: průměrné hodnoty sledovaných parametrů délky a šířky těla samic dle jednotlivých stádií se statisticky významně neliší.

Následně byl použit **Scheffeho test** mnohonásobných porovnáání (post hoc testování) pro detailnější vyhodnocení získaných dat.

H<sub>0</sub>: Mezi průměrnými hodnotami délky a šířky u vybrané dvojice skupin samic podle vývojového stádia není statisticky významný rozdíl.

### 4.5 Molekulárně - genetické studie a analýzy haplotypů *cox1* genu

Mediální části těla vzorků použité pro molekulární analýzu byly konzervovány v 70% ethanolu v kvalitě p.a. Před extrakcí DNA byly 60 minut sušeny v lyofilizátoru (Alfa 1–4 Christ). Genomická DNA byla extrahována ze všech 24 jedinců pomocí soupravy NucleoSpin® Tissue Kit, použit byl protokol podpory zvířecích tkání.

Konsenzuální sekvence obsahující geny *ND4*, *cox1*, *tRNA-Trp* a *ND6* byla vytvořena na základě kompletních mitochondriálních genomových sekvencí druhů z rodů *Setaria*, *Brugia*, *Dirofilaria*, *Loa*, *Onchocerca* a *Wuchereria* (viz Tabulka 3). Pro vytvoření konsenzuální sekvence byl použit program BioEdit verze 7.0.5.3 (Hall 1999). K návrhu párů primerů umístěných v konzervovaných oblastech mitochondriálních genů byl použit

program Primer 3 Input 0.4.4 (Rozen & Skaletsky 2000). K analýze primární sekvence byla použita fertlní samice získaná z losa evropského.

Směs PCR (12,5 µl) byla složena z následujících ingrediencí: 20 ng genomické DNA, 5 ng BSA, 0,4 µM každého primeru, 1,5 mM MgCl<sub>2</sub>, 0,2 mM dNTP, 2 mM TMA oxalátu (Top Bio) a 0,7 U Taq polymerázy (Roche). Amplifikace byla provedena v termálním cykleru C1000™ (BioRad) za následujících podmínek: 1 × (94° C - 180 s), 35 × (94° C - 60 s, 62° C - 60 s, 72° C - 60 s) a 1 × (72° C - 600 s). Amplikony byly podrobeny elektroforéze na 1,5% agarózovém gelu, vizualizovány pomocí ethidiumbromidu a později extrahovány z gelu pomocí MiniElute PCR Purification Kit (Qiagen). Pro sekvenování oblasti rDNA byla použita souprava BigDye® Terminator v 3.1 (Life Technologies) a analyzátor DNA ABI 3730xl (LifeTechnologies). Byly sekvenovány tři replikáty každého amplikonu PCR.

Na základě sekvencí dvaceti čtyř amplikonů byla sestavena sekvence části mitochondriálního genomu nesoucího část genu *ND4*, kompletní geny *cox1*, tRNA - Trp a část genu *ND6*. Tato sekvence byla použita pro návrh tří párů specifických sekvenačních primerů (Lanková et al. 2021). Návrh specifických primerů, amplifikace, purifikace produktů PCR a finální sekvenování bylo prováděno za stejných podmínek jako pro sekvenování primární. Částečné amplikony byly sestaveny pro všech dvaceti čtyř vzorků *Setaria* spp. za využití programu BioEdit verze 7.0.5.3 (Hall 1999).

K fylogenetickým analýzám byly použity haplotypy (viz Tabulka 3) odvozené z úplných sekvencí mitochondriálních genomů šesti výše zmíněných rodů patřících čeledi Onchocercidae. Informace o genu *cox1* získané z mezinárodní genomické knihovny NCBI byly použity u druhů čeledi Onchocercidae: *Onchocerca flexuosa* (OnF), *O. ochengi* (OnO), *O. volvulus* (OnV), *Dirofilaria* sp. '*honkonensis*' (DiH), *D. immitis* (DiI), *D. repens* (DiR), *Loa loa* (LoL), *Wuchereria bancrofti* (WuB), *Brugia malayi* (BrM), *B. pahangi* (BrP), *B. timori* (BrT), *Setaria digitata* (SeD), and *S. labiatopapillosa* (SeL). Jako outgroup bylo použito pět sekvencí vzorků *Thelazia callipaeda* (ThC) patřících do nadčeledi Thelazioidea. Nové sekvence *S. cervi* byly označeny jako SeC.

Haplotypy *cox1* genů byly identifikovány programem DNA Sequence Polymorphism (Rozas et al. 2017). Software MAFFT verze 7 (Katoh & Toh 2008) byl použit pro mnohonásobný alignment sekvencí (G-INS-i iterative refinement metoda). Jako optimální substituční model byl použit program jModelTest 2.1.10 v20160303 (Darriba et al. 2012). K optimálnímu vyhledání topologie stromu byla použita metoda Nearest-Neighbor (NNI). Fylogenetická analýza byla provedena pomocí programu PHYML 3.0. Evoluční historie čeledi Onchocercidae byla odvozena pomocí metody maximální pravděpodobnosti založené na modelu General Time Reversible GTR + I + G (Nei & Kumar 2000). Rozdělení gama bylo použito k modelování rozdílů v rychlosti evoluce mezi polohami. Bootstrapový konsensus stromu byl odvozen z 1000 replikátů.

Tab. 3: Sekvence genu *cox1* použité pro haplotypové a fylogenetické analýzy

Haplotyp	NCBI	Pozice	Druh	Autoři	Hostitel	Původ
BrM1	NC_004298.1	2254-3900	<i>Brugia malayi</i>	Ghedin et al. (2007)	člověk	nespecifikován
BrM1	AF538716.1	2254-3900	<i>Brugia malayi</i>	Ghedin et al. (2007)	člověk	nespecifikován
BrP1	AP017680.1	7-1653	<i>Brugia pahangi</i>	Kikuchi et al. (2019)	nespecifikován	nespecifikován
BrT1	AP017686.1	11952-13598	<i>Brugia timori</i>	Kikuchi et al. (2019)	nespecifikován	nespecifikován
DiH1	KX265050.1	2265-3911	<i>Dirofilaria</i> sp. 'hongkongensis'	Yilmaz et al. (2016)	člověk	Indie
DiH1	NC_031365.1	2265-3911	<i>Dirofilaria</i> sp. 'hongkongensis'	Yilmaz et al. (2016)	člověk	Indie
DiI1	AJ537512.1	2268-3914	<i>Dirofilaria immitis</i>	Hu et al. (2003)	pes domácí	Austrálie
DiI1	NC_005305.1	2268-3914	<i>Dirofilaria immitis</i>	Hu et al. (2003)	pes domácí	Austrálie
DiR1	NC_029975.1	2262-3908	<i>Dirofilaria repens</i>	Lorenzen et al. (2016)	nespecifikován	nespecifikován
DiR2	KX265049.1	2262-3908	<i>Dirofilaria repens</i>	Yilmaz et al. (2016)	člověk	Chorvatsko
DiR3	KX265048.1	2262-3908	<i>Dirofilaria repens</i>	Yilmaz et al. (2016)	člověk	Itálie
DiR4	KX265047.1	2262-3908	<i>Dirofilaria repens</i>	Yilmaz et al. (2016)	člověk	Itálie
LoL1	NC_016199.1	2244-3890	<i>Loa loa</i>	McNulty et al. (2012)	člověk	Kamerun
LoL2	HQ186250.1	2244-3890	<i>Loa loa</i>	McNulty et al. (2012)	člověk	Kamerun
OnF1	AP017692.1	5454-7100	<i>Onchocerca flexuosa</i>	Kikuchi et al. (2019)	nespecifikován	nespecifikován
OnF2	HQ214004.1	2264-3910	<i>Onchocerca flexuosa</i>	McNulty et al. (2012)	jelen evropský	Německo
OnO1	KX181289.2	1-1647	<i>Onchocerca ochengi</i>	Jaleta et al. (2018)	skot	Kamerun
OnO1	AP017693.1	5484-7130	<i>Onchocerca ochengi</i>	Kikuchi et al. (2019)	nespecifikován	nespecifikován
OnO2	AP017694.1	5484-7130	<i>Onchocerca ochengi</i>	Kikuchi et al. (2019)	nespecifikován	nespecifikován
OnO3	KX181290.2	1-1647	<i>Onchocerca ochengi</i>	Jaleta et al. (2018)	skot	Kamerun
OnV1	AF015193.1	2266-3912	<i>Onchocerca volvulus</i>	Keddie et al. (1998)	člověk	Afrika
OnV1	NC_001861.1	2266-3912	<i>Onchocerca volvulus</i>	Keddie et al. (1998)	nespecifikován	nespecifikován
OnV2	AP017695.1	2278-3924	<i>Onchocerca volvulus</i>	Kikuchi et al. (2019)	nespecifikován	nespecifikován
OnV3	KT599912.1	2266-3912	<i>Onchocerca volvulus</i>	Crainey et al. (2016)	člověk	Brazílie
SeC1	viz Tab. 2	1-1647	<i>Setaria cervi</i>	Lanková et al. (2021)	los evropský	ČR
SeC1	viz Tab. 2	1-1647	<i>Setaria cervi</i>	Lanková et al. (2021)	jelen evropský	ČR
SeC1	viz Tab. 2	1-1647	<i>Setaria cervi</i>	Lanková et al. (2021)	jelen sika	ČR
SeD1	GU138699.1	2258-3904	<i>Setaria digitata</i>	Yatawara et al. (2010)	skot, buvol	Srí Lanka
SeD2	KY284626.1	7-1653	<i>Setaria digitata</i>	Liu et al. (2017)	buvol	Čína
SeL1	NC_044071.1	2262-3908	<i>Setaria labiatopapillosa</i>	Gao et al. (2019)	ovce	Čína
ThC1	NC_018363.1	1-1647	<i>Thelazia callipaeda</i>	Liu et al. (2013)	pes domácí	Čína
ThC2	KY908320.1	1-1647	<i>Thelazia callipaeda</i>	Zhang et al. (2017)	nespecifikován	Čína
ThC3	KY908318.1	1-1647	<i>Thelazia callipaeda</i>	Zhang et al. (2017)	nespecifikován	Čína
ThC4	AP017700.1	9432-11078	<i>Thelazia callipaeda</i>	Kikuchi et al. (2019)	nespecifikován	nespecifikován
ThC5	KY908319.1	1-1647	<i>Thelazia callipaeda</i>	Zhang et al. (2017)	nespecifikován	Čína
WuB1	NC_016186.1	2252-3898	<i>Wuchereria bancrofti</i>	McNulty et al. (2012)	člověk	Papua Nová Guinea
WuB1	JN367461.1	2252-3898	<i>Wuchereria bancrofti</i>	Ramesh et al. (2012)	člověk	Mali
WuB1	HQ184469.1	2252-3898	<i>Wuchereria bancrofti</i>	McNulty et al. (2012)	člověk	Papua Nová Guinea
WuB2	AP017705.1	2277-3923	<i>Wuchereria bancrofti</i>	Kikuchi et al. (2019)	nespecifikován	nespecifikován
WuB3	JF775522.1	2250-3896	<i>Wuchereria bancrofti</i>	Ramesh et al. (2012)	člověk	Papua Nová Guinea

Zdroj: Lanková et al. (2021) - přeloženo do českého jazyka

## 5 Výsledky

Z celkem devadesáti šesti pitvaných zástupců přežvýkavé spárkaté zvěře bylo pouze třináct testovaných jedinců pozitivních na přítomnost hlístic rodu *Setaria*. Celkem bylo získáno dvacet čtyři vzorků identifikovaných morfologicky jako druh *Setaria cervi*, což bylo potvrzeno i molekulárně - genetickými metodami. Spektrum hostitelů se stávalo z jednoho losa evropského, deseti jelenů evropských a dvou jelenů sika. Jediný los evropský byl infikován třemi samicemi, u deseti jelenů evropských byla prokázána prevalence 38,5 % (celkem deset samic a tři samci) a u dvou jelenů sika 4,5 % (tři samice a jeden samec). Zajímavé je, že dva jeleni evropští byli infikováni výhradně samci (u jednoho byl nalezen jeden a u druhého dva vzorky samčího pohlaví (viz Tabulka 4). U srnců obecných ani u daňků skvrnitých nebyla žádná hlístice *Setaria* spp. detekována.

Tab. 4: Kvantitativní údaje o výskytu *Setaria cervi* u hostitelů, včetně informací o pohlaví a vývojových stádiích

Hostitel	Los evropský ( <sup>LE</sup> )	Jelen evropský ( <sup>JE</sup> )	Jelen sika ( <sup>JS</sup> )
Počet vyšetřených hostitelů	1	26	44
Počet infikovaných hostitelů	1	10	2
Prevalence (%)	100,0	38,5	4,5
Průměrná intenzita infekce (min-max)	3,0	1,7 (1-3)	2,0 (1-3)
Počet vzorků <i>S. cervi</i> získaných z hostitelů včetně uvedení orgánů, kde byly vzorky v hostiteli detekovány			
Adultní samice (3 hostitelé)	3AD♀ <b>PS</b> <sup>LE 1</sup>	2AD♀ <b>PJ</b> <sup>JE 1</sup> 2AD♀ <b>PS</b> <sup>JE 3</sup>	
Adultní a juvenilní či larvální samice (2 hostitelé)		1AD♀ <b>PJ</b> + 1L5♀ <b>PJ</b> <sup>JE 4</sup> 1AD♀ <b>PP</b> + 1L4♀ <b>PJ</b> <sup>JE 2</sup>	
Juvenilní samice a samci (1 hostitel)			2L5♀ <b>PS</b> + 1♂ <b>PS</b> <sup>JS 1</sup>
Juvenilní či larvální samice (5 hostitelů)		2L5♀ <b>PS</b> + 1L4♀ <b>PS</b> <sup>JE 5</sup> 1L5♀ <b>PP</b> <sup>JE 6</sup> 1L4♀ <b>PJ</b> <sup>JE 7</sup> 1L4♀ <b>PJ</b> <sup>JE 8</sup>	1L4♀ <b>PJ</b> <sup>JS 2</sup>
Pouze samci (2 hostitelé)		1♂ <b>PJ</b> <sup>JE 9</sup> 2♂ <b>PJ</b> <sup>JE 10</sup>	

Pozn.: AD♀ – adultní samice; L5♀ – juvenilní páté stádium samic; L4♀ - čtvrté larvální stádium samic; ♂ - samci; **PS** - povrch střev; **PJ** - povrch jater; **PP** - povrch perikardia

Zdroj: Lanková et al. (2021) - přeloženo do českého jazyka

## 5.1 Morfologické deskripce vzorků

Všech dvacet čtyři vzorků bylo rozděleno do čtyř skupin podle velikosti: čtyři samci v jedné skupině (délka 38 - 42 mm, šířka 0,395 - 0,444 mm) a samice do zbývajících třech skupin: pět samic malých (délka 27 - 29 mm, šířka 0,206 - 0,215 mm), šest samic střední velikosti (délka 51 - 56 mm, šířka 0,550 - 0,630 mm) a devět samic velkých (délka 109 - 135 mm, šířka 0,904 - 1,125 mm) (viz Tabulka 5).

Tab. 5: Komplexní charakteristiky vzorků *S. cervi* s ohledem na pohlaví, vývojová stádia, morfologii a hostitele

Číslo vzorku	Pohlaví	Vývojové stádium	Přítomnost vajíček / mikrofilárií	Délka těla [mm]	Šířka těla [μm]	Peribukální koruna	Kaudální část	Hostitel + číslo
SC 1	♀	adult	ano	141	1125	vyčínající	oblá, porézní	los evropský 1
SC 2	♀	adult	ano	135	1077	vyčínající	oblá, porézní	los evropský 1
SC 3	♀	adult	ano	125	1014	vyčínající	oblá, porézní	los evropský 1
SC 4	♀	adult	ano	125	1017	vyčínající	oblá, porézní	jelen evropský 1
SC 5	♀	adult	ano	124	1012	vyčínající	oblá, porézní	jelen evropský 1
SC 6	♀	adult	ano	124	1013	vyčínající	oblá, porézní	jelen evropský 2
SC 7	♀	adult	ano	123	981	vyčínající	oblá, porézní	jelen evropský 3
SC 8	♀	adult	ano	111	965	vyčínající	oblá, porézní	jelen evropský 3
SC 9	♀	adult	ano	109	904	vyčínající	oblá, porézní	jelen evropský 4
SC 10	♀	L5	ne	56	630	vyčínající	„diskovitá“ papila	jelen evropský 4
SC 11	♀	L5	ne	55	617	vyčínající	„diskovitá“ papila	jelen evropský 5
SC 12	♀	L5	ne	55	595	vyčínající	„diskovitá“ papila	jelen evropský 5
SC 13	♀	L5	ne	53	588	vyčínající	„diskovitá“ papila	jelen evropský 6
SC 14	♀	L5	ne	53	579	vyčínající	„diskovitá“ papila	jelen sika 1
SC 15	♀	L5	ne	51	550	vyčínající	„diskovitá“ papila	jelen sika 1
SC 16	♀	L4	ne	29	215	vnořená	„knoflíkovitá“ papila	jelen evropský 7
SC 17	♀	L4	ne	28	209	vnořená	„knoflíkovitá“ papila	jelen evropský 2
SC 18	♀	L4	ne	28	210	vnořená	„knoflíkovitá“ papila	jelen evropský 5
SC 19	♀	L4	ne	28	210	vnořená	„knoflíkovitá“ papila	jelen evropský 8
SC 20	♀	L4	ne	27	206	vnořená	„knoflíkovitá“ papila	jelen sika 2
SC 21	♂	nespecifikováno	-	42	444	vyčínající	19 papil	jelen evropský 9
SC 22	♂	nespecifikováno	-	40	420	vyčínající	19 papil	jelen evropský 10
SC 23	♂	nespecifikováno	-	41	421	vyčínající	19 papil	jelen evropský 10
SC 24	♂	nespecifikováno	-	38	395	vyčínající	19 papil	jelen sika 1

Pozn.: L5 – juvenilní páté stádium samic; L4 – čtvrté larvální stádium samic

Zdroj: Lanková et al. (2021) - přeloženo do českého jazyka

Pouze za využití SEM byly zaznamenány významné rozdíly v morfologii studovaných vzorků u samic, u nichž byla pozorována různá vývojová stádia a to vzhledem k rozdílným tvarům peribukální koruny a jejich kaudálního zakončení těla.

Pět nejmenších samic se od ostatních lišilo v několika morfologických znacích. Je zřejmé, že šlo o samice L4 před poslední ekdyzí.

