

Biologie parazitických helmintů

(Bi7874)

2015

RNDr. Martin Kašný, Ph.D.

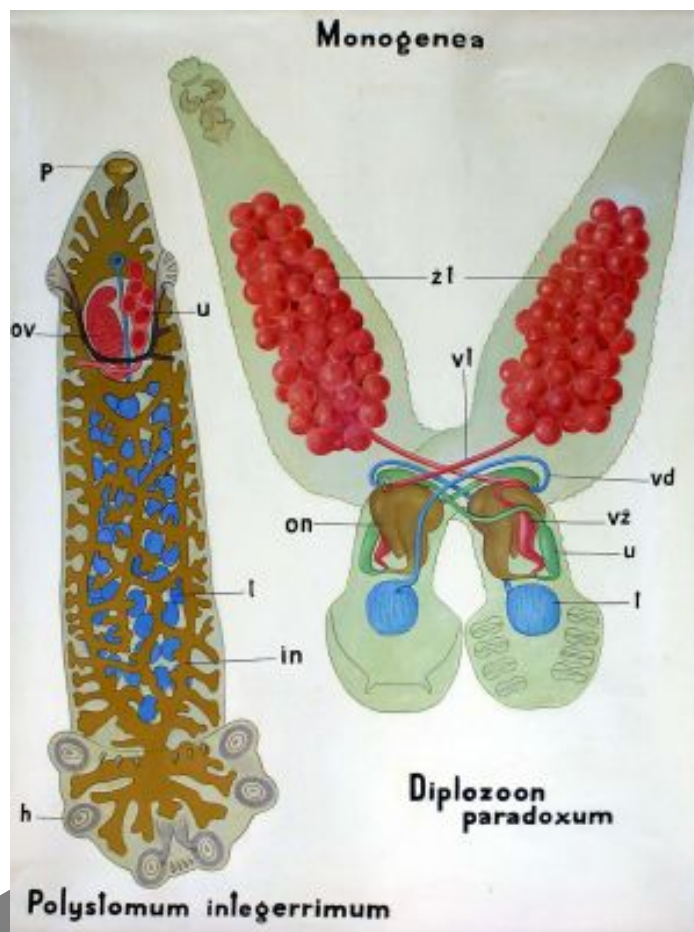
kasa@post.cz

většina obrázků obsahuje hyperlink – kliknutím spustíte internetový zdroj
presented pictures are mostly hyperlinked – after clicking you can see the original source



MONOGENEA (ŽÁBROHLÍSTI)

3

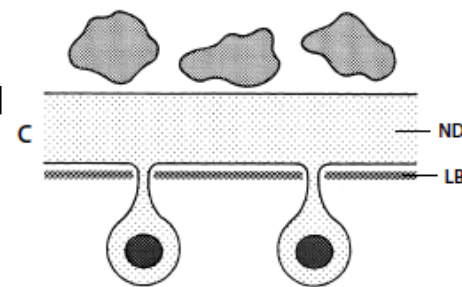
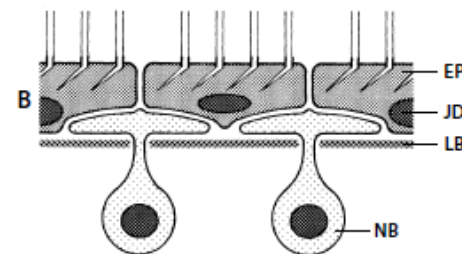
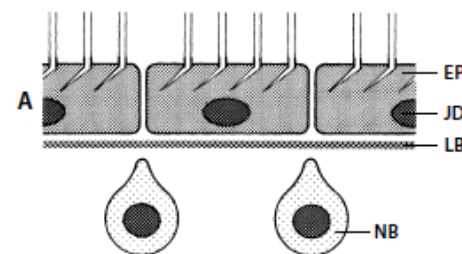


MONOGENEA (ŽÁBROHLÍSTI, JEDNORODÍ)

- **JEDNORODÍ** - původně se třída Trematoda dělila do dvou podtříd Monogenea (jednorodí – jeden hostitel) a Digenea (dvourodí – 2+ hostitelé)
- **NEODERMATA** (NEODERMIS)- taxon, který slučuje většinu parazitických skupin platyhelmintů tedy **Monogenea, Trematoda a Cestoda**.

- změna povrchu při přeměně první larvy na následující (parazitické) stádium

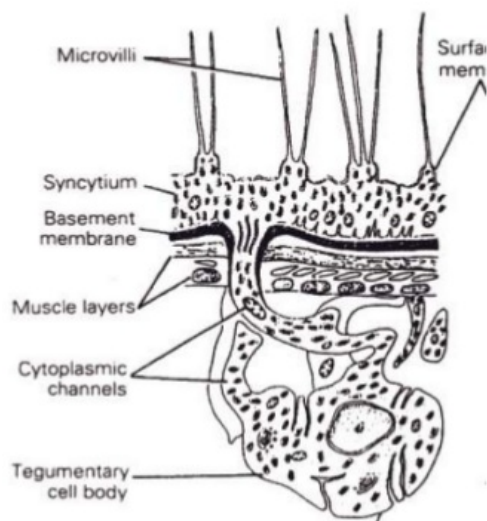
- larvy prvního stadia mají heterogenní povrch, který je ve většinou částečně pokryt ciliárními buňkami - pohyb. Tyto buňky jsou při přeměně na další ontogenetické stádium odhazovány a zbývající část povrchu expanduje a vytváří aciliární povrchové syncytium (neodermis, tegument) přítomné ve všech následujících stádiích



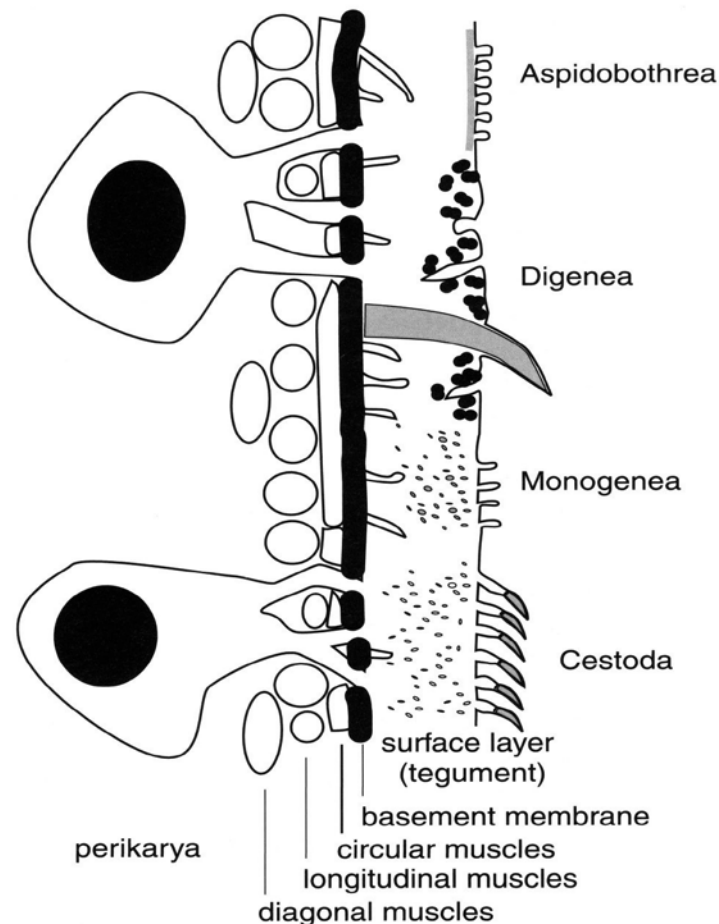
MONOGENEA (ŽÁBROHLÍSTI, JEDNORODÍ)