Šest juvenilních samic ve střední skupině v pátém larválním stádiu (L5) nebylo fertálních (nebyla prokázána přítomnost vajíček ani mikrofilárií v reprodukčních orgánech). Cefalická část těla se již podobala adultním samicím, kaudální zakončení se však od samic adultních dosud lišilo a bylo zřejmé, že probíhá další jeho vývoj. U devíti největších fertálních, adultních samic byly z dělohy vytlačeny vajíčka i mikrofilárie (L1) (viz Obrázek 24 a 25).



Obr. 24 a 25: Vajíčko (vlevo) a mikrofilárie L1 (vpravo) získané z adultní ♀ *S. cervi*  
(foto: Sylva Lanková, 2018)

Morfologie cefalických a kaudálních konců všech vzorků byla důkladně zkoumána pomocí světelné mikroskopie (LM) a skenovací elektronové mikroskopie (SEM). Pomocí LM jsme na cefalickém zakončení těla mohli pozorovat u obou pohlaví pouze přítomnost dorzálních a ventrálních výčnělků, u některých vzorků i přítomnost hlavových papil, u samců pruhy na ventrální části těla. Přesná lokalizace dorzálních a ventrálních výčnělků, tvar ústního otvoru a laterálních rtů však bylo možné jen za využití SEM. Na kaudálním zakončení těla bylo za využití LM možné pozorovat

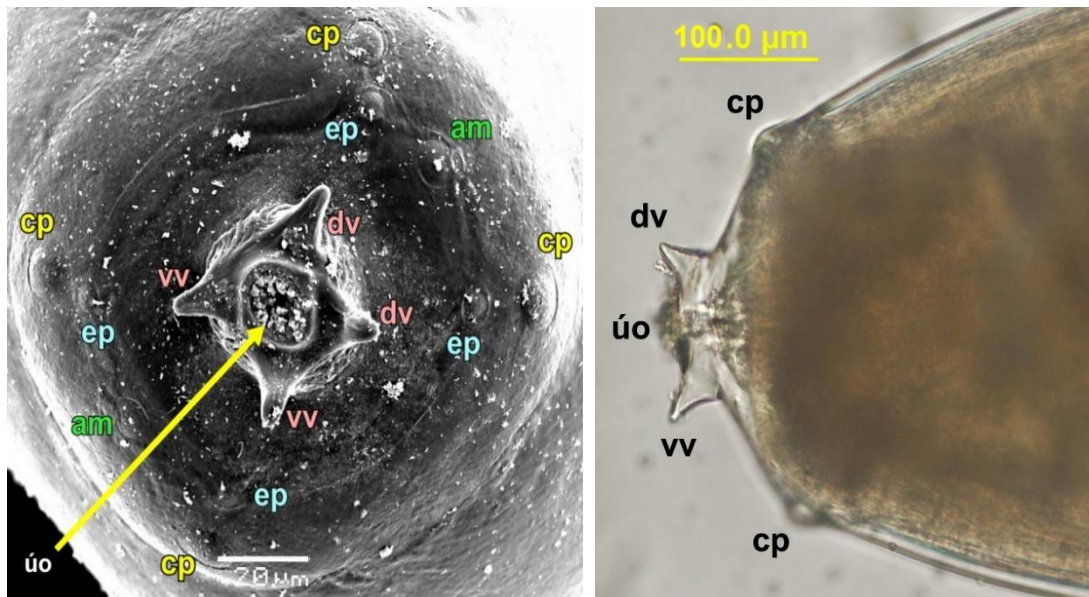


přítomnost kloaky u samců, laterálních výčnělků a tvaru tělesného zakončení u obou pohlaví. K přesnému určení počtu i umístění ventrálních papil u samců byla opět nezbytná SEM, rovněž k detailní deskripci tělesného zakončení samic.

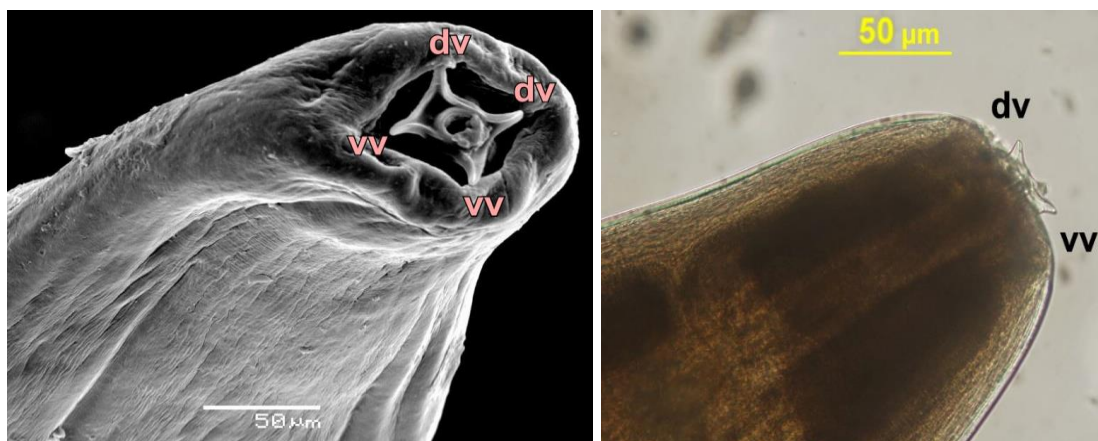
### 5.1.1 Morfologie cefalické části těla

Peribukální koruna samců i L5 a adultních samic vyčnívá nad zaoblenou hlavovou částí. Dorzální i ventrální výčnělky jsou ostré, mírně zakřivené a pravidelně obklopující kruhovitý ústní otvor, jenž je lemován dvojicí laterálních rtů půlměsíčitého tvaru. Pozorovány jsou rovněž dva amfidy, čtyři cefalické papily a čtyři menší externolabiální papily umístěné blíže k peribukální koruně (viz Obrázek 26 a 27).

U nejmenších L4 larválních stádií samic před poslední ekdyzí se peribukální koruna výrazně liší od výše jmenovaných skupin (viz Obrázek 28 a 29). Hlavová část těla je méně zaoblená, nejsou na ní pozorovány cefalické ani externolabiální papily, viditelné nejsou ani amfidy. Peribukální koruna je v této fázi vývoje vnořena do hlavové části, přičemž dorzální i ventrální výčnělky již jsou výrazné a tvarově se shodují se vzorky samců i L5 a adultních samic.



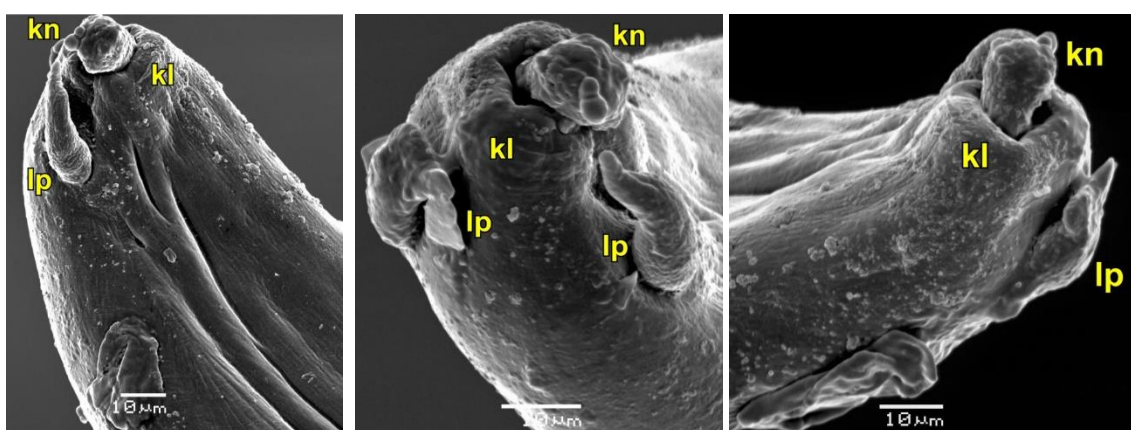
Obr. 26 (SEM) a 27 (LM): Cefalická část včetně struktury peribukální koruny *S. cervi* - laterální pohled na cefalickou část (**dv** – dorzální výčnělky, **vv** – ventrální výčnělky, **úo** – ústní otvor, **ep** – externolabiální papily, **cp** – cefalické papily, **am** - amfid) (foto: Sylva Lanková, 2018)



Obr. 28 (SEM) a 29 (LM): Struktura peribukální korony u *S. cervi* nejmenších L4 ♀ *S. cervi*. (**dv** – dorzální výčnělky, **vv** - ventrální výčnělky). (foto: Sylva Lanková, 2018)

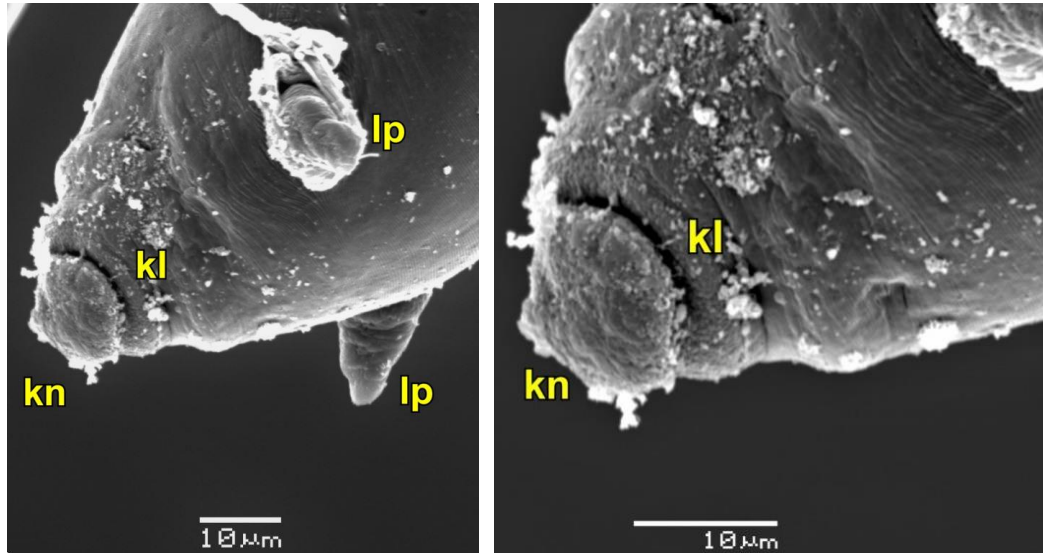
### 5.1.2 Morfologie kaudální části těla

Kaudální konce L4 samic, juvenilních samic L5 a fertálních adultních samic se svým tvarem výrazně lišily. Struktura kaudálního konce nejmenších larev L4 odpovídá zatím malému výčnělku kyjovitého tvaru. Spodní část tohoto výčnělku je mírně vnořena do ocasního konce a ohraničena kutikulárním lemem. Jeho povrch naznačuje řadu malých výstupků. Laterální přívěsky jsou relativně špičaté a umístěné v těsné blízkosti formující se koncové „knoflíkovité“ struktury typické pro starší vývojová stádia. (viz Obrázek 30, 31 a 32).



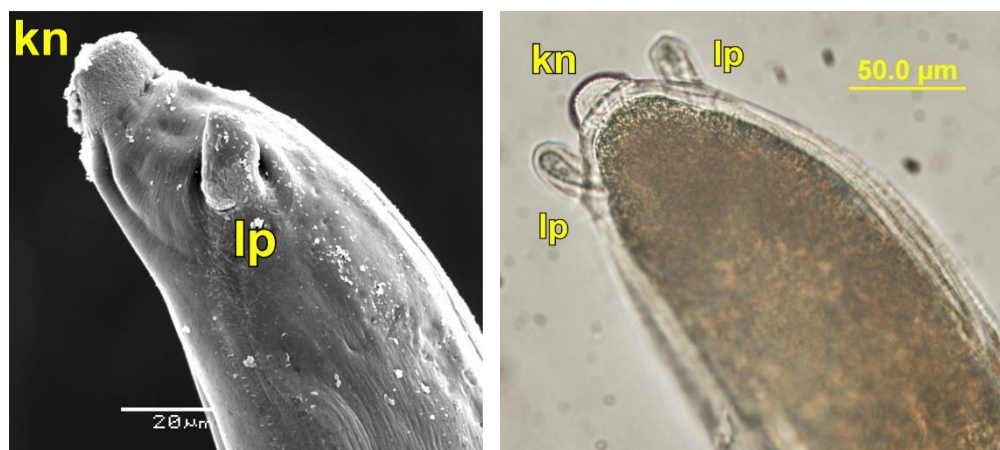
Obr. 30, 31 a 32 (SEM): Kaudální zakončení nejmenších L4 ♀ *S. cervi* (**kn** - budoucí „knoflíkovité“ zakončení; **kl** - kutikulární lem; **lp** - laterální přívěsky) (foto: Sylva Lanková, 2018)

U juvenilních L5 samic je již viditelná „knoflíkovitá“ struktura ve tvaru disku na konci ocasu, ta je však dosud oddělena prstencovitou drážkou a kutikulární lem je stále viditelný. Laterální přívěsky jsou již vzdálenější od konce těla a jsou méně špičaté než u L4 samic. (viz Obrázek 33 a 34).



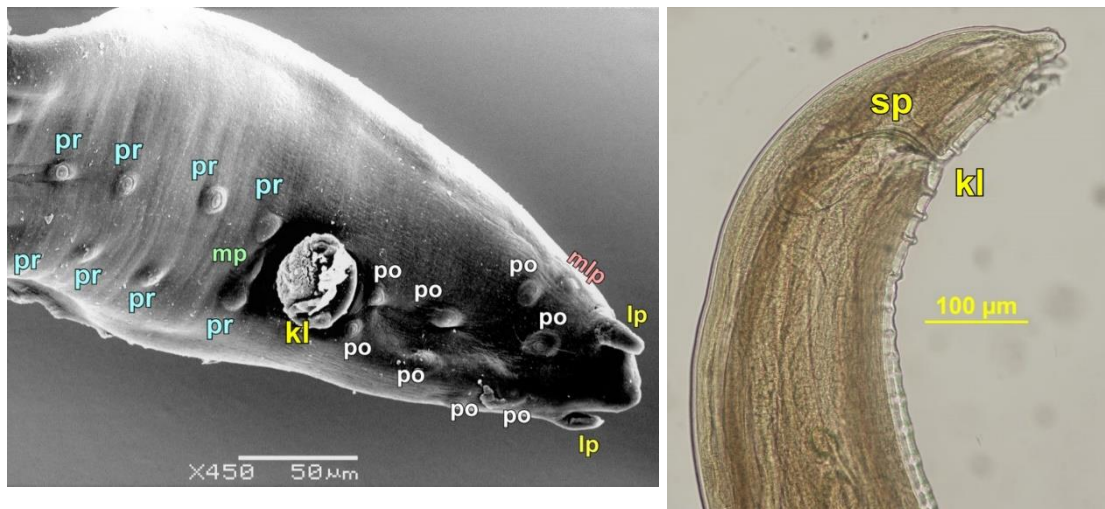
Obr. 33 a 34 (SEM): Vývoj kaudálního zakončení juvenilních L5 ♀ *S. cervi* (**kn** - budoucí „knoflíkovité“ zakončení; **kl** - kutikulární lem; **lp** - laterální přívěsky) (foto: Sylva Lanková, 2018)

U adultních samic je již patrné typické „knoflíkovité“ zakončení porézní povrchové struktury, prstencovitá drážka je již zacelena a kutikulární lem je zcela vyrovnán s povrchem těla. Laterální přívěsky jsou oproti L4 samicím lokalizovány výrazně dál od konce těla a jejich zakončení je zaoblené (viz Obrázek 35 a 36).



Obr. 35 (SEM) a Obr. 36 (LM): Plně vyvinuté kaudální zakončení adultní ♀ *S. cervi*, (**kn** - „knoflíkovité“ zakončení; **lp** - laterální přívěsky) (foto: Sylva Lanková, 2018)

Kaudální zakončení samců je znázorněno na obrázcích č. 37 a 38. Samci mají čtyři páry prekloakálních papil, jednu mediální papilu těsně u kloaky, čtyři páry postkloakálních papil a jeden pár malých bočních papil v blízkosti laterálních přívěsků majících špičaté zakončení. Rovněž konec těla má oproti samicím výrazně ostřejší charakter.



Obr. 37 (SEM) a Obr. 38 (LM): Kaudální zakončení těla ♂ *S. cervi*. (**lp** – laterální přívěsky, **kl** – kloaka, **pr** - prekloakální papily, **po** – postkloakální papily, **me** – mediální papila, **mlp** – malé laterální papily, **sp** – spikula) (foto: Sylva Lanková, 2018)

Kaudální část těla samců je spirálovitě stočena a po celém ventrálním povrchu je pokryta příčným pásováním (viz Obrázek 39 a 40).



Obr. 39 (SEM) a Obr. 40 (LM): Příčné pruhování na ventrální straně těla ♂ *S. cervi* (foto: Sylva Lanková, 2018)

### 5.1.3 Morfologický klíč

Při popisech morfologických struktur nepoužívají autoři jednotnou terminologii a rovněž i jejich závěry vycházejí z různých morfologických znaků. Z toho důvodu byl vytvořen morfologický klíč s cílem přesnější druhové determinace filariodních hlístic rodu *Setaria* infikujících volně žijící přežvýkavce v Evropě (viz Tabulka 6).

Tento identifikační klíč byl sestaven na základě morfologických studií provedených za využití světelné i skenovací elektronové mikroskopie autorů Shoho & Uni (1977), Žďárská & Scholl (1978), Kotrlá (1984), Wee et al. (1996), Subhachalat & Adachi (1997), Favia et al. (2003), Nakano et al. (2007), Nikander et al. (2007), Bednarski et al. (2010), Kim et al. (2010), Kowal et al. (2013), Singh et al. (2013), Sundar & D'Souza (2015), Kumar & Kumar (2016), Enemark et al. (2017), Oloś et al. (2019), Mrifag et al. (2020) i dle studia vlastních vzorků.