- tegument s mikrovily

SURFACE MORPHOLOGY OF MONOGENEAN

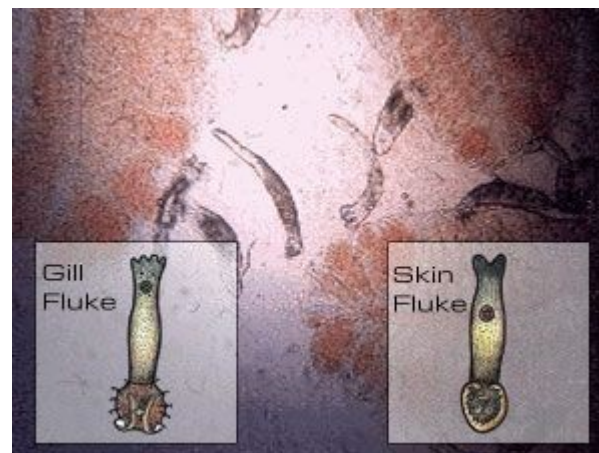


These microvilli may function to spread and mix secretions of the different types of head glands.



MONOGENEA (ŽÁBROHLÍSTI, JEDNORODÍ)

- nejvýznamnější skupina parazitických helmintů v akvakulturách
- vysoká reprodukční schopnost - viviparie
- zdroj sekundárních infekcí – viry, bakterie a houby



MONOGENEA (ŽÁBROHLÍSTI, JEDNORODÍ)

- malých rozměrů (0,03–20 mm)
- kosmopolitně rozšířená skupina - asi 5000 známých druhů, (V Česku a na Slovensku je evidováno skoro 200 druhů)
 - polární kruh až aridní oblasti
- místo parazitace
 - **Ektoparaziti** - hlavně sladkovodní a mořské ryby (patogeny např. *Gyrodactylus salaris*) někdy paryby, obojživelníky, plazi (želvy) a savci (*Oculotrema hippopotami* – spojivkový vak hrochů), výjimečně bezobratlí (korýši, hlavonožci)
 - 95% monogeneí parazituje na kůži nebo žábrech (až 95 %)
 - **Endoparaziti** (málo druhů)
- Vyznačují se poměrně vysokou specifitou k druhu hostitele i orgánové lokalizaci => koevoluční a ekologické studie



SYSTÉM

- říše Animalia - živočichové » kmen Platyhelminthes - ploštěnci » podkmen Neodermata
- V současnosti se vedou diskuse o monofylii či parafylii taxonu Monogenea; nejnovější molekulární analýzy podporují spíše monofylii

Klasifikace uvnitř této třídy je doposud nejednotná. Někteří autoři dělí tuto skupinu parazitů na podtřídu **Monopisthocotylea** Odhner, 1912 a **Polyopisthocotylea** Odhner, 1912 (Buchman et Bresciani, 2006), jiní na podtřídu **Polyonchoinea** (= Monopisthocotylea) a **Heteronchoinea** (= Polyopisthocotylea) (Boeger et Kritsky, 2001). Toto členění se používá podle toho, zda se jako determinační znak podtřídy bere v úvahu přichytný aparát larválního stádia (Polyonchoinea a Oligonchoinea) nebo morfologie přichytných orgánů dospělců (Monopisthocotylea a Polyopisthocotylea) (Justine, 1998).

Mono – jeden kompaktní opisthaptor

Poly – členitý opisthaptor

Oba typy klasifikace u taxonů nižšího řádu dále zohledňují také rozdílnou lokalizaci těchto parazitů v rámci hostitelského organismu (preferenci mikrohabitatu), skladbu potravy či morfologii haptoru (Whittington et Chisholm, 2008).