Tab. 6: Morfologický klíč pro determinaci *Setaria* spp. s prokázaným výskytem v Evropě

morfologické struktury	pohlaví	<i>S. cervi</i>	<i>S. labiatopapillosa</i>	<i>S. tundra</i>
délka těla [mm]	♀	76 -142	84 -150	46 - 80
délka těla [mm]	♂	38 -76	80	28 -37
šířka těla [μm]	♀	440 -1125	550 - 600	605 -792
šířka těla [μm]	♂	324 - 444	400	320 -347
dorzální výčnělky (DV) ventrální výčnělky (VV)	♀ ♂	pravidelný hvězdicovitý tvar dlouhých DV i VV	DV a VV rozdvojené laterálně od sebe vzdálené, oble zakončené	DV a VV rozdvojené laterálně od sebe vzdálené, velmi krátké
ústní otvor	♀ ♂	kruhovitý	oválný	kruhovitý
prekloakální papily	♂	4 páry	3 páry	3 páry
mediální papily	♂	jedna papila	1 pár	1 pár
postkloakální papily	♂	4 páry	4 páry	3 páry
malé ocasní papily	♂	1 pár	nepublikováno	1 pár
kaudální zakončení	♀	„knoflíkovité“ oblé porézní struktury	kuželovité s trny	kuželovité porézní
kaudální zakončení	♂	silně stočené	silně stočené	silně vývrtkovitě stočené

Autor: Sylva Lanková, 2020

## 5.2 Statistické vyhodnocení

Nejprve byla vypočítána popisná statistika pro parametry délky a šířky jedince ve skupinách podle vývojového stádia samic. U samců nebylo specifikováno vývojové stádium a nebyli proto do následujících analýz porovnání vývojových stádií zařazeni.

Z tabulek 7 a 8 vyplývá, že největší průměrné délky a šířky dosahují adultní samice. Tato skupina dle variačního koeficientu (8,092 % pro délku a 6,236 % pro šířku těla) vykazuje nejvyšší variabilitu, o čemž svědčí rovněž hodnoty směrodatných odchylek, kde v délce se průměrně každý jedinec odlišuje o 10,04 mm a v šířce o 63,11  $\mu\text{m}$  od průměru celé skupiny.

Tab. 7: Popisná statistika pro parametr délky těla sledovaných vzorků *S. cervi*

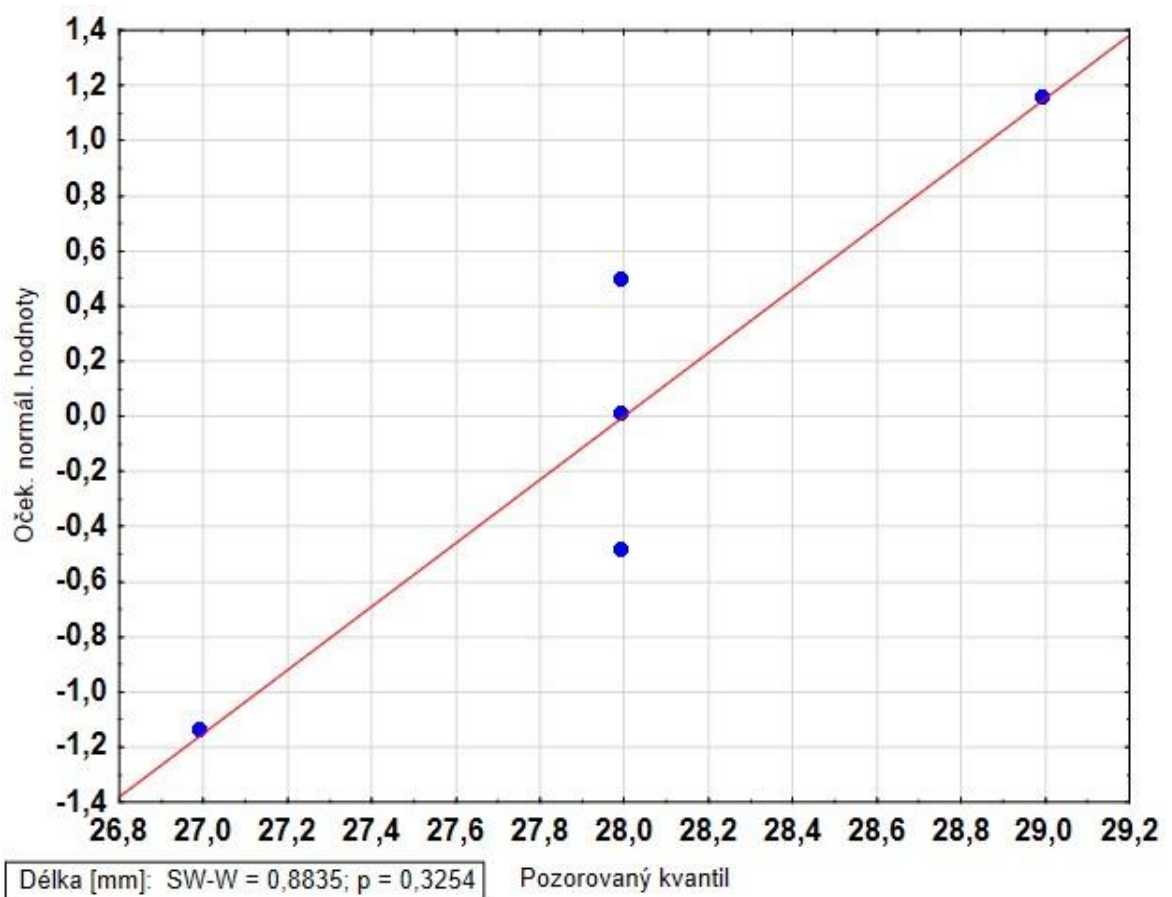
Proměnná	Souhrnné výsledky Popisné statistiky (data)								
	Pohlaví	Vývojové stádium	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Rozptyl	Sm. odchylka	Var. koef. [%]
Délka [mm]	samice	adultní	9	124,111	109,000	141,000	100,861	10,043	8,092
Délka [mm]	samice	L5	6	53,833	51,000	56,000	3,367	1,835	3,408
Délka [mm]	samice	L4	5	28,000	27,000	29,000	0,500	0,707	2,525
Délka [mm]	samec	nespecifik.	4	40,250	38,000	42,000	2,917	1,708	4,243

Tab. 8: Popisná statistika pro parametr šířky těla sledovaných vzorků *S. cervi*

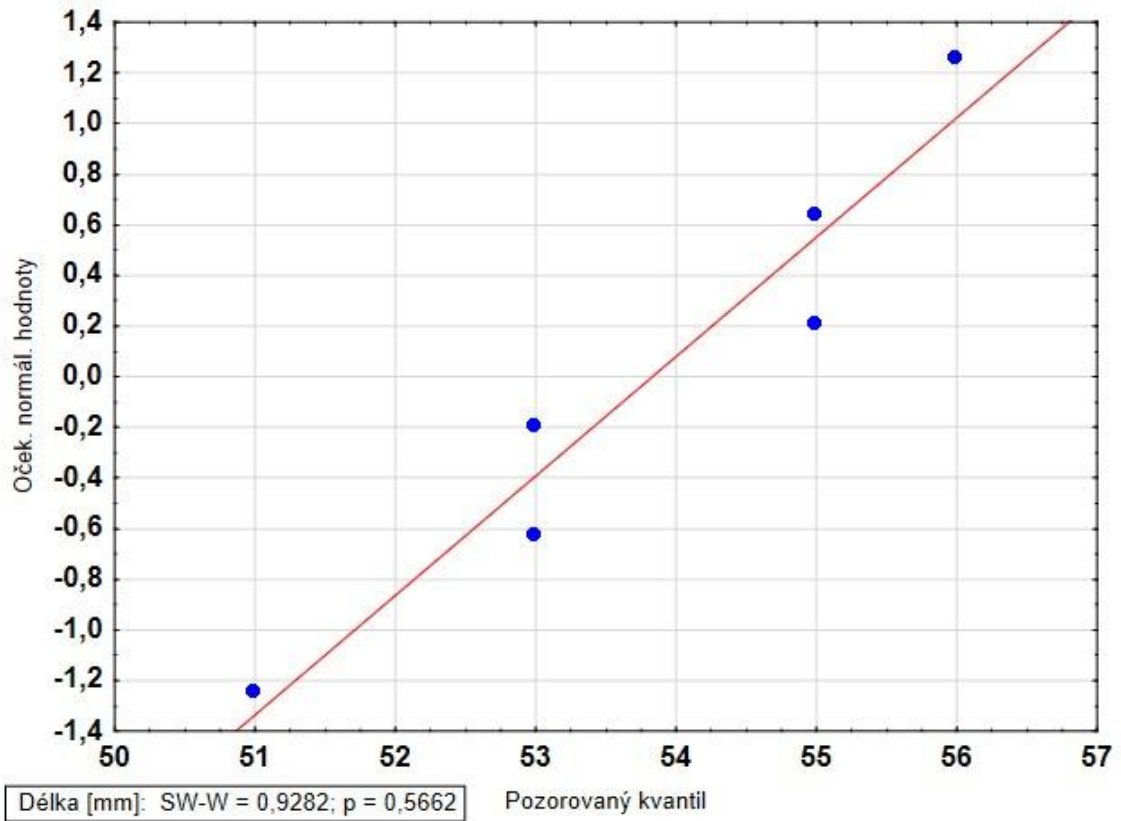
Proměnná	Souhrnné výsledky Popisné statistiky (data)								
	Pohlaví	Vývojové stádium	N platných	Průměr	Minimum	Maximum	Rozptyl	Sm. odchylka	Var. koef. [%]
Šířka [ $\mu\text{m}$ ]	samice	adultní	9	1012,000	904,000	1125,000	3982,250	63,105	6,236
Šířka [ $\mu\text{m}$ ]	samice	L5	6	593,167	550,000	630,000	803,767	28,351	4,780
Šířka [ $\mu\text{m}$ ]	samice	L4	5	210,000	206,000	215,000	10,500	3,240	1,543
Šířka [ $\mu\text{m}$ ]	samec	nespecifik.	4	420,000	395,000	444,000	400,667	20,017	4,766



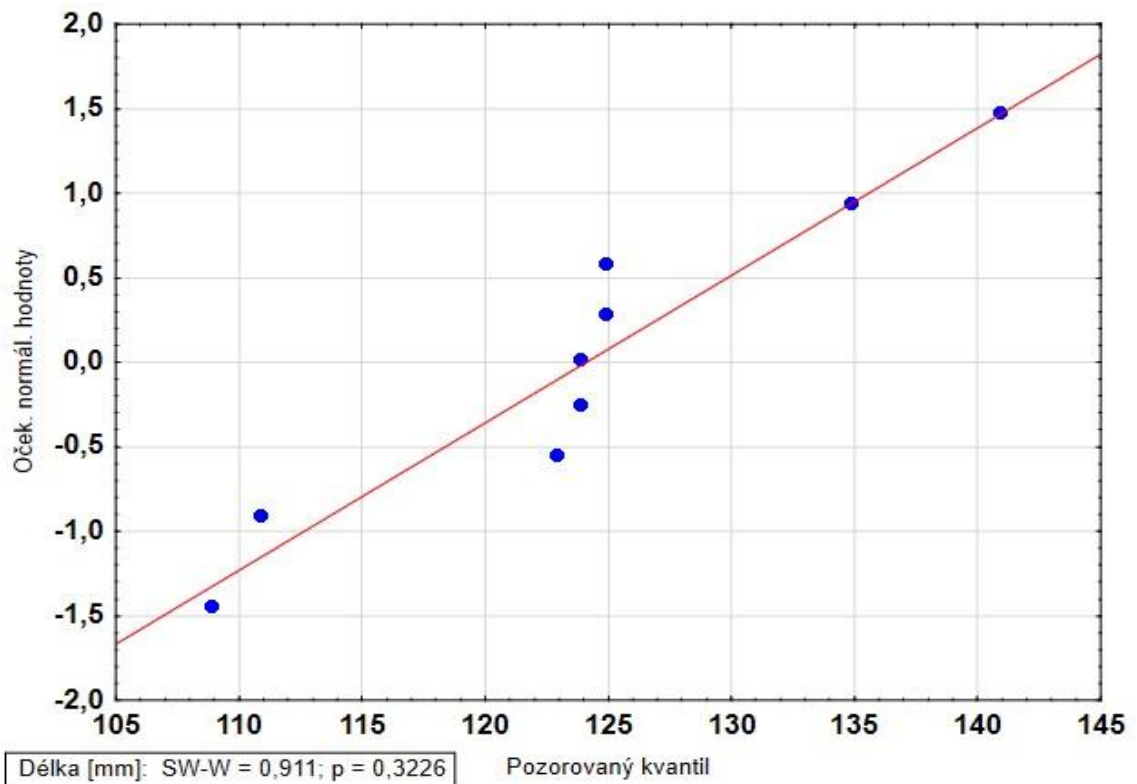
Pro vyhodnocení rozdílů ve sledovaných parametrech mezi různými vývojovými stádii samic, bylo nejprve nutné ověřit normalitu a homoskedasticitu dat. Vyhodnocení normality dat bylo provedeno pomocí Shapiro-Wilkova testu, jehož vyhodnocení na základě p-hodnoty je znázorněno v grafech č. 1- 6. P-hodnoty pocházející z testu normality pro délku samic (larvální L4:  $p = -0,325$ , juvenilní L5:  $p = 0,566$  a adultní:  $p = 0,322$ ) a šířku samic (larvální L4:  $p = 0,543$ , juvenilní L5:  $p = 0,946$  a adultní:  $p = 0,663$ ) byly následně porovnány na hladině významnosti  $\alpha = 0,05$ . Ve všech případech byla hodnota  $p$  větší než stanovená hladina významnosti. Lze tedy tvrdit, že nelze zamítnout nulovou hypotézu a tedy, že data pocházejí z normálního rozdělení (viz Grafy 1 až 6).



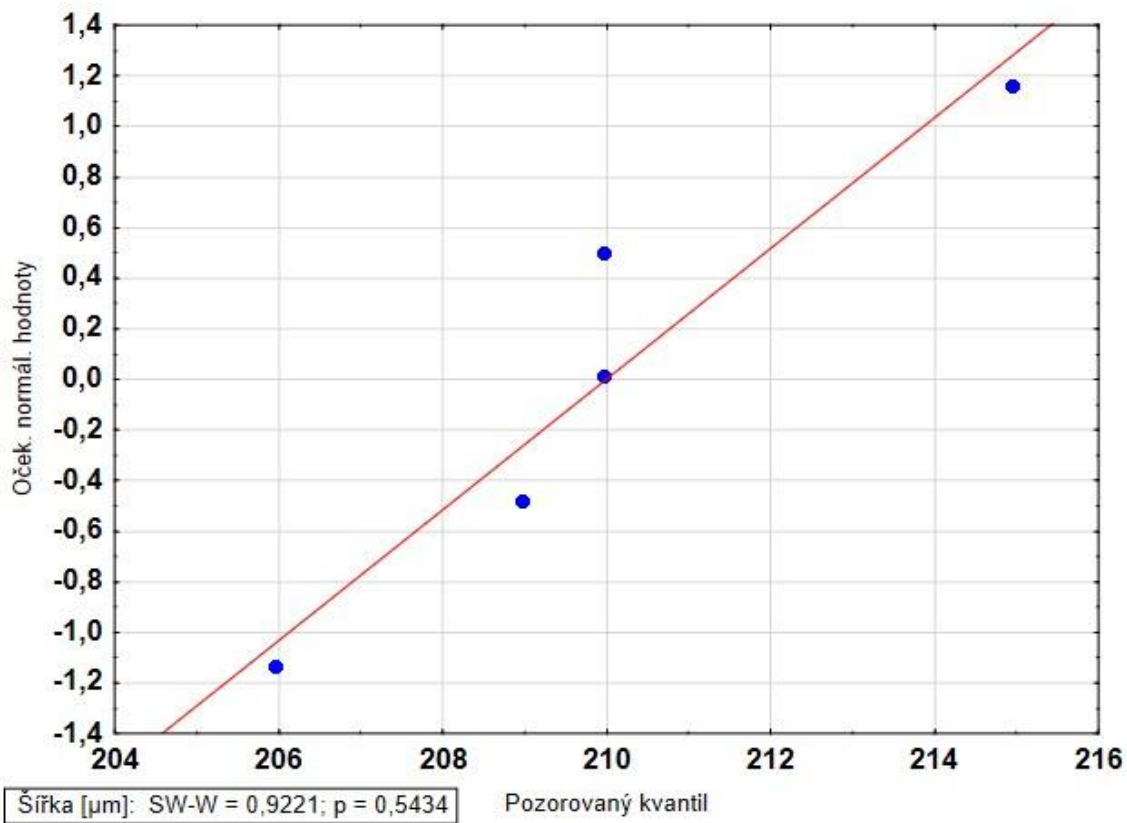
Graf 1: Normální pravděpodobnostní graf (délka těla) samice L4



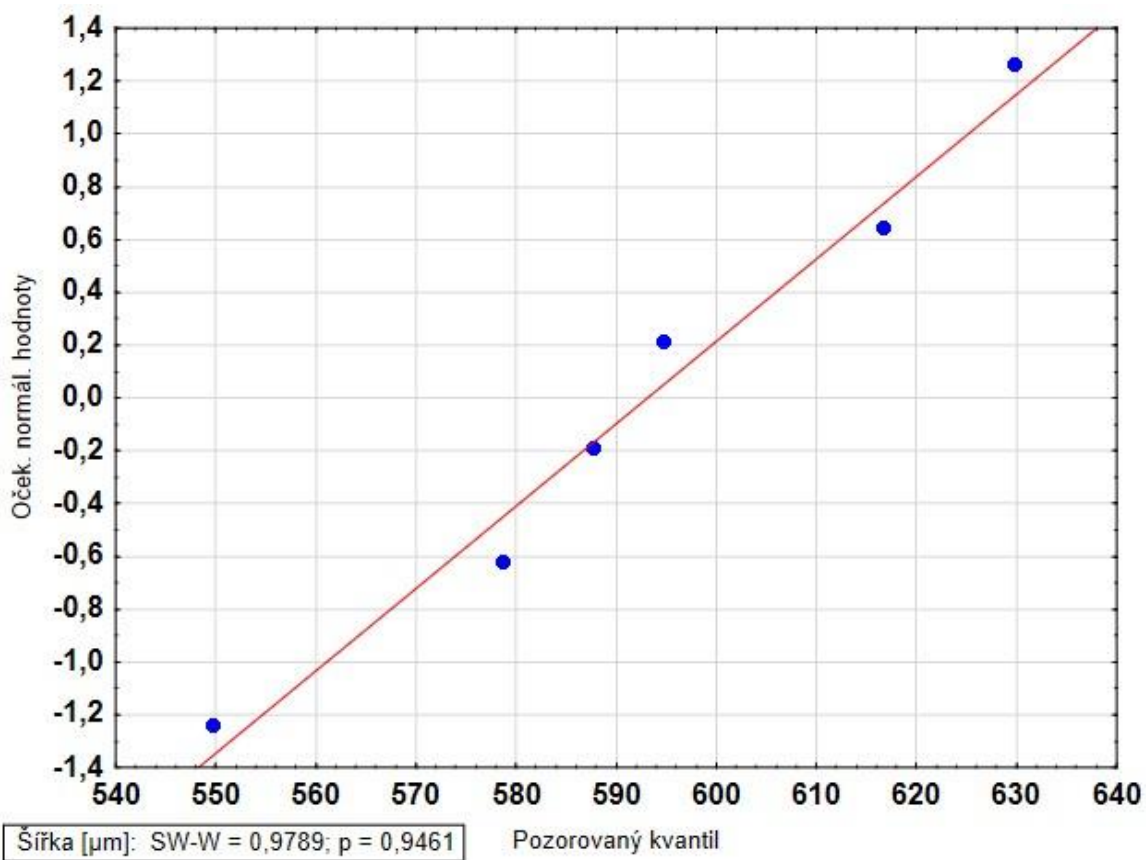
Graf 2: Normální pravděpodobnostní graf (délka těla) samice L5