SYSTÉM

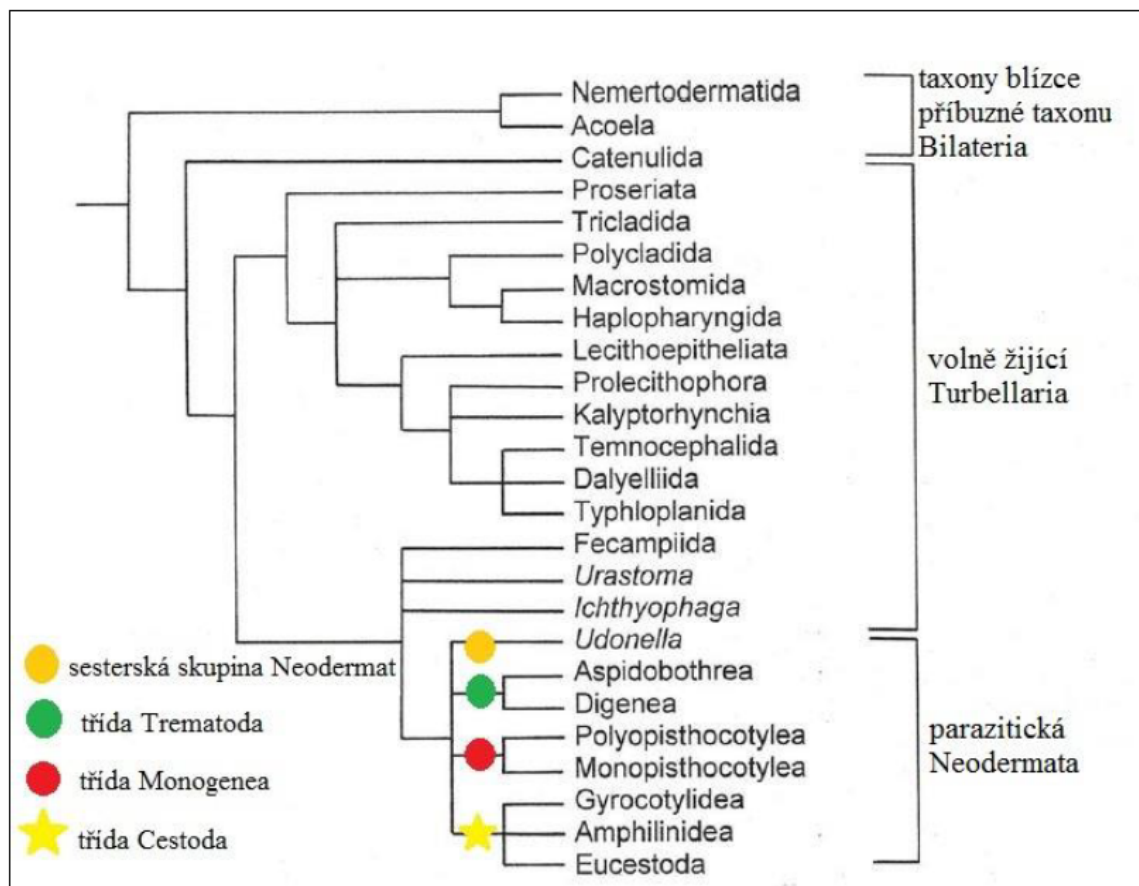
3

1	Buchman et Bresciani, 2006				
Monogenea					
podtřída	Monopisthocotylea				
podtřída	Polyopisthocotylea				
2	Boeger et Kristsky, 2001				
Monogenoidea					
podtřída	Polyonchoinea Heteroonchoinea (Oligonchoinea, Polystomatoinea)				
podtřída	Polystomatoinea				
podtřída	Oligonchoinea				
řád	Chimaericolidea 1 čeleď				
řád	Diclybothriidea 2 čeledě				
řád	Mazocraeidea				
	podřád	Mazocraeinea			
		3 čeledě			
	podřád	Gastrocotylina			
		10 čeledí			
	podřád	Hexostomatinea			
		1 čeleď			
	podřád	Microcotylina			
		10 čeledí			
	podřád	Discocotylina			
		3 čeledě			
		čeleď	Discocotylidae		
		čeleď	Octomacridae		
		čeleď	Diplozoidae		
3	Khotenowsky, 1985				
Monogenea					
podtřída	Oligonchoinea				
	řád	Mazocraeidea			
		podřád	Octomacrinea	Octomacridae	
			čeleď	1 rod	
			čeleď	Diplozoidae	Diplozoinae
				podčeleď	5 rodů
				podčeleď	Neodiplozoinae
					2 rody
4	NCBI				
Monogenea					
nadřád	Monopisthocotylea 23 čeledí				
	(+1 <i>incertae sedis</i>)				
řád	Polyopisthocotylea 20 čeledí				
		čeleď	Octomacridae		
			1 rod		
		čeleď	Diplozoidae		
			5 rodů		

Tabulka 1: Systematické členění třídy Monogenea dle různých zdrojů.
Taxonomické jednotky, které jsou předmětem této práce, jsou vyznačeny tučně. „*incertae sedis*“ – čeleď s nejistým systematickým zařazením



SYSTÉM

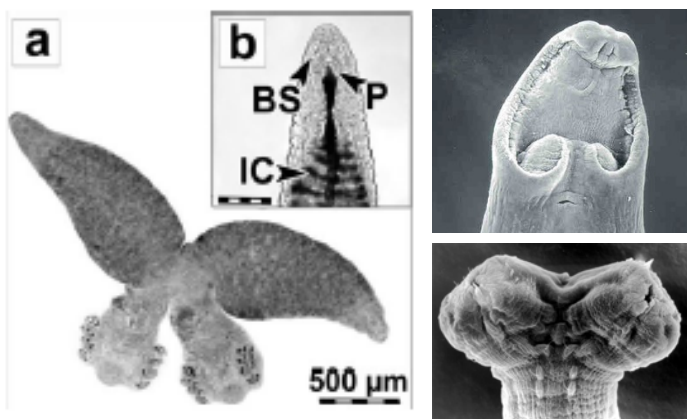


Obr. 1 Fylogenetický strom kmene Platyhelminthes, vytvořený na základě propojení morfologických znaků a informací o celé sekvenci 18S rDNA. (převzato z LITTLEWOOD *et al.*, 1999b a upraveno podle ROBERTS *et al.*, 2009).

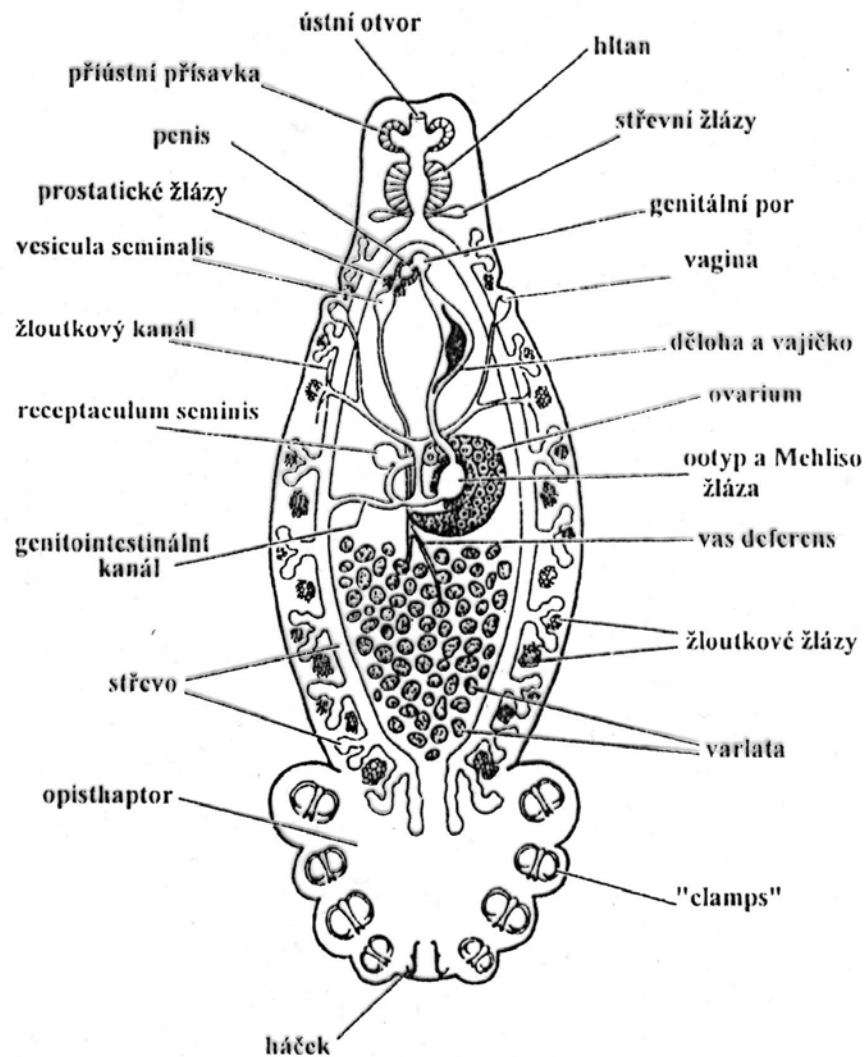


MORFOLOGIE TISK CVIČENÍ

- **prohaptor**
 - přísavné rýhy (bothrie)
 - ústní přísavka
 - bukální přísavky
 - lepivé sekrety

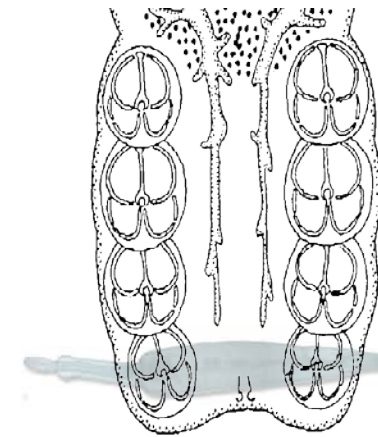


- **Opisthaptor**
 - háčky, svorky



MORFOLOGIE

Monopisthocotylea	Polyopisthocotylea
šupiny, ploutve, žábry	žábry
epitel, mukus	krev
pohyb po hostiteli	spíše statičtí
háčky na opisthaptoru	svorky, přísavky
larvy 14-16 marginálních háčků	larvy 10 marginálních háčků
2 páry očních skvrn	1 pár očních skvrn
chybí genitointestinální kanál	přítomen genitointestinální kanál



SVALOVÁ SOUSTAVA

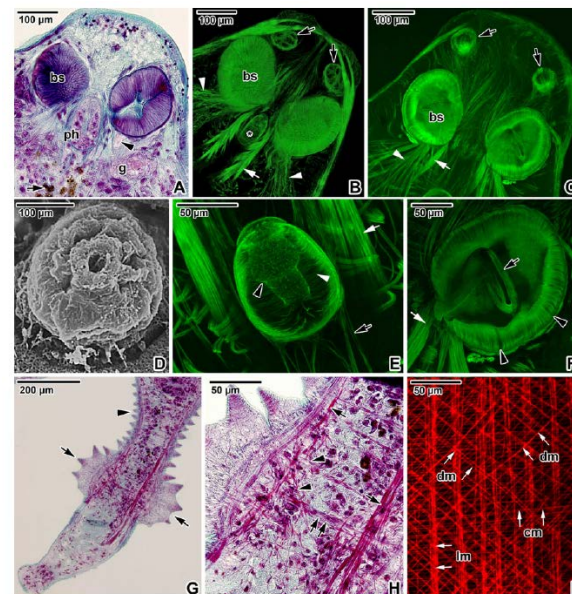
- **okružní**
 - ve stěnách reprodukčních traktu
- **podélná**
 - svalová vlákna procházejí celým parenchymem od hltanu až po svorky
- **příčná**
 - svalová vlákna převládají ve svalovině svorek

nesomatická svalovina se vyskytuje v oblasti haptoru, přísavky, hltanu, samčího kopulačního orgánu a ootypu

- **pohyb** – často pídalkovitý (prohaptor/haptor)

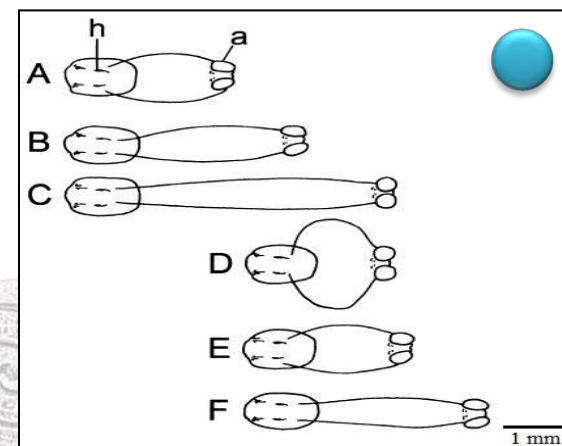
U gyrodaktylů bylo pozorováno pět druhů pohybů: prodlužovací a zkracovací pohyb, rotační pohyb, pohyb umožňující vlastní čištění, běžný pídalkovitý pohyb a pohyb ve vodě (plavání). Plavání ve vodě bylo prokázáno pouze u *Gyrodactylus rysavyi* Ergens, 1973 EL-NAGGAR et al. (2001 in ARAFA et al., 2007).

Eudiplozoon nipponicum



Valigurová et al. 2011

Benedenia rohdei - žábra



Whittington, Kearn & Beverley-Burton, 1994

SVALOVÁ SOUSTAVA

Gyrodactylus rysavyi

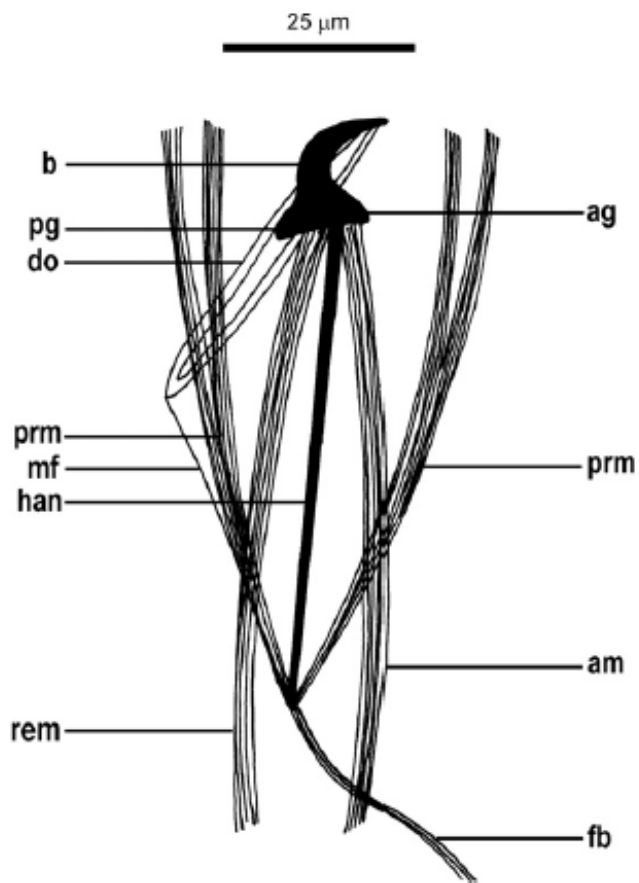


Fig. 3. Diagram showing the musculature of the marginal hooklet of *G. rysavyi*. ag, Anterior process of the guard; am, anchoring muscle; b, blade; do, domus; fb, fine bundle of muscle fibre; han, handle; mf, muscle filament; pg, posterior process of the guard; prm, protractor muscle; rem, releasing muscle.

Eudiplozoon nipponicum

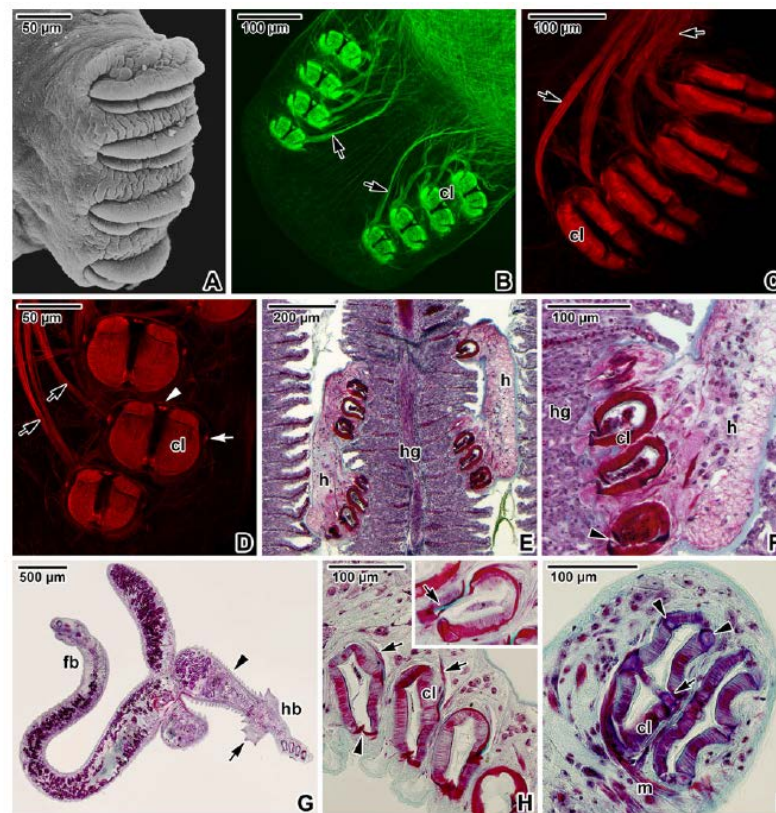


Fig. 4. Attachment apparatus of *E. nipponicum* adult stages. a Half of a haptor with the clamps organized in one row. SEM. b Muscular haptor equipped with four pairs of clamps (cl) with extrinsic muscle bundles (arrows). CLSM. c Lateral view of the clamps: every clamp (cl) is controlled by groups of extrinsic muscle bundles (arrows). CLSM. d Ventral view of the clamps (cl): extrinsic muscle bundles (arrows), muscle located between the lateral sclerite of the posterior jaw and anterior jaw of the clamp (white arrow), muscle in the flexure of the median plate (white arrowhead). CLSM. e, f Sections through the lamellae of the host gills (hg) with haptor (h) of an attached parasite. Note the detail of two well-developed muscular haptors with clamps (cl), anterior, and posterior joining sclerites (arrowhead). LM