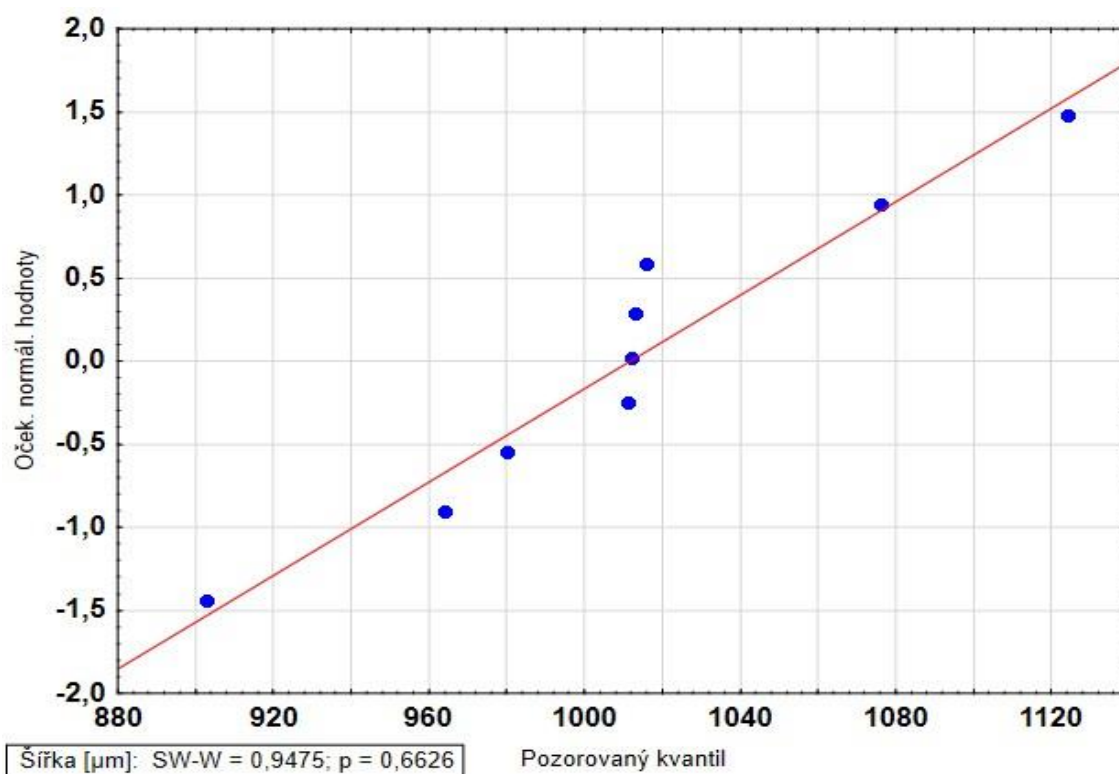
Graf 3: Normální pravděpodobnostní graf (délka těla) adultní samice



Graf 4: Normální pravděpodobnostní graf (šířka těla) samice L4



Graf 5: Normální pravděpodobnostní graf (šířka těla) samice L5



Graf 6: Normální pravděpodobnostní graf (šířka těla) adultní samice

Další testování bylo provedeno za účelem ověření homoskedasticity rozptylů pomocí Leveneova testu, jehož výsledky pro oba sledované parametry uvádějí Tabulky 9 a 10.

Tab. 9: Výsledky testování homogenity rozptylu pro délku samic

	Leveneův test homogenity rozptylů (data) Efekt: "Vývojové stádium" Stupně volnosti pro všechna F: 2, 17			
	PČ Efekt	PČ Chyba	F	p
Délka [mm]	78,37877	24,89331	3,148588	0,068665

Na základě získané p-hodnoty ( $p = 0,068665$ ), která je vyšší než stanovená hladina významnosti, nelze zamítnout nulovou hypotézu. Platí tedy, že, neexistují statisticky významné rozdíly v rozptylech délky různých stádií samic.

Stejného výsledku bylo dosaženo i pro druhý sledovaný parametr, a to šířku samic dle vývojového stadia, kde p - hodnota byla rovna 0,116889.

Tab. 10: Výsledky testování homogenity rozptylu pro šířku samic

Šířka [ $\mu\text{m}$ ]	Leveneův test homogenity rozptylů (data) Efekt: "Vývojové stádium" Stupně volnosti pro všechna F: 2, 17			
	PČ Efekt	PČ Chyba	F	p
	2573,858	1054,039	2,441900	0,116889

Vzhledem k tomu, že byly splněny podmínky normality dat i homoskedasticity rozptylů, byla pro porovnání středních hodnot obou parametrů použita jednofaktorová analýza rozptylu (viz Tabulka 11 pro délku těla a Tabulka 13 pro šířku těla).

Tab. 11: Porovnání středních hodnot (délka těla)

Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro Délka [mm] (data) Sigma - omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	88771,63	1	88771,63	1827,634	0,0000000
Vývojové stádium	35120,28	2	17560,14	361,529	0,0000000
Chyba	825,72	17	48,57		

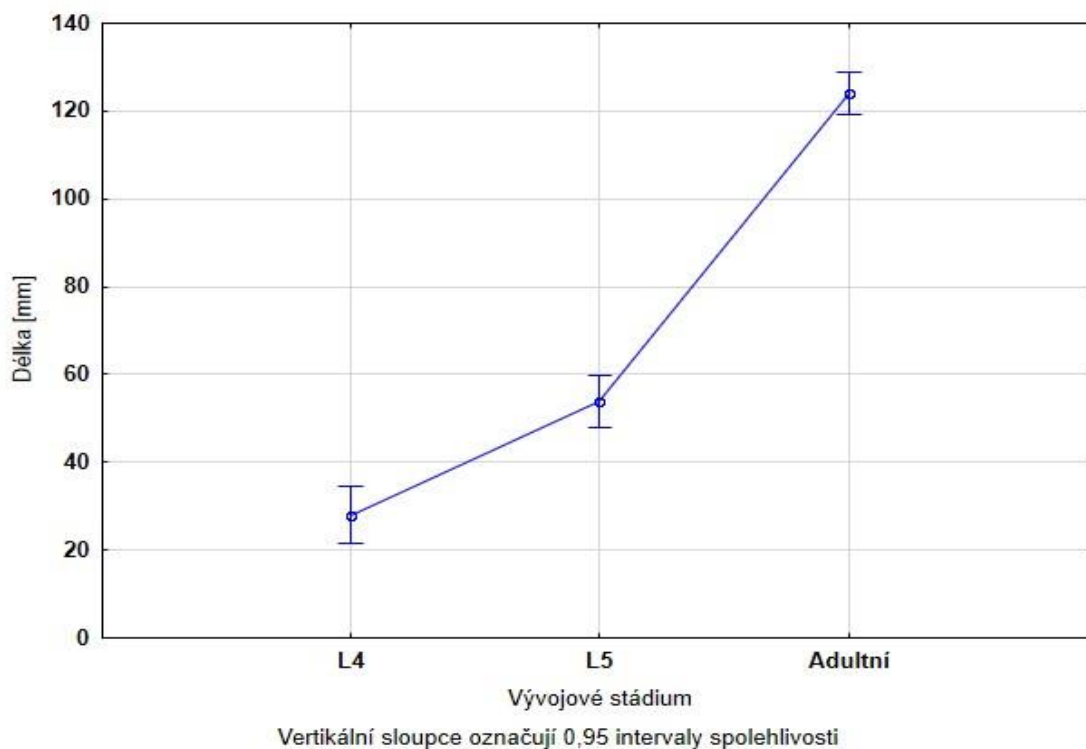
P-hodnota ( $p < 0,001$ ) u sledovaného faktoru – vývojové stadium je menší než stanovená hladina významnosti  $\alpha = (0,05)$ . Nulovová hypotéza se proto zamítá a lze tvrdit, že sledovaný faktor vývojové stádium je statisticky průkazný a alespoň jedna průměrná délka některého z vývojových stádií samic se statisticky významně liší.

Pro další vyhodnocení, s cílem zjistit, mezi kterými stádii je statisticky významný rozdíl (viz Tabulka 12), byl použit post hoc test– Scheffeho test.

Tab. 12: Test mnohonásobných porovnaní (tělesné délky vývojových stádií samic)

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná Délka [mm] (data) Pravděpodobnost pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 48,572, sv = 17,000			
	Vývojové stádium	{1} 124,11	{2} 58,833	{3} 28,000
1	L4	0,000000	0,000050	
2	L5	0,000000		0,000050
3	Adultní		0,000000	0,000000

Z výsledků post hoc testu vyplývá, že existují statisticky významné rozdíly v průměrných hodnotách délek samic mezi všemi stádii. Tento výsledek dokládá i Graf 7, kde jsou vyznačeny průměrné hodnoty délky samic dle vývojových stádií. Nejvyšší průměrná hodnota délky byla zjištěna u samic adultního stádia.



Graf 7: Porovnání průměrných hodnot délky dle vývojového stádia samic

Co se týče šířky těla, lze stejně tak jako u délky, pozorovat statisticky významný rozdíl ve vyhodnocovaném faktoru vývojového stádia. Na základě p-hodnoty byla nulová hypotéza zamítnuta (viz Tabulka 13).

Tab. 13: Porovnání středních hodnot (šířka těla)

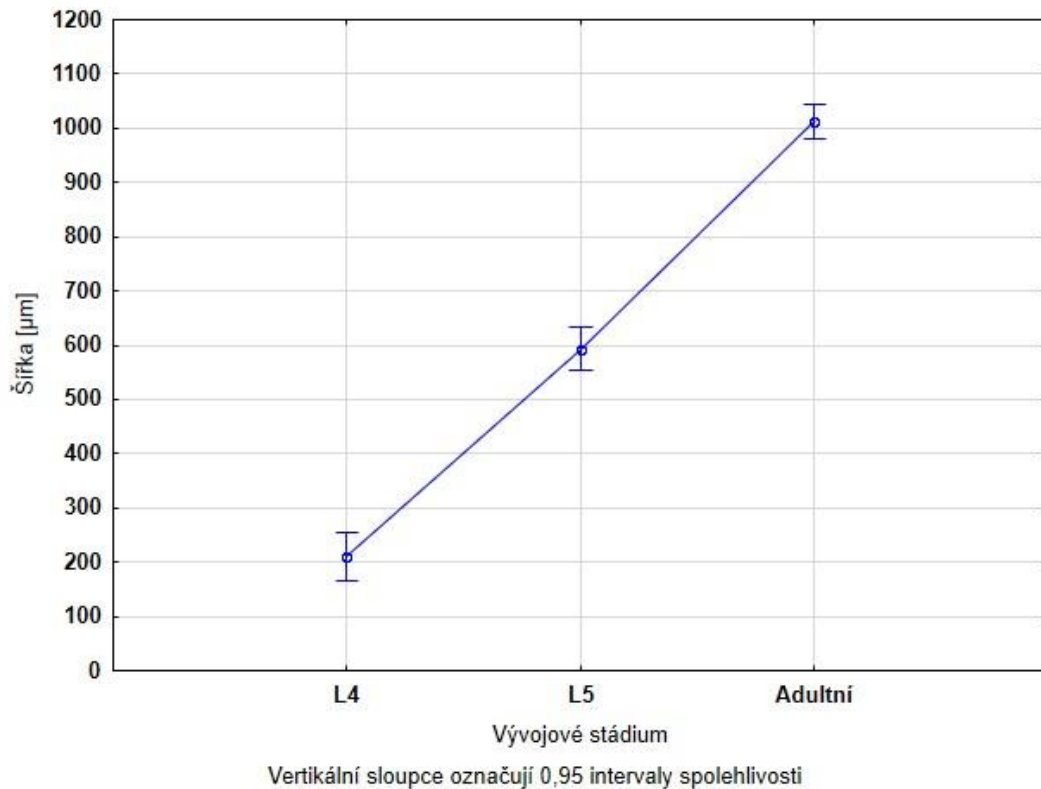
Efekt	Jednorozměrné testy významnosti pro Šířka [ $\mu\text{m}$ ] (data) Sigma - omezená parametrizace Dekompozice efektivní hypotézy				
	SČ	Stupně volnosti	PČ	F	p
Abs. člen	6896156	1	6896156	3263,877	0,000000
Vývojové stádium	2141072	2	1070536	506,673	0,000000
Chyba	35919	17	2113		

Pro další vyhodnocení, s cílem zjistit, mezi kterými stádii je statisticky významný rozdíl (viz Tabulka 14), byl opět použit post hoc test – Scheffeho test.

Tab. 14: Test mnohonásobných porovnaní (tělesné šířky vývojových stádií samic)

Č. buňky	Scheffeho test; proměnná Šířka [ $\mu\text{m}$ ] (data) Pravděpodobnost pro post-hoc testy Chyba: meziskup. PČ = 2112,9, sv = 17,000			
	Vývojové stádium	{1} 1012,0	{2} 593,17	{3} 210,0
1	L4	0,000000	0,000050	
2	L5	0,000000		0,000000
3	Adultní		0,000000	0,000000

Z výsledků provedeného post hoc testu lze vyvodit, že existuje statisticky průkazný rozdíl mezi všemi vývojovými stádii samic. Výsledné průměrné hodnoty jsou znázorněny v následujícím Grafu 8. Z tohoto je patrné, že nejvyšší průměrná hodnota šířky byla zjištěna u samic adultního stádia.



Graf 8: Porovnání průměrných hodnot šířky dle vývojového stádia samic

### 5.3 Molekulárně - genetické analýzy

Tato studie celosvětově jako první prezentuje kompletní sekvenci *cox1* genu včetně sousedních oblastí (*ND4*, *ND6*, tRNA-Trp) u druhu *S. cervi*. Nové nukleotidové sekvence byly uloženy v mezinárodní genomické knihovně NCBI s následujícími přístupovými čísly: MT977050; MT977049; MT977058; MT977051; MT977056; MT977059; MT977057; MT977060; MT977053; MT977055; MT977054; MT977052; MT977062; MT977061; MT977065; MT977066; MT977071; MT977068; MT977073; MT977072; MT977067; MT977064; MT977070 a MT977063.

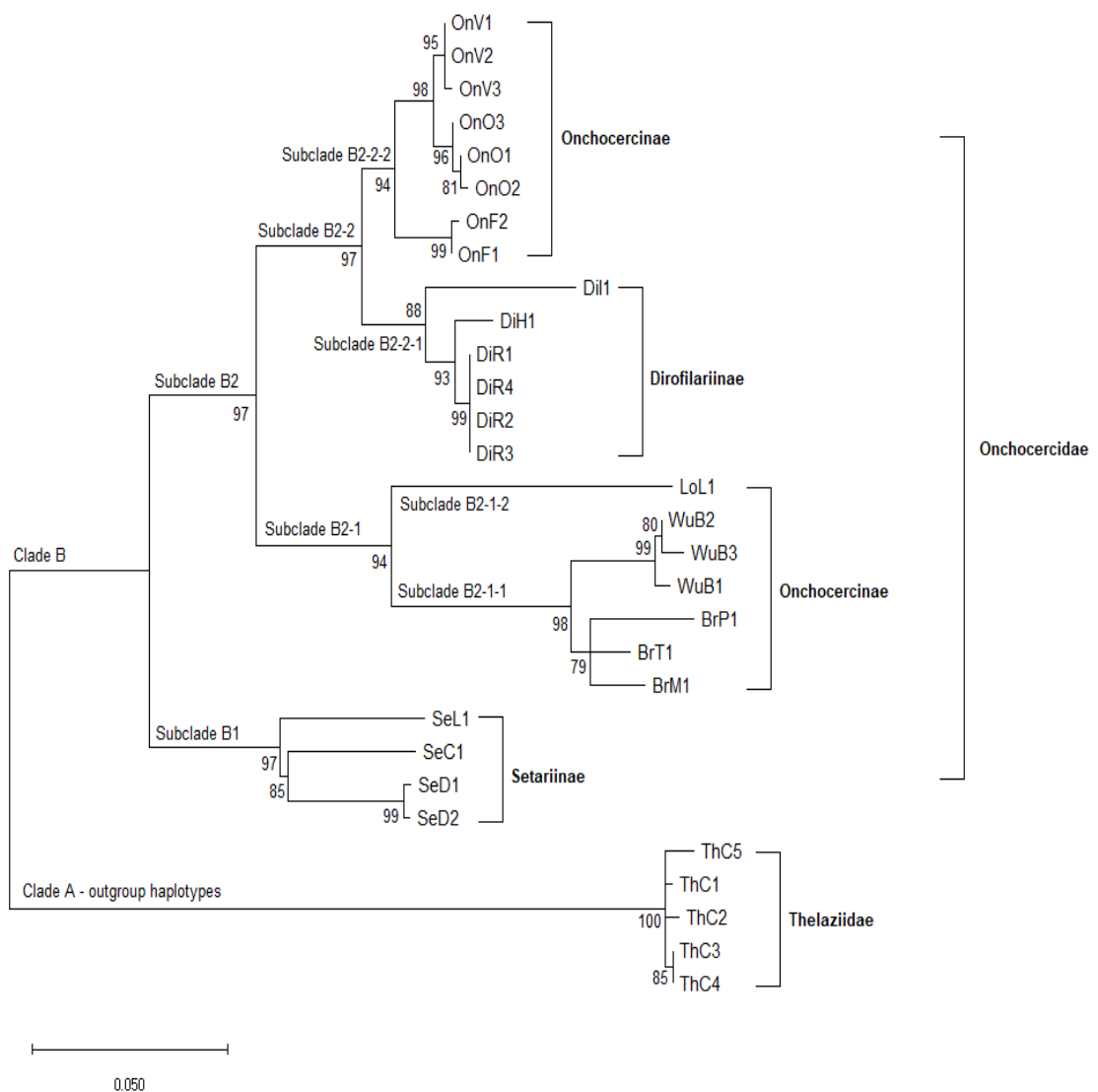
Všech dvacet čtyři vzorků (dvacet samic a čtyři samci) bylo identifikováno jako *S. cervi* na základě haplotypů SeC1. Alignment kompletní sekvence genu *cox1* ukázal, že identický haplotyp SeC1 pocházející z losa evropského z České republiky byl prezentován ve všech vzorcích a parciální sekvence indikovaly 100% identitu s haplotypem popsáným autory Alasaad at al. (2012) a Ološ et al. (2019).