(MT). g Section of fused adult worms showing the hindbody (hb) with fully developed attachment apparatus, already developed lobular extensions (arrow), and prominent folds in the middle part (arrowhead): forebody (fb). LM (MT). h Detail of clamps (cl) controlled by the extrinsic muscle bundles (arrows): anterior and posterior joining sclerites (arrowhead). The inset shows the attachment of the tendons (green due to Masson's trichrome staining) to the joining sclerite (arrow). LM (MT). i Detail of clamps (cl) controlled by the extrinsic muscle bundles (m): muscle located between the lateral sclerite of the posterior jaw and anterior jaw of the clamp (arrowheads), muscle in the flexure of the median plate (arrow). LM (MT).

NERVOVÁ SOUSTAVA

- obdobně jako u motolic, oční skvrny, smyslové cilie

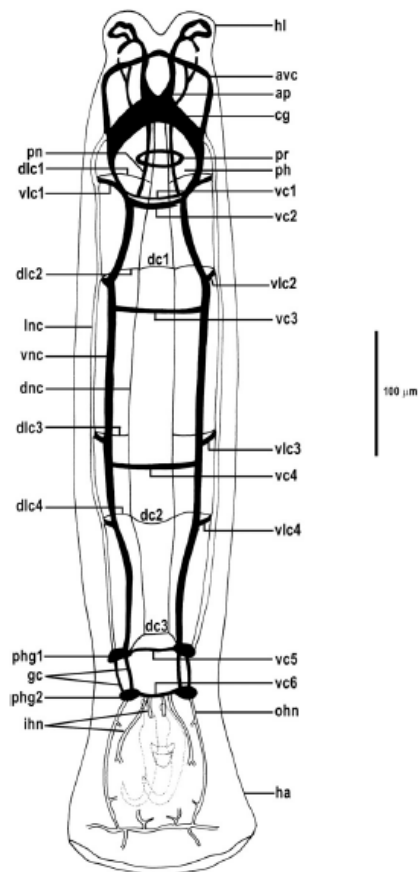


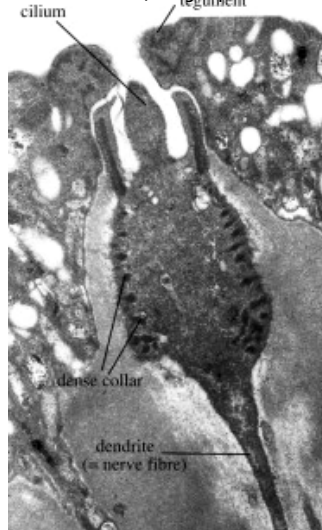
Fig. 4. Diagram showing the nervous system of *G. ryanovii* as revealed by AcTbI staining. ap, Anterior projection; avc, anterior ventral commissure; cg, cerebral ganglia; dc1–dc3, dorsal connectives; dlc1–dlc4, dorso-lateral connectives; dnc, dorsal nerve cord; gc, ganglionic connectives; ha, haptor; hl, head lobe; ihn, inner haptor nerve; lnc, lateral nerve cord; ohn, outer haptor nerve; ph, pharynx; phg1–phg2, prepharyngeal ganglia; pn, pharyngeal nerve; pr, pharyngeal ring; vc1–vc6, ventral connective; vlc1–vlc4, ventro-lateral connectives; vnc, ventral nerve cord.

Arafa et al. 2007

Dactylogyrus sp.



Pricea multae (Polyopisthocotylea)



Klaus Rohde

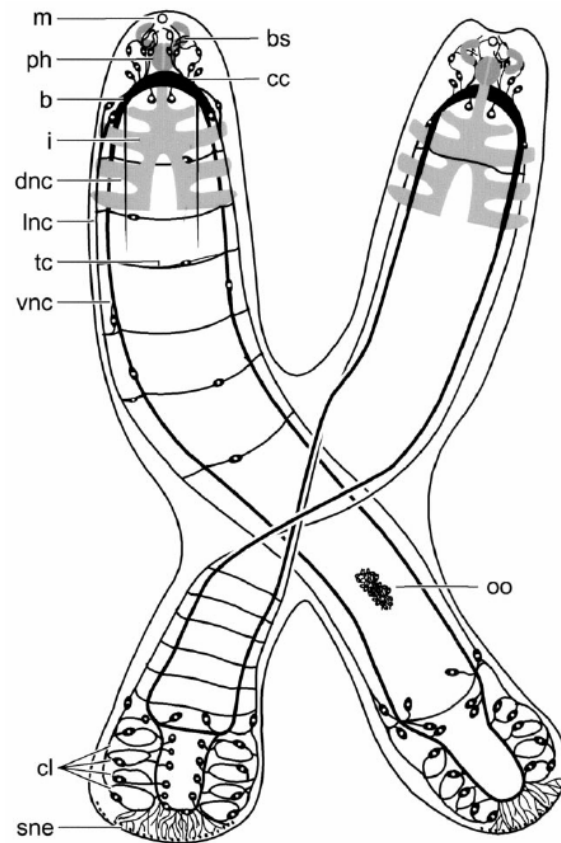


Fig. 1. A schematic of adult *E. nipponicum* illustrating the major neuronal pathways of the central nervous system, as evidenced by whole-mount immunostaining for the FaRP neuropeptide, GYIRFamide. b, brain; bs, buccal sucker; cc, commissure; cl, clamps; dnc, dorsal nerve cord; i, intestine; lnc, longitudinal nerve cord; m, mouth; oo, ootype; ph, pharynx; sne, caudal surface nerves; tc, transverse connective; vnc, ventral nerve cord.