### 5.3.1 **Fylogenetická studie**

Software jModelTest 2.1.10 v20160303 (Darriba et al. 2012) odhalil 1624 kandidátských modelů. Kritéria AIC a AICc identifikovala model GTR + I + G (Nei & Kumar 2000) jako nejvhodnější ( $-\ln L = 9006,71179$ ;  $AICc = 18155,370348$ ). Bylo pozorováno rozdělení gama s parametrem tvaru a parametrem p-inv 1,1230, respektive 0,5160.

Procenta replikovaných stromů, ve kterých se sdružené taxony shlukovaly dohromady v bootstrap testu (1000 replikátů), jsou zobrazeny vedle uzlů fylogenetického stromu uvedeného na obrázku č. 40.



Obr. 41: Molekulární fylogenetická analýza (maximum likelihood) čeledi Onchocercidae zakořeněná outgroupovým modelem *Thelazia callipaeda*, odvozená z mitochondriálních nukleotidových sekvencí genu *cox1*. Měřítko indikuje podíl poloh měnících se podél každé větve. Hodnoty nad a pod uzly představují hodnoty bootstrapu (%).

Zdroj: Lanková et al. (2021)

## 6. Diskuze

V časovém rozmezí dvou let, během něhož byli vyšetřeni zástupci čeledi Cervidae v severních a západních Čechách byl nalezen relativně nízký počet hlístic rodu *Setaria*. U deseti z dvaceti šesti vyšetřených jelenů evropských (prevalence 38,5 %), u dvou jedinců z celkem čtyřiceti čtyř vyšetřených jelenů sika (prevalence 4,5 %) a u jednoho losa evropského. Ovšem u dvaceti dvou srnců obecných a tří daňků skvrnitých nebyla žádná tato hlístice nalezena. Zejména u srnců obecných byl předpokládán nále zástupců *S. tundra*, ale žádná hlístice rodu *Setaria* u nich nalezena nebyla.

Napříč Evropou jsou jeleni evropští běžní hostitelé zástupců *Setaria* spp. (Alasaad et al. 2012; Ološ et al. 2019). Ve skutečnosti je klasická taxonomie hlístic rodu *Setaria*, zejména druhu *Setaria cervi* od jejího prvního popisu jako *Filaria cervi* Rudolphi (1819) velmi problematická, neboť se objevilo mnoho synonymních názvů (Sonin 1977). Z tohoto důvodu mohou být dosud publikované údaje o výskytu *S. cervi* nepřesné.

Rod *Setaria* je příkladem nematod, u nichž morfologické popisy založené na pozorování pod světelným mikroskopem nejsou dostačující pro korektní druhové zařazení (Yeh 1959; Sonin 1977). Tato disertační práce i studie dalších autorů, např.: Alasaad et al. (2012) a Ološ et al. (2019) dokazují, že prokázat jednoznačně druhovou příslušnost *S. cervi* vyžaduje pozorování pod skenovacím elektronovým mikroskopem a zároveň potvrzení molekulárně - genetickými metodami.

Prevalence *S. cervi* u jelenů evropských v České republice odpovídá dříve publikovaným údajům, ačkoli jsou pouze sporadické (Blažek et al. 1968; Chroust & Forejtek 2010a). V jihozápadní oblasti Polska bylo z jedenácti jelenů evropských vyšetřených týmem Ološ et al. (2019) osm infikováno *S. cervi* a dva navíc i druhem *S. tundra* (celková prevalence 27,3 %). I tento autorský tým uvádí, že počet hlístic byl u jednotlivých hostitelů nízký (v rozmezí jeden až tři vzorky) a šlo celkem pouze o jednoho samce a osm samic *S. cervi*. Laaksonen et al. (2009a) popisují nále z sedmi adultních samic *S. tundra* u mladého soba polárního a jednu adultní samici u staršího jedince. Samec nebyl nalezen během autopsie žádný. Ve své práci popisují u orgánových

vývrhů dvou jelenů evropských nález pouze samců *S. cervi* a s výjimkou jednoho jelena sika, kde byla zjištěna přítomnost dvou samic a jednoho samce, byly u všech vývrhů ostatních hostitelů nalezeny pouze samice.

Jelen sika se jeví jako druhý nejvhodnější zástupce čeledi Cervidae jako hostitel *Setaria cervi*, prevalence této hlístice má však tendenci dosahovat nižších hodnot než u jelenů evropských. Tato mezidruhová diference pravděpodobně souvisí s rozdílnými specifiky etiologie a ekologických preferencí nepůvodních východoasijských jelenů sika. Tento druh upřednostňuje otevřené biotopy, kde je větší pravděpodobnost nižší hustoty populace komárů (Honda et al. 2014; Macháček et al. 2014). V Evropě, konkrétně v Rakousku, popsali výskyt *S. cervi* u jelenů sika pouze Rehbein & Visser (2007). O výskytu a prevalenci *S. cervi* u jelenů sika v České republice dosud nebyly publikovány žádné informace.

Poslední hostitel infikovaný *S. cervi*, los evropský pocházel z oblasti Šumavy, kde po dlouhou dobu existuje malá místní populace tohoto druhu (Homolka 1998). Dosud byl u losů evropských hlášen výskyt pouze hlístic druhu *S. tundra*, tato pozorování byla realizována ve Finsku (Laaksonen 2010) a v Polsku (Demiaszkiewicz et al. 2015). Anderson (2000) však předpokládá velkou možnost infekce *S. cervi* i u tohoto hostitele. Současná studie tento předpoklad potvrzuje.

Jak již bylo zmíněno, jediným spolehlivým způsobem identifikace hlístic rodu *Setaria* do druhů jsou nyní souběžné komplexní metody, tedy morfologické a molekulárně - genetické analýzy. V této disertační práci byly použity obě metody při zpracování všech dvacetičtyř vzorků *Setaria* spp.

Korektní identifikace všech vzorků byla ověřena molekulárně - genetickými metodami za pomoci již publikovaných sekvencí *cox1* genu u druhů *S. digitata* a *S. labiatopapillosa*. Zároveň jsme v rámci studie jako první provedli kompletní sekvenaci *cox 1* genu u *S. cervi*. Naše prvotní parciální haplotypy SeC1 se shodovaly s publikovanými sekvencemi týmů Alasaad et al. (2012) a Ološ et al. (2019). Oba autorské týmy rovněž použily pár primerů dle Casiraghi et al. (2001) a osekvenovaly PCR amplikon o délce 690 bp. Alasaad et al. (2012) analyzovali parciální sekvenci *cox 1* genu u dvou samců *S. cervi* získaných ze dvou jelenů evropských v Itálii

(č. sekvence v NCBI: JF800924.1), zatímco Ološ et al. (2019) studovali šest samic a jednoho samce *S. cervi* nalezených v jelenu evropském v Polsku (č. sekvence v NCBI: MK360913.1). Tato práce založená na studiu dvaceti samic a čtyř samců je mnohem rozsáhlejšího charakteru.

Hrubá morfologie čtyř samců a majoritní části samic odpovídala druhovým charakteristikám adultních *S. cervi* (Durette-Desset 1966; Sonin 1977; Almeida et al. 1991; Sundar & D'Souza 2015; Ološ et al. 2019). Pět nejmenších samic se však morfologicky lišilo v detailech jak cefalických, tak kaudálních částí těla. Jednalo se o larvy čtvrté fáze vývoje (L4). Zbývajících patnáct delších samic bylo rozděleno do dvou skupin podle tělesných rozměrů a odlišností kaudální části těla: šest z nich bylo středně velkých, dosud nefertilních, juvenilních mladistvých samic bez přítomnosti vajíček či mikrofilárií v děloze (vývojové stádium L5), devět největších samic bylo fertilních a tedy i adultních dle přítomnosti vajíček i mikrofilárií v děloze.

Rychlé změny velikosti těla a mírné změny morfologie velmi pravděpodobně souvisejí s ekdyzí nejmenších larev L4 do již delších juvenilních samic vývojového stádia L5, které dorůstají později a pohlavně dospívají v adultní samice produkující mikrofilárie. Podobná analýza vývoje samic u *S. cervi* dosud nebyla publikována. Pouze Sonin (1977) popisoval larvy L3 *S. cervi* nalezené u hostitele, které dosahovaly délky 5 mm a larvy L4, jejichž průměrná délka těla dosahovala 22,8 mm. To je v souladu se současnými měřeními larev L4 dosahujících maximální délky těla 29 mm.

Tung et al. (2003) popsali morfologii larev a dospělých samic dvou druhů rodu *Setaria*: *S. marshalli* a *S. digitata* získaných během autopsie skotu na Tchaj-wanu. Pokud jde o morfologii larev L4, autoři považovali tyto larvy za nevhodné pro druhovou specifikaci, protože uspořádání peribukální koruny a „knoflíkovitého“ útvaru na kaudálním zakončení těla byla u obou druhů nezřetelná. Juvenilní L5 a dospělé samice těchto druhů však byly snadno rozeznatelné. Naše zjištění týkající se morfologie larev L4, juvenilních L5 a adultních *S. cervi* byla podobná, nikoli však totožná. Všech pět molekulárně determinovaných samic L4 bylo odlišitelných od ostatních delších a starších hlístic *S. cervi* svými vnořenými peribukálními korunami, rovněž absencí cefalických a externolabiálních papil včetně absence amfidů.

Výsledky statistického vyhodnocení našich vzorků nelze porovnat, neboť jediný autorský tým (Tung et al. 2003), který detailně popsal morfologii adultních, larválních L4 i juvenilních L5 stádií, byť u jiných, v Evropě se nevyskytujících druhů rodu *Setaria*, statistické vyhodnocení neprovedl.

Morfologické uspořádání peribukální koruny juvenilních samic L5, adultních samic i všech samců, zejména pravidelné rozložení dorzálních a ventrálních výčnělků připomínajících „čtyřcípou hvězdu“, je ve srovnání s dalšími druhy hlístic *Setaria* spp. vyskytujících se v Evropě nezaměnitelné a pro *S. cervi* charakteristické.

Struktura kaudálního zakončení těla se výrazně lišila jak mezi samci a samicemi obecně, tak rovněž mezi jednotlivými vývojovými stádii samic. Samice vývojového stádia L4 mají ocas zakončený kyjovitým výčnělkem, laterální výčnělky mají ostré zakončení, zatímco u juvenilních samic L5 je již viditelné tupé zakončení ocasu „knoflíkovitého“ tvaru, dosud však odděleného prstencovitou drážkou a přetrvávající přítomností kutikulárního lemu. Laterální přívěšky jsou již vzdálenější od konce těla a jsou již méně špičaté než u L4 samic. Tyto popisy nebyly dosud publikovány. U adultních samic je již jasně patrné oblé zakončení „knoflíkovitého“ tvaru hrubší, porézní struktury. Toto pozorování je v rozporu se studií Williams (1955), který popisuje ocas zakončený trny. Dle detailního prostudování této studie včetně morfologické deskripce cefalické části těla lze vyvodit jednoznačný závěr, že autor popisoval samici *S. labiatopapillosa*, nikoli *S. cervi*, což je v souladu i s popisy dalších autorů (Žďárská & Scholl 1978; Subhachalat & Adachi 1997; Sundar & D'Souza 2015).

Souhrnně lze konstatovat, že změny morfologie, velikosti i šíře těla jasně přibližují způsob ontogenetického vývoje u *S. cervi*. Navíc je nutné poznamenat, že mnoho autorů, kteří se věnovali studiu těchto v Evropě poměrně vzácných hlístic, vývojová stádia při svých popisech vůbec nezohledňovalo.

Mezi adultními hlísticemi rodu *Setaria* existuje poměrně široký rozsah jak v délkách, tak i šířkách těla. Autoři Blažek et al. (1968), Rommel et al. (2000) a Sundar & D'Souza (2015) uvádějí u samic *S. cervi* zjištěné hodnoty tělesné délky 76 - 142 mm a šířky 440 - 804  $\mu\text{m}$ . Vzorky samic v této práci dosahují tělesné délky 109 - 141 mm a šířky 904 - 1125  $\mu\text{m}$ .

Délky jsou v souladu s hodnotami publikovanými výše zmíněnými autory, zatímco šířky těl dosahují vyšších hodnot. Ološ et al. (2019) naměřili u šesti samic délku těla 51 - 131 mm. Hodnota 51 mm odpovídá dle mého zjištění spíše juvenilní samici L5, toto však autoři ve své práci nezmiňují. Nikdo z autorů publikujících studie o *S. cervi* se nevěnoval popisům vývojových stádií L4, L5 ani nebylo provedeno žádné statistické hodnocení u adultních jedinců. Jediný autorský tým (Tung et al. 2003) popsal detailně vývojová stadia L4 a L5 u druhů *S. digitata* a *S. marshalli*, tito autoři však uvádějí pouze morfometrické údaje a morfologické deskripce bez statistického vyhodnocení.

V současné době se hlístice rodu *Setaria* staly především modelovým organismem při vývoji antifilariotik - léčiv působícím proti filáriím sužujícím zejména subtropy a tropy (Anwar et al. 1977; Rathaur et al. 2009; Nayak et al. 2011; Roy et al. 2019). Morfologické vlastnosti přitom zůstávají bez povšimnutí a nejsou cílem většiny novodobých studií.

Nové informace týkající se kompletní sekvence mitochondriálního *cox1* genu byly použity v aktuální fylogenetické studii zaměřené na čeled' Onchocercidae i na polohu podčeledi Setariinae a příbuzenskou vzdálenost druhů *Setaria* spp. Čeled' Onchocercidae je obecně považována za monofyletickou (Lefoulon et al. 2015). Fylogeneze založená na morfologických charakteristikách naznačuje relativně časnou separaci hlístic rodu *Setaria* od jiných podčeledí čeledi Onchocercidae (Bain & Chabaud 1986), což bylo později potvrzeno na základě molekulární fylogenetické studie analyzující sekvence několika mitochondriálních a jaderných genů (Lefoulon et al. 2015; Yilmaz et al. 2016; Mirzaei et al. 2018). Podčeled' Setariinae lze tedy považovat za samostatnou větev.

Fylogenetická analýza prezentována v této disertační práci (viz Obrázek 37) tuto hypotézu plně podporuje. Podvětev B1 zahrnující rody hlístic *Setaria* (97% bootstrap replikátů) je jasně oddělena od podvětvě B2 (98% bootstrap replikátů) zahrnující podčeledi Onchocercinae a Dirofilarinae. Některé fylogenetické studie založené na parciálních sekvencích *cox1* genu však poskytly odlišné výsledky (Bain 2002; Alasaad et al. 2012). V každém případě je naše analýza v dobré shodě s nejnovějšími studiemi zabývajícími se fylogenetickými vztahy v čeledi Onchocercidae (Lefoulon et al. 2015; Yilmaz et al. 2016; Mirzaei et al. 2018).

Je potvrzen vzájemný vztah rodů *Dirofilaria* a *Onchocerca* (podvětev B2-2) a blízké postavení sesterských rodů *Wuchereria* a *Brugia* (B2-1-1) s rodem *Loa* (B2-1- 2). Tato analýza potvrzuje také jasné oddělení podčeledi Setariinae od všech ostatních podčeledí a poskytuje velmi potřebné informace týkající se této podčeledi.



## 7. Závěr

- Tato disertační práce je prvním rozsáhlým přehledem výskytu filaroidních hlístic druhu *Setaria cervi* u přežvýkavé spárkaté zvěře v České republice. Jelen sika a los evropský byli poprvé registrováni v České republice jako hostitelé *S. cervi*. Všech dvacet samic a čtyři samci byli zařazeni do druhu *S. cervi* za využití tradičních morfometrických a morfologických metod spolu s ověřením molekulárně - genetickými metodami.

- Jde o první studii, která za využití skenovací elektronové mikroskopie detekovala rozdílné morfologické znaky během vývoje samic *S. cervi* (L4 - larvy čtvrtého vývojového stádia, L5 - juvenilní, nefertilní samice a samice fertilní, adultní). Byla zdokumentována podrobná morfologie cefalické části těla s důrazem na detailní uspořádání struktur peribukální koruny, lokalizaci externolabiálních a cefalických papil i amfidů, stejně jako na strukturu kaudálního zakončení těla samic, jež se během vývoje postupně tvaruje do charakteristického „knoflíkovitého“ tupého tvaru porézní struktury. Tímto byla potvrzena hypotéza č. 1 - „Morfologické struktury využívané pro potřeby taxonomie nejsou identické u juvenilních a adultních stádií *Setaria* spp.“. Rovněž bylo detailně popsáno kaudální zakončení samců, především počet a umístění papil, jež jsou v rámci rodu *Setaria* u samců nejvýznamnějším determinacním znakem jednotlivých druhů.

- Vzorke byly rovněž prohlédnuty světelným mikroskopem, ten se však neosvědčil jako vhodný pro korektní taxonomické zařazení druhů v rámci rodu *Setaria*, neboť nelze rozpoznat přesné uspořádání peribukální koruny ani umístění a počet ventrálních papil u samců. Tímto byla potvrzena hypotéza č. 2 - „Morfologická determinace na základě současných standardů, především využití světelné mikroskopie, vede k chybnému druhovému určení v rámci *Setaria* spp.“.

- Poprvé byla u *S. cervi* určena kompletní sekvence mitochondriálního *cox1* genu kódujícího enzymatický membránový komplex cytochrom c oxidázy. Tato sekvence byla zveřejněna v mezinárodní genomické databázi NCBI (dosud byly jinými autory publikovány pouze parciální sekvence tohoto genu u druhu *S. cervi*).

- V rámci fylogenetické studie bylo potvrzeno jasné umístění podčeledi Setariinae v čeledi Onchocercidae i vzájemná příbuzenská vzdálenost druhů rodu *Setaria*.

## 8. Doporučení pro využití poznatků v praxi

Většina dosavadních taxonomických studií hlístic rodu *Setaria* je často založena pouze na morfologických znacích a morfometrických údajích popsaných na základě pozorování pod světelným mikroskopem. Po prostudování dostupné literatury a porovnání publikovaných snímků zástupců *Setaria* spp. lze jednoznačně potvrdit, že světelná mikroskopie není vhodným nástrojem pro korektní určování druhů hlístic rodu *Setaria*, neboť nedokáže podrobně ukázat druhově specifické morfologické znaky narušitelné od skenovací elektronové mikroskopie, která pro morfologické popisy tou nejvhodnější technologií. Důkazem tohoto tvrzení je existence velkého množství studií založených právě na světelné mikroskopii, kde se interpretace autorů často významně liší a výsledné poznatky jsou mnohdy protichůdné. Pro ověření správnosti taxonomického zařazení filariodních nematod *Setaria* spp. je rovněž vhodné ověření morfologických popisů molekulárně-genetickými analýzami.

Ačkoli v České republice i ve většině evropských států nepatří hlístice rodu *Setaria* k významným parazitárním onemocněním, doporučuji brát je v úvahu v diferenciálních diagnózách ve veterinární medicíně v případě příznaků paralýzy nebo peritonitidy a to jak u přežvýkavé spárkaté zvěře, tak i u hospodářských zvířat. Vyloučena není přítomnost *Setaria* spp. ani u jiných obratlovců vyjma ryb.

Vzhledem k zoonotickému potenciálu hlístic rodu *Setaria* je vhodné používat v letním období repelentní přípravky a chránit svá obydlí okenními sítěmi. I v humánní medicíně považuji za vhodné brát v úvahu při určování diagnózy možnost setariózy v případě projevů konjunktivitidy, abscesů či zvětšení lymfatických uzlin, zejména je-li v anamnéze zmíněno vycestování do zahraničí, především do jižních oblastí a provést nejen běžné, ale i cílené parazitologické vyšetření a následně zvolit adekvátní terapii.

## 9. Seznam použité literatury

- Aguirre A, Brojer C, Morner T. 1999. Descriptive epidemiology of roe deer mortality in Sweden. *Journal of Wildlife Disease* **35**: 753-762.
- Alasaad S, Pascucci I, Jowers MJ, Soriguer RC, Zhu XQ, Rossi L. 2012. Phylogenetic study of *Setaria cervi* based on mitochondrial *cox1* gene sequences. *Parasitology Research* **110**: 281-285.
- Almeida AJ, Deobhankar KP, Bhopale MK, Zaman V, Renapurkar DM. 1991. Scanning electron mikroskopy of *Setaria cervi* adult male worms. *International Journal for Parasitology* **21**: 119-121.
- Anderson RC. 2000. Nematode parasites of vertebrates: their development and transmission. 2nd Ed. CABI Publishing, Wallingford.
- Angelone-Alasaad S, Jowers MJ, Panadero R, Perez-Creo A, Pajares G, Diez-Banos P, Soriguer RC, Morrondo P. 2016. First report of *Setaria tundra* in roe deer (*Capreolus capreolus*) from the Iberian Peninsula inferred from molecular data: epidemiological implications. *Parasites & Vectors* **9**: 521-525.
- Ansari JA. 1963. Studies on *Setaria cervi* (Nematoda: Filarioidea) Part I. Morphology of the microfilaria. *Zeitschrift für Parasitenkunde* **23**: 245-248.
- Anwar N, Ansari AA, Ghatak S, Murti CRK. 1977. *Setaria cervi*: Enzymes of glycolysis and PEP-succinate pathway. *Zeitschrift für Parasitenkunde* **51**: 275-283.
- Arya R, Tripathi LM, Srivastava VML. 2003. *Setaria cervi* hexokinase mRNA, complete cds. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/45239017> (accessed July 2003).
- Azari-Hamidian S, Norouzi B, Harbach RE. 2019. A detailed review of the mosquitoes (Diptera: Culicidae) of Iran and their medical and veterinary importance. *Acta Tropica* **194**:106-122.

- Bain O, Chabaud AG. 1986. Atlas des larves infestantes de filaires. *Tropical Medicine and Parasitology* **37**: 301-340.
- Bain O. 2002. Evolutionary relationships among filarial nematodes. In Klei TN and Rajan TV (eds). *The Filaria. World Class Parasites: Volume 5*. Springer, Boston, MA. DOI: 10.1007/0-306-47661-4\_3.
- Bain O, Babayan S. 2003. Behaviour of filariae: Morphological and anatomical signatures of their life style within the arthropod and vertebrate hosts. *Filaria Journal* **2**: 1-12.
- Bain O, Casiraghi M, Martin C, Uni S. 2008. The Nematoda Filarioidea: critical analysis linking molecular and traditional approaches. *Parasite* **15**: 342-348.
- Bakajika DK, Nigo MM, Lotsima JP, Masikini GA, Fischer K, Lloyd MM, Weil GJ, Fischer PU. 2014. Filarial Antigenemia and *Loa loa* Night Blood Microfilaremia in an Area Without Bancroftian Filariasis in the Democratic Republic of Congo. *The American Society of Tropical Medicine and Hygiene* **91**: 1142-1148.
- Baldacchino F, Muenworn V, Desquesnes M, Desoli F, Charoenviriyaphap T, Duvallet G. 2013. Transmission of pathogens by *Stomoxys* flies (Diptera, Muscidae): a review. *Parasite* **20**: 1-13.
- Bartlett CM. 2008. Filarioid nematodes. *Parasitic Diseases of Wild Birds*, Wiley-Blackwell. New Jersey.
- Baruš V. 1994. Revised checklist of filariids parasitizing in deer species (Cervidae) in the Czech Republic and the Slovak Republic. *Folia Venatoria* **24**: 69-75.
- Baylis HA. 1936. On the Nomenclature and Synonymy of the Nematode '*Setaria Labiatopapillosa*'. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* **30**: 293-298.
- Bazargani T, Esmaeli A, Gholami GR, Moulaei A, Ghafari CJ, Davoudi J, Ashrafi J. 2008. Cerebrospinal nematodiasis of cattle, sheep and goats in Iran. *Iranian Journal of Parasitology* **3**: 16-20.

- Becklund WW, Walker ML. 1969. Taxonomy, Hosts and Geographic Distributin of the *Setaria* (Nematoda; Filarioidea) in the United States and Canada. *The Journal of Parasitology* **55**: 359-368.
- Bednarski M, Piasecki T, Bednarska M, Soltysiak Z. 2010. Invasion of *Setaria tundra* in roe deer (*Capreolus capreolus*) - Case Report. *Medicina Veterinaria* **9**: 21-25.
- Behera DR, Bhatnagar S. 2017. Macrofilaricidal activity of leaf extracts of *Rauvolfia tetraphylla* L. against bovine filarial parasite *Setaria cervi*. *International Journal of Pharmacognosy and Phytochemical Research* **9**: 1217-1222.
- Behm CA, Bendig MM, MCCarter JP, Sluder AE. 2005. RNAi-based discovery andvalidation of new drug targets infilarial nematodes. *Trends in parasitology* **21**: 97-100.
- Beraldo P, Pesaro S, Benfatto M, Manente G, Rossi G. 2016. *Setaria tundra*, an emerging filarioid nematode in roe deer (*Capreolus capreolus*) in northeast Italy. Project: Wildlife disease in FVG. Conference XXIX SOIPA of University of Udine, Udine, Italy.
- Blažek K, Dyková I, Páv J. 1968. The occurence and pathogenicity of *Setaria cervi* Rud., in the central nervous system of deer. *Folia Parasitologica* **15**: 123-130.
- Boch J, Bauer Ch. 2006. *Veterinärmedizinische Parasitologie*. 6. Auflage. Parey in MVS Medizinverlage, Stuttgart.
- Bürger HJ, Eckert J, Kutzer E, Körting W, Rommel M. 2006. *Veterinärmedizinische Parasitologie*. 6. Auflage. Parey in MVS Medizinverlage, Stuttgart.
- Cancrini G., Pietrobelli M., Frangipane di Regalbono A, Tampieri MP, della Torre A. 1995. Development of *Dirofilaria* and *Setaria* nematodes in *Aedes albopictus*. *Parassitologia* **37**: 141-145.
- Cancrini G, Pietrobelli M, Frangipane di Regalbono A, Tampieri MP. 1997. Mosquitoes as vectors of *Setaria labiatopapillosa*. *International Journal of Parasitology* **27**: 1061-1064.

- Cancrini G, Kramer LH. 2001. Insect vectors of *Dirofilaria* spp. In: Simon F, Genchi C, editors. Heartworm infection in humans and animals. Universidad de Salamanca, Spain.
- Casiraghi M, Anderson TJC, Bandi C, Bazzocchi C, Genchi CA. 2001. Phylogenetic analysis of filarial nematodes: comparison with the phylogeny of *Wolbachia* endosymbionts. *Parasitology* **122**: 93-103.
- Crainey JL, da Silva TR, Encinas F, Marín MA, Vicente ACP, Luz SL. 2016. The mitogenome of *Onchocerca volvulus* from the Brazilian Amazonia focus. *Memórias do Instituto Oswaldo Cruz* **111**: 79-81.
- Czajka Ch, Becker N, Poppert S, Jöst H, Schmidt-Chanasit J, Krüger A. 2012. Molecular detection of *Setaria tundra* (Nematoda: Filarioidea) and an unidentified filarial species in mosquitoes in Germany. *Parasites & Vectors* **5**: 1-14.
- Čurlík J, Konjević D, Bujanić M, Sabol Ž, Martinković F, Sindičić M. 2019. The first description of *Setaria tundra* (Issaitshikoff & Rajewskaya, 1928) in roe deer from Croatia. *Helminthologia* **56**: 252-255.
- Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada, D. 2012. jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* **9**: 772.
- Davoodi J. 2014. Prevalence of setariosis in small and large ruminant in Miyaneh city, Northwest of Iran. *Scientific Journal of Veterinary Advances* **3**: 1-5.
- Dehkordi ZS, Heidari H, Halajian A. 2015. Case report of adult *Setaria digitata* in sheep, Hamedan province, Iran. *Comparative Clinical Pathology* **24**: 185-187.
- Demiaszkiewicz AW, Lachowicz J, Kabrowiak G. 2007. Wzrost zarażenia żubrów w Puszczy Białowieskiej nicieniami *Setaria labiatopapillosa*. *Wiadomości Parazytologiczne* **53**: 335-338.
- Demiaszkiewicz AW, Kuligowska I, Pyziel AM, Lachowicz J. 2015. First cases of nematode *Setaria tundra* invasion in elk in Poland. *Medycyna Weterynaryjna* **71**: 510-512.

- Durette-Desset MC (1966) Contribution à la systématique des Filaires du genre *Setaria*; valeur des diérides. Mémoires du Muséum national d'histoire naturelle: Zoologie. Éditions du Muséum. Paris, France.
- Enemark HL, Oksanen A, Chriel M, Harslund JF, Woolsey ID, Al-Sabi MNS. 2017. Detection and molecular characterization of the mosquito-borne filarial nematode *Setaria tundra* in Danish roe deer (*Capreolus capreolus*). International Journal of Parasitology: Parasites and Wildlife **6**: 16-21.
- Favia G, Cancrini G, Ferroglio E, Casiraghi M, Ricci I, Rossi L. 2003. Molecular assay for the identification of *Setaria tundra*. Veterinary Parasitology **117**: 139-145.
- Ferri E, Barbuto M, Bain O, Galimberti A, Uni S, Guerrero R, Ferté H, Bandi C, Martin C, Casiraghi M. 2009. Integrated taxonomy: traditional approach and DNA barcoding for the identification of filarioid worms and related parasites (Nematoda). Frontiers in Zoology **6**: 1-12.
- Fujii T, Hayashi T, Ishimoto A, Takahashi S, Asano H, Kato T. 1995. Prenatal infection with *Setaria marshalli* (Boulenger, 1921) in cattle. The Veterinary Parasitology **56**: 303-309.
- Gaipova ME, Akramova FD, Shakarbaev UA, Azimov DA, Saparov KA. 2018. New data on the biology and localisation of nematode *Setaria labiatopapillosa* (Alessandrini, 1838). European science review **7**: 6-10.
- Gao JF, Hou MR, Cui YC, Shi TR. 2019. The complete mitochondrial genome of *Setaria labiatopapillosa* (Spirurida: Setariidae), Mitochondrial DNA Part B, **4**: 1632-1633.
- Gawor JJ. 1995. The prevalence and abundance of internal parasites in working horses autopsied in Poland. Veterinary Parasitology **58**: 99-108.
- Genchi C, Rinaldi L, Mortarino M, Genchi M, Cringoli G. 2009. Climate and *Dirofilaria* infection in Europe. Veterinary Parasitology **163**: 286-292.

- Ghedin E, Wang S, Spiro D, Caler E, Zhao Q, Crabtree J, Allen JE, Delcher AL, Guiliano DB, Miranda-Saavedra D, Angiuoli SV, Creasy T, Amedeo P, Haas B, El-Sayed NM, Wortman JR, Feldblyum T, Tallon L, Schatz M, Shumway M, Koo H, Salzberg SL, Schobel S, Perteua M, Pop M, White O, Barton GJ, Carlow CKS, Crawford MJ, Daub J, Dimmic MW, Estes CF, Foster JM, Ganatra M, Gregory WF, Johnson NM, Jin J, Komuniecki R, Korf T, Kumar S, Laney S, Li BW, Li W, Lindblom TH, Lustigman S, Ma D, Maina CV, Martin DMA, McCarter JP, McReynolds L, Mitreva M, Nutman TB, Parkinson J, Peregrín-Alvarez JM, Poole C, Ren Q, Saunders L, Sluder AE, Smith K, Stanke M, Unnasch TR, Ware J, Wei AD, Weil G, Williams DJ, Zhang Y, Williams SA, Fraser-Liggett C, Slatko B, Blaxter ML, Scott AL. 2007. Draft Genome of the Filarial Nematode Parasite *Brugia malayi*. *Science* **317**: 1756-1760.
- Gibson D, Bray R, Hunt D, Georgiev B, Scholz T, Harris PD, Bakke TA, Pojmanska T, Niewiadomska K, Kostadinova A, Tkach V, Bain O, Durette-Desset, MC, Gibbons L, Moravec F, Petter A, Dimitrova ZM, Buchmann K, Valtonen ET, de Jong Y. 2014. Fauna Europaea: helminths (Animal Parasitic). *Biodiversity Data Journal* 2 (e1060) DOI: 10.3897/BDJ.2.e1060.
- Gibson D. 2017. Fauna Europaea: *Setaria*. Fauna Europaea, version 2017.06. Available from: <https://fauna-eu.org>. (Accessed 5 July 2020).
- Gilbert C, Ropiquet A, Hassanin A. 2006. Mitochondrial and nuclear phylogenies of Cervidae (Mammalia, Ruminantia): Systematics, morphology, and biogeography. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **40**: 101-117.
- Golovko V, Shchetinsky I. 2005. Some more precise data on clinical and pathomorphological characteristic of bovine stariosis. XIIth International Congress, Warsaw, Poland. *Animals and environment proceedings* **1**: 241-243
- Gortázar Ch, Ferroglio E, Höfle U, Frölich K, Vicente, J. 2007. Diseases shared between wildlife and livestock: A European perspective. *European Journal of Wildlife Research* **53**: 241.
- Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic acids symposium series* **41**: 95-98.





- Homolka M (1998) Moose (*Alces alces*) in the Czech Republic: Chances for survival in the man-made landscape. *Folia Zoologica Monographs* **1**: 1-46. Available from: [https://www.researchgate.net/publication/47094581\\_Moose\\_Alces\\_alces\\_in\\_the\\_Czech\\_Republic\\_Chances\\_for\\_survival\\_in\\_the\\_man-made\\_landscape](https://www.researchgate.net/publication/47094581_Moose_Alces_alces_in_the_Czech_Republic_Chances_for_survival_in_the_man-made_landscape).
- Honda T, Miyagawa Y, Kuwata H, Yamasaki S, Iijima H. 2014. Behavioral traits of damage-causing Sika deer: open land preference. *Mammal Study* **39**: 27-32.
- Hornok S, Genchi C, Bazzocchi C, Fok É, Farkas R. 2007. Prevalence of *Setaria equine* microfilaraemia in horses in Hungary. *Veterinary Record* **161**: 814-816.
- Hu M, Gasser RB, El-Osta YGA, Chilton NB. 2003. Structure and organization of the mitochondrial genome of the canine heartworm, *Dirofilaria immitis*. *Parasitology* **127**: 37-51.
- Husák F, Wolf R, Lochman J. 1986. Daněk-sika-jelenec. Státní zemědělské nakladatelství, Praha.
- Chandrasekharan NV, Karunanayake EH, Franzen L, Franzen A, Pettersson U. 1998. *Setaria digitata* actin gene, complete cds. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/AF079359.1> (accessed July 1998).
- Chroust K, Forejtek P. 2010a. Hlístice gastrointestinálního traktu spárkaté zvěře. *Myslivost*. Available from [https://www.myslivost.cz/Casopis-Myslivost/Myslivost/2010/Srpen---2010/Hlistice-traviciho-\(gastrointestinalniho\)-traktu-s](https://www.myslivost.cz/Casopis-Myslivost/Myslivost/2010/Srpen---2010/Hlistice-traviciho-(gastrointestinalniho)-traktu-s). (accessed August 2010).
- Chroust K, Forejtek P. 2010b. Parazitární choroby zvěře a jejich zdravotní význam. *Myslivost* **4**: 44.
- Innes JRM, Shoho C. 1952. Nematodes, nervous disease, and neurotropic virus infection: observations in animal pathology of probable significance in medical neurology. *British Medical Journal* **2**: 366-368.
- Jaenson TG. 1988. Diel activity patterns of blood-seeking anthropophilic mosquitoes in Central Sweden. *Medical and Veterinary Entomology* **2**: 177-187.