Zurawski et al 2001

NERVOVÁ SOUSTAVA

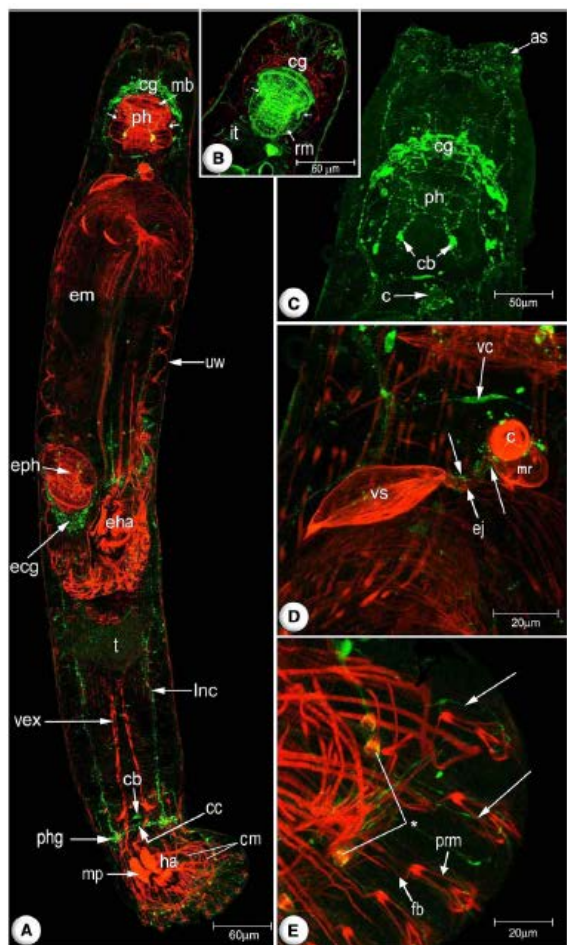


Fig. 2. Confocal scanning laser micrographs of whole-mount preparations of *G. ryanus*. A and C–F, immunoreactivity to 5-HT (green), muscles stained red with phalloidin TRITC. B, FaRP neuropeptide GYIRFamide staining (red), muscle (green). A. Whole worm showing the cerebral ganglia of the embryo (ecg), pharynx of the embryo (eph), haptor of the embryo (eha), longitudinal nerve cords (inc), haptor (ha), nerve commissure (cc), cell body (cb), cerebral ganglia (cg), circular muscle of the umbrella-like structure of the haptor (cm), embryo (em), muscular pad (mp), pharynx (ph), prehaptor ganglia (phg), testis (t), uterine wall (uw) showing a zigzag-like fashion and ventral extrinsic muscle (vex). Note the constriction between the anterior and posterior regions of the pharynx (unlabelled arrows). B. Anterior region of the body showing FaRP neuropeptide GYIRFamide staining (red) in the cerebral ganglia (cg). Note the constriction between the anterior and posterior regions of the pharynx (unlabelled arrows). C. Anterior region of the body showing 5-HT immunoreactive fibres derived from the cerebral ganglia (cg) and innervate the adhesive sac region (as). c, Copulatory organ; cb, cell bodies; ph, pharynx. D. 5-HT immunoreactive fibres (unlabelled arrows) innervate the ejaculatory duct (ej), copulatory organ (c), male accessory reservoir (mr) and vesicula seminalis (vs). vc, Commissure between the ventral nerve cords. E. Spatial distribution of 5-HT immunoreactive nerves and muscle in the posterior region of the haptor. Note the fine serotonergic immunoreactive fibres (unlabelled arrows) extend to the base of the marginal hooklets. fb, Fine bundle of muscle fibres; prm, protractor muscle fibres. Note the spherical structures (*) between the marginal hooklets. (For interpretation of the references to colour in this figure legend, the reader is referred to the web version of this article.)

Arafa et al. 2007

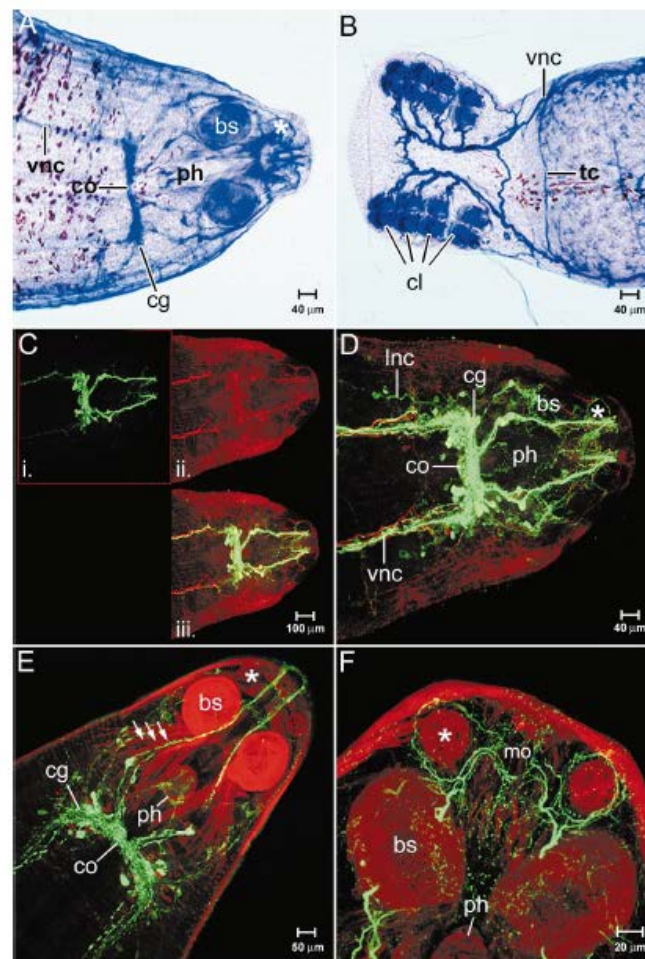
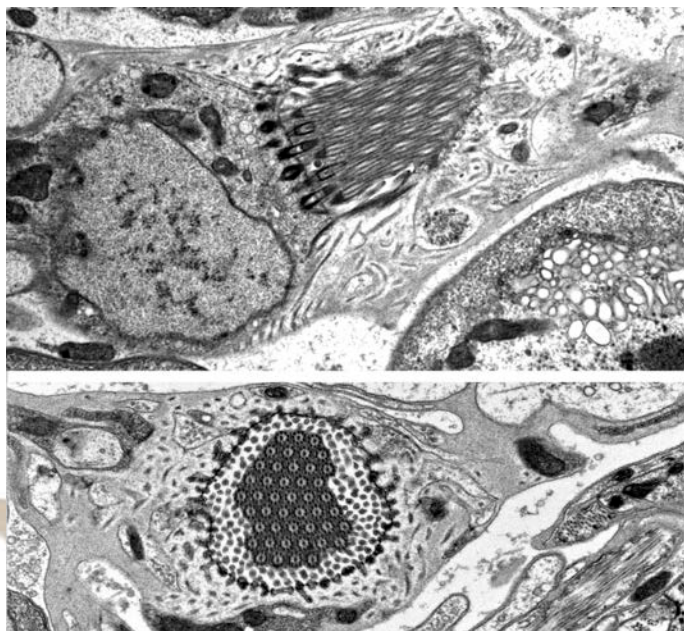


Fig. 2. (A,B) Light micrographs demonstrating cholinergic elements (blue staining) in *E. nipponicum*. (A) Forebody region showing staining in the paired cerebral ganglia (cg) and commissure (co), ventral nerve cord (vnc) and innervation of the buccal suckers (bs), pharynx (ph) and paired musculo-glandular organs (*). (B) Haptor region showing staining of the ventral nerve cords (vnc), transverse commissures (tc) and innervation of clamps (cl). (C–F) Confocal scanning laser micrographs demonstrating immunostaining for 5-HT and FaRP neuropeptides, and for F-actin following staining with phalloidin, in the forebody of *E. nipponicum*. (C) Images showing immunolabelling with fluorescein isothiocyanate conjugate (green) for FaRP (i), immunolabelling with tetramethylrhodamine isothiocyanate conjugate (red) for 5-HT (ii), and composite showing dual labelling with both fluorophores (iii). (D) Detail of dual labelling shown in (C, ii). Note immunostaining in cerebral ganglia (cg) and commissure (co), ventral and lateral nerve cords (vnc, inc). Note pharynx (ph), buccal suckers (bs) and musculo-glandular structures (*). (E) Dual stained preparation showing phalloidin staining (red) of muscle bundles (arrows) running posteriorly from the pharynx and immunostaining for FaRPs (green) in the cerebral ganglia (cg), commissure (co) and associated nerves. (F) Dual stained preparation showing the rich FaRPergic innervation (green) of the buccal suckers (bs) and musculo-glandular organs (*). Note pharynx (ph) and mouth region (mo).