- Jaleta TG, Rödelsperger C, Abanda B, Eisenbarth A, Achukwi MD, Renz A, Streit A. 2018. Full mitochondrial and nuclear genome comparison confirms that *Onchocerca* sp. “Siisa” is *Onchocerca ochengi*. *Parasitology Research* **117**: 1069-1077.
- Järvis T. 1995. Helminthoses in the elk in Estonia. *Estonian Veterinary Review* **21**: 62- 64.
- Jayasena SM, Chandrasekharan NV, Karunanayake EH. 1999. Molecular characterisation of a *hsp70* gene from the filarial parasite *Setaria digitata*. *International Journal for Parasitology* **29**: 581-591.
- Joardar N, Mukherjee S, Babu SPS. 2018. Thioredoxin reductase from the bovine filarial parasite *Setaria cervi*: Studies on its localization and optimization of the extraction. *International Journal of Biological Macromolecules* **107**: 2375-2384.
- Katoh K, Toh H. 2008. Improved accuracy of multiple ncRNA alignment by incorporating structural information into a MAFFT – based framework. *BMC Bioinformatics* **9**: 1-13.
- Keddie EM, Higazi T, Unnasch TR. 1998. The mitochondrial genome of *Onchocerca volvulus*: Sequence, structure and phylogenetic analysis. *Molecular and Biochemical Parasitology* **95**: 111-127.
- Kemenesi G, Kurucz K, Kepner A, Dallos B, Oldal M, Herczeg R, Vajdovicz P, Bányai K, Jakab F. 2015. Circulation of *Dirofilaria repens*, *Setaria tundra*, and Onchocercidae species in Hungary during the period 2011-2013. *Veterinary Parasitology* **214**: 108- 113.
- Khedri J, Radfar MH, Borji H, Azizzadeh M. 2014. An Epidemiological Survey of *Setaria* in the Abdominal Cavities of Iranian Sistani and Brahman Cattle in the Southeastern of Iran. *Iranian Journal Parasitology* **9**: 249-253.

- Kikuchi T, Holroyd N, Berriman M. 2019. Complete mitochondrial genomes of 50 helminths species. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/AP017680.1; AP017686.1; AP017692.1; AP017693.1; AP017694.1; AP017695.1; AP017700.1; AP017705.1> (accessed 23 July 2019).
- Kim NS, Kim HC, Sim C, Ji JR, Kim NS, Park BK. 2010. Congenital infection with *Setaria digitata* and *Setaria marshalli* in the thoracic cavity of a Korean calf: a case report. *Veterinarni Medicina* **55**: 275-280.
- Korsholm H. 1988. Nematode Infections in Roe Deer and Cattle: Analysis of the Reservoir Host Problems. [Dissertation Thesis]. Royal Veterinary and Agricultural University, Copenhagen.
- Kotrlá B. 1984. The parasitoses of wild game animals. Academia, Prague.
- Kowal J, Kornas S, Nosal P, Basiaga M, Lesiak M. 2013. *Setaria tundra* in roe deer (*Capreolus capreolus*): new findings in Poland. *Annals of Parasitology* **59**: 179-182.
- Kroidl I, Chachage M, Mnkai J, Nsojo A, Berninghoff M, Verweij JJ, Maganga L, Ntinginya NE, Maboko L, Clowes P, Hoelscher M, Saathoff E, Geldmacher C. 2019. *Wuchereria bancrofti* infection is linked to systemic activation of CD4 and CD8 T cells. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **8** (e0007623) DOI: 10.1371/journal.pntd.0007623.
- Kronefeld M, Kampen H, Sassnau R, Werner, D. 2014. Molecular detection of *Dirofilaria immitis*, *Dirofilaria repens* and *Setaria tundra* in mosquitoes from Germany. *Parasites & vectors* **7**: 30.
- Kumar R, Yadav S, Tiwari S, Rathaur S. 2015. *Setaria cervi* phosphoglycerate kinase mRNA, partial cds. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nucleotide/924626153> (accessed March 2015).
- Kumar R, Kumar U. 2016. Ultrastructural studies on *Setaria digitata* by scanning electron microscopy. *Journal of Parasitic Diseases* **40**: 1199-1203.

- Kuligowska I, Demiaszkiewicz AW, Ruminski A. 2015. Průpadek nietypowej lokalizacji nicieni *Setaria tundra* u sarny (*Capreolus capreolus*). *Życie Weterynaryjne* **90**: 599-601.
- Laaksonen S, Kuusela J, Nylund M, Oksanen A. 2005. *Setaria tundra* NADH dehydrogenase subunit 4 and cytochrome c oxidase subunit I genes, partial cds; mitochondrial. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/68235686> (accessed Juni 2005).
- Laaksonen S, Kuusela J, Nikander S, Nylund M, Oksanen A. 2007. Outbreak of parasitic peritonitis in reindeer in Finland. *Veterinary Record* **160**: 835-841.
- Laaksonen S, Solismaa M, Orro T, Kuusela J, Saari S, Kortet R, Nikander S, Oksanen A, Sukura A. 2009a. *Setaria tundra* microfilariae in reindeer and other cervids in Finland. *Parasitology Research* **104**: 257-265.
- Laaksonen S, Solismaa M, Kortet R, Kuusela J, Oksanen A. 2009b. Vectors and transmission dynamics for *Setaria tundra* (Filaroidea; Onchocercidae), a parasite of reindeer in Finland. *Parasites & Vectors* **2**: 1-10.
- Laaksonen S. 2010. *Setaria tundra*, an emerging parasite of reindeer, and an outbreak it caused in Finland in 2003–2006 [Dissertation Thesis]. University of Helsinki.
- Lafferty KD. 2014. Biodiversity loss and infectious diseases. Verdad LM, Lyra-Jorge MC, Piña CI (eds) *Applied ecology and human dimensions in biological conservation*. Springer, Berlin Heidelberg.
- Lanková S, Langrová I, Jankovská I, Knížková I, Kunc P, Vadlejch J. 2018. Postup helmintologické pitvy a postmortální detekce helmintů vyskytujících se u domácích přežvýkavců v České republice. Certifikovaná metodika (NmetC), 10600, Česká zemědělská univerzita v Praze; Výzkumný ústav živočišné výroby, v.v.i. ISBN: 9788074032080.

- Lanková S, Vejl P, Melounová M, Langrová I. 2019. Interspecific Variability of Filarioid Nematodes of the Genus *Setaria* Viborg, 1795 Occurring in Wild Ruminants in Europe: A Review. *Scientia Agriculturae Bohemica* **50**: 29-39.
- Lanková S, Vejl P, Melounová M, Čilová D, Vadlejš J, Miklisová D, Jankovská I, Langrová I. 2021. *Setaria cervi* (Filarioidea, Onchocercidae) undressing in ungulates: altered morphology of developmental stages, their molecular detection and complete sequence *cox1* gene. *Parasitology* **148**: 598-611.
- Lefoulon E, Bain O, Bourret J, Junker K, Guerrero R, Canizales I, Kuzmin Y, Satoto, TB, Cardenas-Callirgos JM, de Souza Lima S, Raccurt C, Mutafchiev Y, Gavotte L, Martin C. 2015. Shaking the Tree: Multi-locus Sequence Typing Usurps Current Onchocercid (Filarial Nematode) Phylogeny. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 9 (e0004233) DOI: 10.1371/journal.pntd.0004233.
- Liang-Sheng Y. 1959. A Revision of the Nematode Genus *Setaria* Viborg, 1795, its Host-parasite Relationship, Speciation and Evolution. *Journal of Helminthology* **33**: 1-98.
- Liu GH, Gasser RB, Otranto D, Xu MJ, Shen JL, Mohandas N, Zhou DH, Zhu XQ. 2013. Mitochondrial Genome of the Eyeworm, *Thelazia callipaeda* (Nematoda: Spirurida), as the First Representative from the Family Thelaziidae. *PLoS Neglected Tropical Diseases* 7 (e2029) DOI: 10.1371/journal.pntd.0002029.
- Liu GH, Li JY, Zhu XQ. 2017. Characterization of the complete mitochondrial genome of *Setaria digitata* (Nematoda: Setariidae) from China. *Journal of Helminthology* **91**: 772-776.
- Lorenzen S, Muntau B, Schuldt K, Tannich E. 2016. Variations in the mitochondrial DNA sequence of clinical *Dirofilaria repens* samples. Available from [https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC\\_029975.1](https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/NC_029975.1) (accessed 27 April 2016).
- Macháček Z, Dvořák S, Ježek M, Zahradník D. 2014. Impact of interspecific relations between native red deer (*Cervus elaphus*) and introduced sika deer (*Cervus nippon*) on their rutting season in the Doupovské hory Mts. *Journal of Forest Science* **60**: 272- 280.

- Marzok MA, Desouky ARY. 2009. Ocular infection of donkeys (*Equus asinus*) with *Setaria equina*. *Tropical Animal Health and Production* **41**: 859-863.
- Matějů J, Chanová M, Modrý D, Mitková B, Hrazdilová K, Žampachová V, Kolářová L. 2016. *Dirofilaria repens*: emergence of autochthonous human infections in the Czech Republic. *BMC Infectious Diseases* **16**: 171.
- McNulty SN, Mullin AS, Vaughan JA, Tkach VV, Weil GJ, Fischer PU. 2012. Comparing the mitochondrial genomes of *Wolbachia*-dependent and independent filarial nematode species. *BMC Genomics* **13**: 145.
- Merdič E, Boca I. 2004. Season dynamics of the *Anopheles maculipennis* complex in Osijek, Croatia. *Journal of Vector Ecology* **29**: 257-263.
- Mirzaei M, Ghahvei Y, Lefoulon E, Lia RP, Otranto D, Martin C, Sazmand A. 2018. Morphological and molecular characterization of *Onchocerca fasciata* (Nematoda, Onchocercidae) from dromedary camels (*Camelus dromedarius*) in Iran. *Parasite* **25**: 1-10.
- Mohamed A, Ahmed Z. 1994. The occurrence of *Setaria equina* in donkeys eyes and their treatment. *Assiut Veterinary Medical Journal* **31**: 86-90.
- Mohan K, Ananda KJ, Shridhar NB, Puttalakshamma GC, D' Souza PE. 2009. Corneal opacity due to *Setaria digitata* in a jersey cross bred cow and its surgical management. *Veterinary World* **2**: 69-70.
- Mohanty MC, Sahoo PK, Satapathy AK, Ravindran B. 2000. *Setaria digitata* infections in cattle: parasite load, microfilaraemia status and relationship to immune response. *Journal of helminthology* **74**: 343-347.
- Morales - Hojas R. 2009. Molecular systematics of filarial parasites, with an emphasis on groups of medical and veterinary importance, and its relevance for epidemiology. *Infection. Genetics and Evolution* **9**: 748-759.
- Mráčková M. 2015. Tiplicí a jejich patogeny. [MSc. Thesis]. Univerzita Karlova v Praze. Přírodovědecká fakulta, Praha.

- Mrifag R, Lemrabott MA, El Kharrim K, Belghyti D, Basco LK. 2020. *Setaria labiatopapillosa* (Filarioidea, Nematoda) in Moroccan cattle: atypical localization and morphological characterization of females and microfilariae by light and scanning electron microscopy. *Parasitology Research*, 1-8. DOI: 10.1007/s00436-020-06966-z.
- Mukherjee S, Mukherjee S, Bhattacharya S, Sinha Babu SP. 2017. Surface proteins of *Setaria cervi* induce inflammation in macrophage through Toll-like receptor 4 (TLR 4)-mediated signalling pathway. *Parasite Immunology*. e12389. DOI: 10.1111/pim.12389.
- Murugananthan A, Karunanayake EH, Tennekoon KH. 2009. *Setaria digitata* alkali myosin light chain (*MLC-3*) gene, complete cds. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/251762814> (accessed May 2009).
- Nabie R, Spotin A, Rouhani S. 2017. Subconjunctival setariasis due to *Setaria equina* infection; a case report and a literature review. *Parasitology International* **66**: 930-932.
- Nakano H, Tozuka M, Ikadai H, Ishida H, Goto R, Kudo N, Katayama Y, Muranaka M, Anzai T, Oyamada T. 2007. Morphological Survey of Bovine *Setaria* in the Abdominal Cavities of Cattle in Aomori and Kumamoto Prefectures, Japan. *Journal of Veterinary Medical Science* **69**: 413-415.
- Nayak A, Gayen P, Saini P, Maitra S, Sinha Babu SP. 2011. Albendazole induces apoptosis in adults and microfilariae of *Setaria cervi*. *Experimental Parasitology* **128**: 236-242.
- Nayak A, Gayen P, Saini P, Mukherjee N, Sinha Babu SP. 2012. Molecular evidence of curcumin-induced apoptosis in the filarial worm *Setaria cervi*. *Parasitology Research* **111**: 1173-1186.
- National Center for Biotechnology Information (NCBI). 2019. Taxonomy Browser. *Setaria* spp. Full Lineage. Available from: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?mode=Tree&id=48796&lvl=3&lin=f&keep=1&srchmode=1&unlock>. (accessed April 2019).



- Nechybová S, Vejl P, Hart V, Melounová M., Čílová D, Vašek J, Jankovská I, Vadlejch J, Langrová, I. 2018. Long-term occurrence of *Trichuris* species in wild ruminants in the Czech Republic. *Parasitology Research* **117**: 1699-1708.
- Nei M, Kumar S. 2000. Molecular evolution and phylogenetics. Oxford University, New York.
- Nelson G. 1962. Observations on the development of *Setaria labiatopapillosa* using new techniques for infecting *Aedes aegypti* with this nematode. *Journal of Helminthology* **36**: 281-296.
- Nelson GS. 1966. The pathology of Filarial Infections. *Helminthological Abstract* **35**: 311-336.
- Nikander S, Laaksonen S, Saari S, Oksanen A. 2007. The morphology of the filaroid nematode *Setaria tundra*, the cause of peritonitis in reindeer *Rangifer tarandus*. *Journal of Helminthology* **81**: 49-55.
- Oge S, Oge H, Yildirim A, Kircali F. 2003. *Setaria equina* infection of Turkish equines: estimates of prevalence based on necropsy and the detection of microfilaraemia. *Annals of Tropical Medicine & Parasitology* **97**: 403-409.
- Okulewicz A. 2017. The impact of global climate change on the spread of parasitic nematodes. *Annals of Parasitology* **63**: 15-20.
- Oloś G, Nowakowska J, Rojewska S, Welc-Falęciak R. 2019. New findings of *Setaria tundra* and *Setaria cervi* in the red deer (*Cervus elaphus*) in Poland. *Parasitology* **146**: 1-5.
- Osipov AN. 1966. Life-cycle of *Setaria altaica* Raevskaya, 1928, a parasite of deer. *Doklady Akademii nauk SSSR* **168**: 247-248.
- Paily KP, Hoti SL, Balaraman K. 2006. Development of Lymphatic Filarial Parasite *Wuchereria bancrofti* (Spirurida: Onchocercidae) in Mosquito Species (Diptera: Culicidae) Fed Artificially on Microfilaremic Blood. *Journal of Medical Entomology* **43**: 1222-1226.

- Panaitescu D, Preda A, Bain O, Vasile-Bugarin AC. 1999. Four cases of human filariasis due to *Setaria labiatopapillosa* found in Bucharest, Romania. Roumanian Archives of Microbiology and Immunology **58**: 203-207.
- Perumal ANI, Gunawardene YINS, Dassanayake RS. 2015. *Setaria digitata* in advancing our knowledge of human lymphatic filariasis. Journal of Helminthology **90**: 1-10.
- Pietrobelli M, Regalbono F, Segato L, Tampieri MP. 1995. Bovine setariasis in Friuli Venezia Giulia. Parassitologia **37**: 69-74.
- Ponçon N, Toty C, L'ambert G, le Goff G, Brengues C, Schaffner F, Fontenille D. 2007. Population dynamics of pest mosquitoes and potential malaria and West Nile virus vectors in relation to climatic factors and human activities in the Camargue, France. Medical and Veterinary Entomology **21**: 350-357.
- Poulin R, Morand S. 2000. The diversity of parasites. The quarterly review of biology **75**: 277-293.
- Purvis GB. 1931. *Setaria labiatopapillosa* (Alessandrini, 1838) or *Setaria digitata* (von Linstow, 1906). Veterinary Record **11**: 528-529.
- Rajský D. 2010. Nenápadné parazity. Poľovníctvo & rybárstvo. Available from: <https://www.pluska.sk/polovnictvo-rybarstvo/polovnik/polovnicka-prax/lov/2010/nenapadne-parazity.html>. (accessed Januar 2011).
- Rajský D. 2015. Setarióza jeleňovitých. Vojenské lesy **9**: 13.
- Ramesh A, Small ST, Kloos ZA, Kazura JW, Nutman TB, Serre D, Zimmerman PA. 2012. The complete mitochondrial genome sequence of the filarial nematode *Wuchereria bancrofti* from three geographic isolates provides evidence of complex demographic history. Molecular and Biochemical Parasitology **183**: 32-41.
- Rathaur R, Rai R, Srikanth E, Srivastava S. 2009. *Setaria cervi* dual specific phosphatase: characterization and its effect on eosinophil degranulation. Parasitology **136**: 895-904.

- Rao KSP. 1941. Worm in the anterior chamber of the eye of a bullock. *Indian Veterinary Journal* **18**: 35.
- Regnier A, Martin C, Semin MO, Lienard E, Gefree A, Douet JY, Raymond - Letron I. 2019. Subconjunctival nodule due to *Setaria equina* erratic migration in a horse: First case report. *Veterinary Ophthalmology* **6**: 921-927.
- Rehbein S, Visser M. 2007. Die Endoparasiten des Sika wildes (*Cervus nippon*) in Österreich. *Wiener Klinische Wochenschrift* **119**: 96-101.
- Rehbein S, Visser M, Jekel I, Silaghi C. 2014. Endoparasites of the fallow deer (*Dama dama*) of the Antheringer Au in Salzburg, Austria. *Wiener Klinische Wochenschrift* **126**: 37-41.
- Richter S. 1959. Parasitic fauna of roe deer (*Capreolus capreolus L.*) in P. R. Croatia. *Veterinary Archiv* **29**: 34-45.
- Rodrigo WW, Dassanayake RS, Weerasena SJ, Silva Gunawardene YI. 2014. Novel parasitic nematode-specific protein of bovine filarial parasite *Setaria digitata* displays conserved gene structure and ubiquitous expression. *Tropical Biomedicine* **31**: 514-524.
- Rommel M, Eckert J, Kutzer E, Körting W., Schnieder T. 2000. *Veterinärmedizinische Parasitologie*. Parey Buchverlag, Berlin.
- Roy P, Sengupta A, Joardar N, Bhattacharyya A, Saha NC, Misra AK, Babu SPS. 2019. Influence of autophagy, apoptosis and their interplay in filaricidal activity of C- innamoyl glycosides. *Parasitology* **1**: 1-11.
- Rozas J, Ferrer-Mata A, Sánchez-DelBarrio JC, Guirao-Rico S, Librado P, Ramos-Onsins SE, Sánchez-Gracia A. 2017. DnaSP 6: DNA sequence polymorphism analysis of large data sets. *Molecular Biology and Evolution* **34**: 3299-3302.