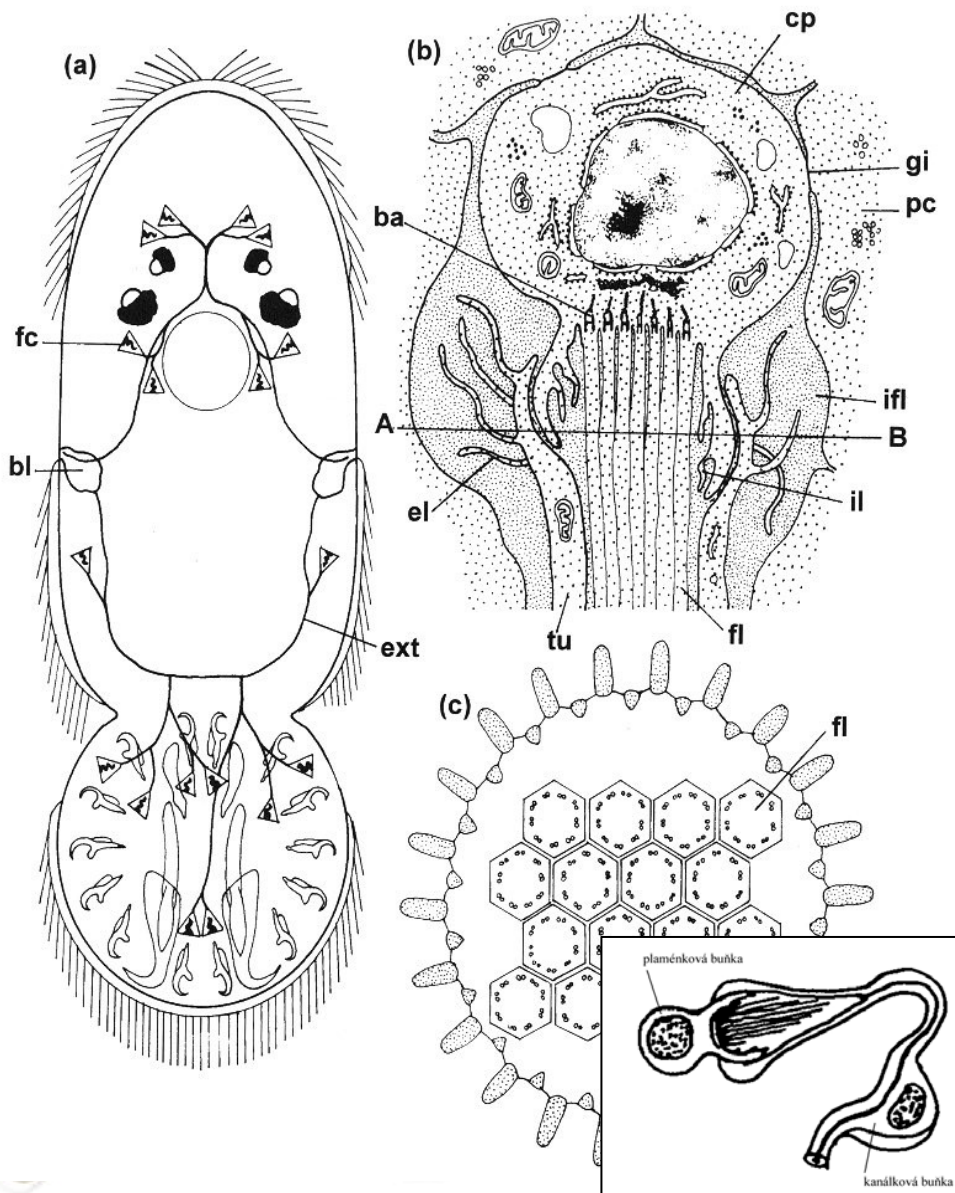
Zurawski et al 2001

VYLUČOVACÍ SOUSTAVA

- protonefridiálního typu
 - plaménkové buňky
 - sběrné kanálky
 - párové exkrecní póry v přední části těla
 - osmoregulace



Konstanžová et al.



TRÁVICÍ SOUSTAVA

- **dobře vyvinutá**
 - bukalní "nálevka"
 - prefarynx
 - farynx
 - faryngeální žlázy (peptidázy)
- **esofágus**
- **střevo s 2 větvemi**
 - často postranní výběžky
 - často spojené
 - epitel = separované buňky
- **porava** – různorodá
 - sliz, epitelové buňky, krev

Monopisthocotylea - obvykle epitel+sliz

Plyopisthocotylea - obvykle krev

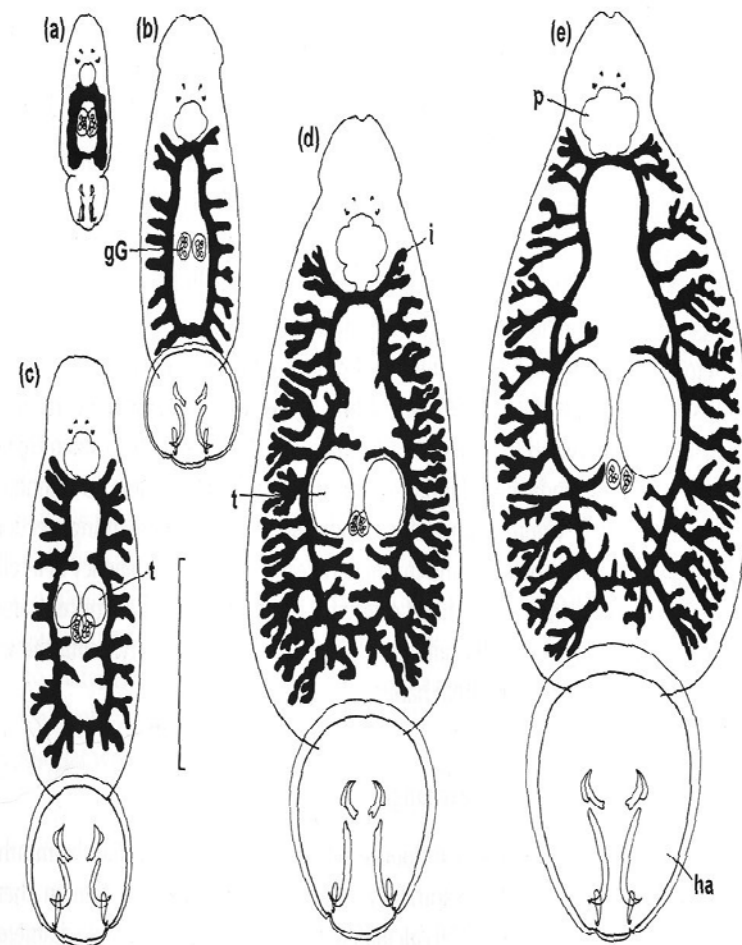


Figure 1.5(a)-(e) Stages in early development of the monogenean *Entobdella soleae*, showing progressive elaboration of the gut diverticula. Drawn from living animals stained with neutral red. gG = glands of Goto; ha = haptor; i = intestine; p = pharynx; t = testis. Scale bar: 0.5 mm.