- Rozen S, Skaletsky H. 2000. Primer3 on the WWW for General Users and for Biologist Programmers. In: Misener S, Krawetz SA (eds) Bioinformatics Methods and Protocols. Methods in Molecular Biology™ 132. Humana Press, Totowa, NJ. DOI: 10.1385/1-59259-192-2:365.
- Sallés CJ, Garner MM. 2019. Avian Spirurids. *Fowler's Zoo and Wild Animal Medicine Current Therapy* **9**: 471-480.
- Sanchez-Godoy FD, Juarez-Murguia A, Hernandez-Castro R, Xicohtencatl-Cortes J, Martinez-Hernandez F, Hernandez-Velasco X. 2020. Characterization of aortic and brachiocephalic filariasis by *Filarioidea* sp (Nematoda: Spirurida: Filarioidea) in Mexican ramphastids. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* **11**: 282-286.
- Sasisekhar B, Suba N, Sindhuja S, Sofi GM, Narayanan RB. 2005. *Setaria digitata*: identification and characterization of a hypodermally expressed SXP/RAL2 protein. *Experimental Parasitology* **111**: 121-125.
- Schuster RK, Wibbelt G, Maio E, Wernery U, Sivakumar S. 2019. Diaplacental infection of a bactrian camel (*Camelus bactrianus*) with the filarial worm *Dipetalonema evansi*: a case report. *Journal of Camel Practice and Research* **26**:231-235.
- Schwangart F. 1940. Über die endemische Parese des Rotwildes und Tuberkulose beim Reh. *Die Berliner und Münchener Tierärztliche Wochenschrift* **6**: 61-66.
- Sharma SP, Siddiqui AA, Kumar M. 1998. Pathological changes in experimental *Setaria* infection in lambs. *Indian Veterinary Journal* **17**:23-28.
- Shin SS, Cho KO, Wee SH. 2002. Ocular Infection of Cattle with *Setaria digitata*. *Journal of Veterinary Medical Science* **64**: 7-10.
- Shoho C, Uni S. 1977. Scanning electron microscopy (SEM) of some *Setaria* species (Filarioidea, Nematoda). *Zeitschrift für Parasitenkunde* **53**: 93-104.
- Shol' VA, Drobishchenko NI. (1973): Development of *Setaria cervi* (Rudolphi, 1819) in *Cervus elaphus maral*. *Helminthologia* **14**: 214-246.

- Sigraskar SU, Chouduri PC, Singhari NA. 1999. Bubaline microfilariasis: epizootiological studies. *Buffalo Bulletin* **18**: 64-66.
- Singh A, Rathaur S. 2010. Combination of DEC plus aspirin induced mitochondrial mediated apoptosis in filarial parasite *Setaria cervi*. *Biochimie* **92**: 894-900.
- Singh H, Singh NK, Singh ND, Jyoti, Rath SS. 2013. Occurrence of *Setaria labiatopapillosa* in peritoneal cavity of a crossbred cattle. *Journal of Parasitic Diseases* **39**: 152-154.
- Singh ST, Malhotra P, Singla LD. 2014. Fatal natural infection with microfilariae of *Setaria* species in a cattle bull. *Progressive Research* **9**: 355-356.
- Singla LD, Moudgil AD, Sood NK, Deshmukh S, Turkar S, Uppal SK. 2014. A unique case report on *Setaria* species microfilariasis in adult cattle in Punjab (India). *International Scientific Journal* **1**:1-3
- Small ST, Labbé, F, Coulibaly YI, Nutman TB, King CL, Serre D, Zimmerman PA. 2019. Human Migration and the Spread of the Nematode Parasite *Wuchereria bancrofti*. *Molecular Biology and Evolution* **36**: 1931-1941.
- Sommerville RI. 1960. The growth of *Cooperia curticei* (Giles, 1892), a nematode parasite of sheep. *Parasitology* **50**: 261-267.
- Sonin MD (1977) Filariata of animals and man and the diseases caused by them. In Ryzhikov, KM (ed). Pages 1-129 in *Osnovy Nematodologii*, Nauka, Vol 28. Moscow, Russia.
- Sotiraky ST, Badouvas AG, Himonas CA. 1997. A survey on the prevalence of internal parasites of equines in Macedonia and Thessalia – Greece. *Journal of Equine Veterinary Science* **17**: 550-552.
- Soulsby EJJ. 1982. *Helminths, Arthropods and Protozoa of Domesticated Animals*. 7th Ed. Baillière Tindall, London.

- StatSoft<sup>®</sup>, Inc. (2013) Software Statistica 12. Available from <http://www.statsoft.cz/> (accessed November 2020).
- Strait K, Else JG, Eberhard ML. 2012. Parasitic Diseases of Nonhuman Primates. *Nonhuman Primates in Biomedical Research*. 197-297.
- Subhachalat P, Adachi Y. 1997. Classification of *Setaria* worms from calves and adult cattle into *Setaria digitata* and *Setaria marshalli* by polyacrylamide gel electrophoresis. *Zentralblatt für Bacteriologie* **286**: 527-533.
- Sundar STB, D'Souza PE. 2015. Morphological Characterization of *Setaria* worms collected from cattle. *Journal of Parasitic Diseases* **39**: 572-576.
- Šebesta O, Gelbič I, Peško J. 2011. Daily and seasonal variation in the activity of potential vector mosquitoes. *Central European Journal of Biology* **6**:422-430.
- Takesue M, Osaka Y, Ikadai H. 2015. *Setaria digitata* IFP gene for intermediate filament protein, partial cds. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/973412654> (accessed July 2015).
- Țălu S, Ștefănuț A, Mihalca A, Coroiu Z. 2012. Subconjunctival infestation with *Setaria*. *Helminthologia* **49**: 119-121
- Taylor MJ, Hoerauf A, Bockarie M. 2010. Lymphatic filariasis and onchocerciasis. *The Lancet* **376**: 1175-1185.
- Taylor MA, Coop RL, Wall RL. 2015. *Veterinary Parasitology*. 4th Edition. John Wiley & Sons, Chichester, England.
- Thirumurthy CC, Senthilvel K, Pillai KM. 1995. *Setaria digitata* in bullock's urine. *Journal of Veterinary and Animal Science*. **26**:72.
- Tomczuk K, Szczepaniak K, Grzybek M, Studzińska M, Demkowska-Kutrzepa M, Roczeń-Karczmarz M, Łopuszyński W, Junkuszew A, Gruszecki T, Dudko P, Bojar W. 2017. Internal parasites in roe deer of the Lubartów Forest Division in postmortem studies. *Medycyna Weterynaryjna* **73**: 726-730.

- Tung KCh, Lai ChH, Ooi HK, Yang ChH, Wang JS. 2003. Cerebrospinal setariosis with *Setaria marshalli* and *Setaria digitata* infection in cattle. *The Journal of Veterinary Medical Science* **65**: 977-983.
- Urquhart GM, Armour J, Duncan JL, Dunn AM, Jennings FW. 1987. *Veterinary Parasitology*. Longman, Harlow, United Kingdom.
- Verma P, Singh T, Mohindroo J, Raghunath M, Singh SS, Singh H. 2016. Ocular setariosis in a cow and its surgical management. *Veterinary Practitioner* **17**:93-95.
- Volf P, Horák P, Čepička I, Flegr J, Lukeš J, Mikeš L, Svobodová M, Vávra J, Votýpka J. 2007. *Paraziti a jejich biologie*. Triton, Praha.
- Wajihullah J, Ansari JA (1981): Larval development of *Setaria cervi* in the mosquito, *Aedes aegypti*. *Helminthologia* **18**: 267-271.
- Watermeyer R, Putterill JF, Boomker J, Kuzmin Y, Junker K, Putterill JF, Boomker J. 2013. Redescription of *Setaria graberi* Shoho in Troncy, Graber & Thal, 1976 (Nematoda: Filarioidea) based on specimens from *Redunca arundinum* (Bovidae) in South Africa. *Parasite* **20**: 1-8.
- Wee SH, Jang H, Joo HD, Kang YB, Lee CG. 1996. *Setaria marshalli* infection in neonatal calves. *The Korean Journal Parasitology* **34**: 207-210.
- Wijesundera WSS, Chandrasekharan NV, Karunanayake EH, Dharmasena SP. 1996. Development of a diagnostic DNA probe to detect *Setaria digitata*: the causative parasite of cerebrospinal nematodiasis in goats, sheep and horses. *British Veterinary Journal* **152**: 561-571.
- Williams HE. 1955. Studies on the bovine filariid *Setaria cervi* (Rudolphi, 1819). *Parasitology* **45**: 56-62.
- Wilson PAG. 1976. Nematode growth patterns and the moulting cycle: The population growth profile. *Journal of Zoology* **179**: 135-151.

- Winkelmayer R, Lebersorger P, Zedka HF, Forejtek P, Vodňanský M, Večerek V, Malena M, Nagy J. 2005. Hygiena zvěřiny: Příručka pro mysliveckou praxi. 1st Ed. Středoevropský institut ekologie zvěře Wien-Brno-Nitra. Institut ekologie zvěře Veterinární a farmaceutické univerzity, Brno.
- World Health Organization. 2012. Lymphatic filariasis fact sheet No. 102. Available from <http://www.who.int/mediacentre/factsheets/fs102/en/> (accessed May 2012).
- World Health Organization. 2014. Global programme to eliminate lymphatic filariasis: progress report. Weekly Epidemiological Record = Relevé épidémiologique hebdomadaire **90**: 489-504.
- Yadav SS, Singh VK, Liebau E, Rathaur S. 2012a. *Setaria cervi* histone H2B mRNA, partial cds. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/384597843> (accessed Januar 2012).
- Yadav SS, Singh VK, Liebau E, Rathaur S. 2012b. *Setaria cervi* galectin mRNA, partial cds. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/384597845> (accessed Januar 2012).
- Yadav, SS, Singh VK, Liebau E, Rathaur S. 2012c. *Setaria cervi* acid phosphatase mRNA, partial cds. Available from <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/nuccore/375333350> (accessed October 2011).
- Yadav SS, Srikanth E, Singh N, Rathaur S. 2013. Identification of GR and TrxR systems in *Setaria cervi*: Purification and characterization of glutathione reductase. Parasitology International **62**: 193-198.
- Yatawara L, Wickramasinghe S, Nagataki M, Rajapakse RP, Agatsuma T. 2007. Molecular characterization and phylogenetic analysis of *Setaria digitata* of Sri Lanka based on CO1 and 12S rDNA genes. Veterinary Parasitology **148**: 161-165.



- Yatawara L, Wickramasinghe S, Rajapakse RP, Agatsuma T. 2010. The complete mitochondrial genome of *Setaria digitata* (Nematoda: Filarioidea): mitochondrial gene content, arrangement and composition compared with other nematodes. *Molecular and biochemical parasitology* **173**: 32-38.
- Yeh LS. 1959. A revision of the genus *Setaria* Viborg, 1795, its host-parasite relationship, speciation and evolution. *Journal of Helminthology* **23**: 1-98.
- Yilmaz E, Fritzenwanker M, Pantchev N, Lendner M, Wongkamchai S, Otranto D, Kroidl I, Dennebaum M, Hoa Le T, Anh Le T, Ramünke S, Schaper R, von Samson-Himmelstjerna G, Poppert S, Krücken J. 2016. The mitochondrial genomes of the zoonotic canine filarial parasites *Dirofilaria (Nochtiella) repens* and *Candidatus Dirofilaria (Nochtiella) honkongensis* provide evidence for presence of cryptic species. *PLoS Neglected Tropical Diseases* **14** (e0005028) DOI: 10.1371/journal.pntd.0005028.
- Zbořil, J. 2017. Myslivecká statistika za rok 2016. Available from: <http://myslivost.cz/Pro-myslivce/Aktuality/Myslivecka-statistika-za-rok-2016> (accessed September 2017).
- Zhang X, Shi YL, Wang ZQ, Duan JY, Jiang P, Liu RD, Cui J. 2017. Morphological and mitochondrial genomic characterization of eyeworms (*Thelazia callipaeda*) from clinical cases in central China. *Frontiers in Microbiology* **8**: 1335.
- Zittra C, Kocziha Z, Pinnyei S, Harl J, Kieser K, Laciny A, Eigner B, Silbermayr K, Duscher GG, Fok E, Fuehrer HP. 2015. Screening blood-fed mosquitoes for the diagnosis of filarioid helminths and avian malaria. *Parasites & Vectors* **8**: 16.
- Žďárská Z, Scholl VA. 1978. Scanning electron microscopy of *Setaria labiatopapillosa* (Alessandrini, 1848) from cattle of Kazakhstan. *Folia Parasitologica* **25**: 137-140.

## 10. Seznam obrázků a tabulek

### Obrázky

Obrázek 1: Vajíčka *S. cervi*

Obrázek 2: Peribukální koruna *Setaria* spp. frontální pohled

Obrázek 3: Peribukální koruna *Setaria* spp. laterální pohled

Obrázek 4: „Knoflíkovitá“ struktura na kaudálním zakončení samice *Setaria* spp.

Obrázek 5: Papily na kaudálním zakončení samce *Setaria* spp.

Obrázek 6: SEM foto - frontální pohled - peribukální koruna *S. cervi*

Obrázek 7: SEM foto - kaudální zakončení samice *S. cervi*

Obrázek 8: LM foto - cefalické zakončení *S. cervi*

Obrázek 9: LM foto - kaudální zakončení samice *S. cervi*

Obrázek 10: LM foto - kaudální zakončení samce *S. tundra*

Obrázek 11: SEM foto - frontální pohled *S. tundra*

Obrázek 12: SEM foto - kaudální zakončení samice *S. tundra*

Obrázek 13: SEM foto - kaudální zakončení samce *S. tundra*

Obrázek 14: LM foto - cefalické zakončení *S. tundra*

Obrázek 15: LM foto - kaudální zakončení samice *S. tundra*

Obrázek 16: LM foto - kaudální zakončení samce *S. tundra*

Obrázek 17: SEM foto - peribukální koruna *S. labiatopapillosa*

Obrázek 18: SEM foto - kaudální zakončení samice *S. labiatopapillosa*

Obrázek 19: SEM foto - kaudální zakončení samce *S. labiatopapillosa*

Obrázek 20: LM foto - cefalické zakončení *S. labiatopapillosa*

Obrázek 21: LM foto - kaudální zakončení samice *S. labiatopapillosa*

Obrázek 22: LM foto - kaudální zakončení samce *S. labiatopapillosa*

Obrázek 23: Mapa honiteb, odkud byl získán materiál k helmintologické pitvě

Obrázek 24, 25: Vajíčko a mikrofilárie získané z adutních samic *S. cervi*

Obrázek 26: SEM foto - cefalická část včetně struktury peribukální koruny *S. cervi*

Obrázek 27: LM foto - laterální pohled na cefalickou část *S. cervi*

Obrázek 28: SEM foto - struktura peribukální koruny u stádia L4 samice *S. cervi*

Obrázek 29: LM foto - struktura peribukální koruny u samice stádia L4 *S. cervi*

Obrázek 30, 31, 32: SEM foto - kaudální zakončení u samice stádia L4 *S. cervi*

Obrázek 33, 34: SEM foto - vývoj kaudálního zakončení juvenilní samice L5 *S. cervi*

Obrázek 35: SEM foto - plně vyvinuté kaudální zakončení adultní samice *S. cervi*  
Obrázek 36: LM foto - plně vyvinuté kaudální zakončení adultní samice *S. cervi*  
Obrázek 37: SEM foto - kaudální zakončení těla samce *S. cervi*  
Obrázek 38: LM foto - kaudální zakončení těla samce *S. cervi*  
Obrázek 39: SEM foto - příčné pruhování na ventrální straně těla samce *S. cervi*  
Obrázek 40: SEM foto - příčné pruhování na ventrální straně těla samce *S. cervi*  
Obrázek 41: Molekulární fylogenetická analýza čeledi Onchocercidae

## **Tabulky**

Tabulka 1: Známé druhy rodu *Setaria* (Nematoda: Filarioidea) s kosmopolitním výskytem u obratlovců  
Tabulka 2: Seznam vzorků, hostitelů a lokalit  
Tabulka 3: Sekvence genu *cox1* použité pro haplotypové a fylogenetické analýzy  
Tabulka 4: Kvantitativní údaje o výskytu *S. cervi* u hostitelů, včetně informací o pohlaví a vývojových stádiích  
Tabulka 5: Komplexní charakteristiky vzorků *S. cervi* s ohledem na pohlaví, vývojová stádia, morfologii a hostitele  
Tabulka 6: Morfologický klíč pro determinaci *Setaria* spp. s prokázaným výskytem v Evropě  
Tabulka 7: Popisná statistika pro parametr délky těla sledovaných vzorků *S. cervi*  
Tabulka 8: Popisná statistika pro parametry šířky těla sledovaných vzorků *S. cervi*  
Tabulka 9: Výsledky testování homogenity rozptylu pro délku samic  
Tabulka 10: Výsledky testování homogenity rozptylu pro šířku samic  
Tabulka 11: Porovnání středních hodnot (délka těla)  
Tabulka 12: Test mnohonásobných porovnání (tělesné délky vývojových stádií samic)  
Tabulka 13: Porovnání středních hodnot (šířka těla)  
Tabulka 14: Test mnohonásobných porovnání (tělesné šířky vývojových stádií samic)

## **Grafy**

Graf 1: Normální pravděpodobnostní graf (délka těla) samice L4

Graf 2: Normální pravděpodobnostní graf (délka těla) samice L5

Graf 3: Normální pravděpodobnostní graf (délka těla) adultní samice

Graf 4: Normální pravděpodobnostní graf (šířka těla) samice L4

Graf 5: Normální pravděpodobnostní graf (šířka těla) samice L5

Graf 6: Normální pravděpodobnostní graf (šířka těla) adultní samice

Graf 7: Porovnání průměrných hodnot délky dle vývojového stádia samic

Graf 8: Porovnání průměrných hodnot šířky dle vývojového stádia samic