TRÁVICÍ SOUSTAVA

- *Ptyopisthocotylea* – zpracování krve
 - endocytóza hemoglobinu
 - intracelulární zpracování - podobné jako u extracelulárního zpracování krve schistosomami
 - osud Fe při trávení:
 - hemoglobin - hem (tetrapyrolové jádro s Fe^{2+}) a globin
 - oxidace: Fe^{2+} v tetrapyrolovém jádře - Fe^{3+} - hemozoin
 - nerozpustný hemozoin exocytóza

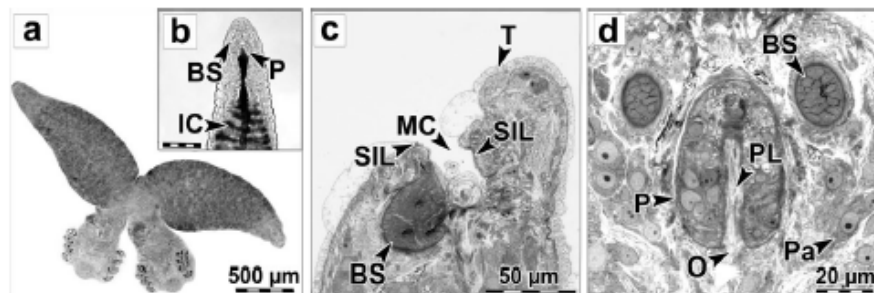
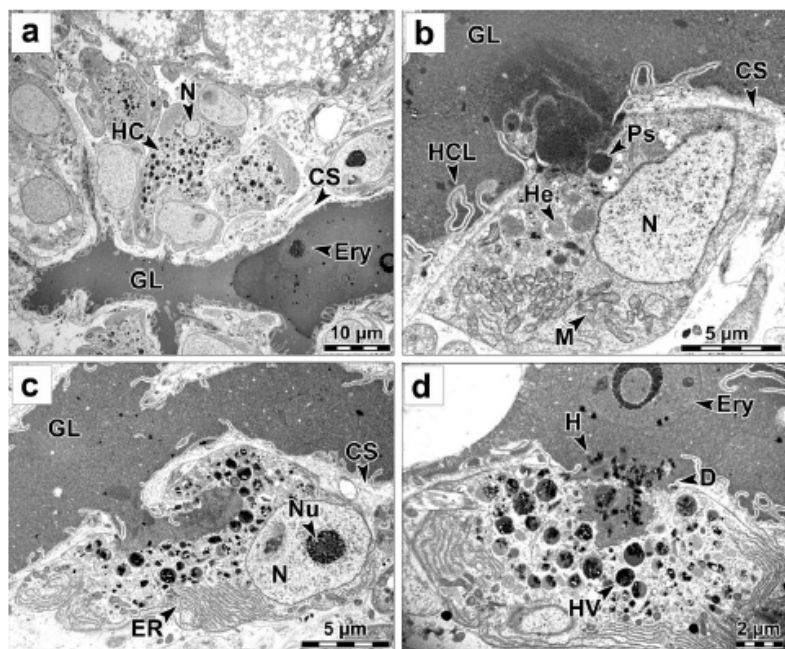
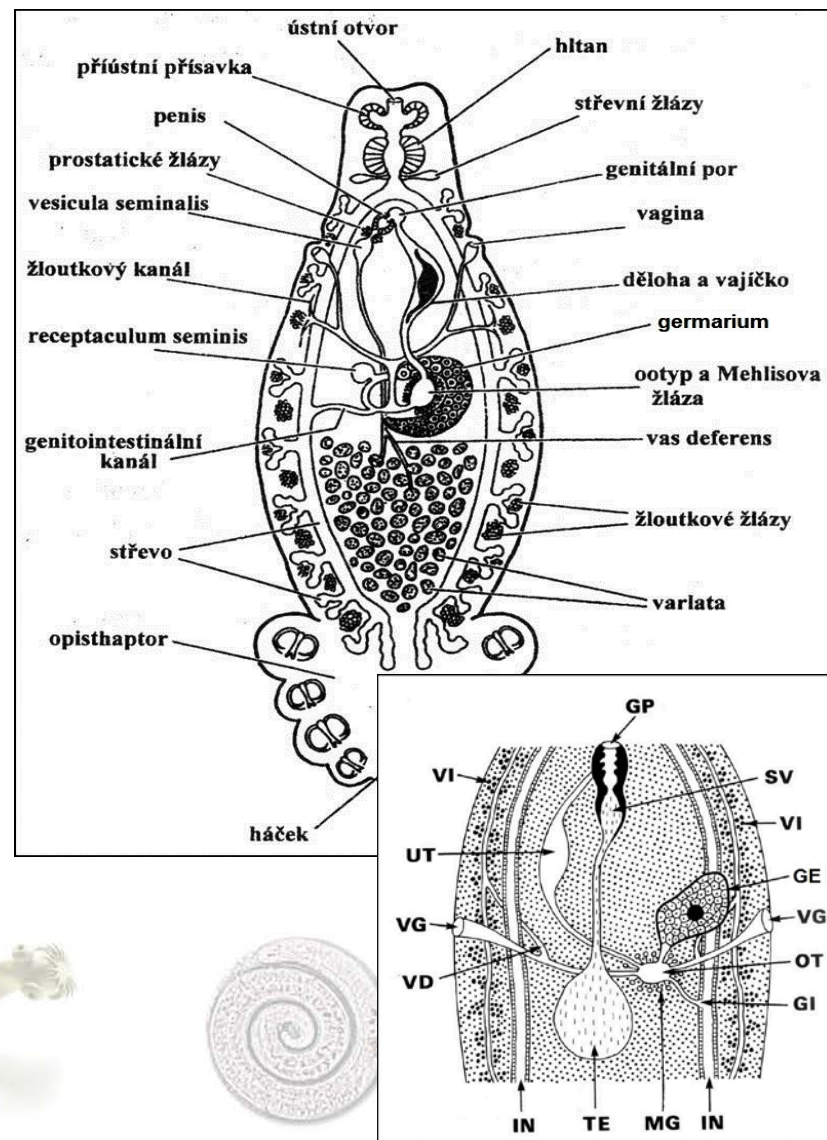


Fig. 5 Intestine (TEM). a Haematin cell (HC) surrounded by connective syncytium (CS). Note the nucleus (N) and numerous haematin vesicles inside the cell and intact erythrocyte (Ery) in the gut lumen (GL). b Intake of host haemoglobin (He) released from haemolysed erythrocyte by digestive cell. Haematin cell lamellae (HCL) located apically towards the gut lumen (GL). Formation of various pinocytic vesicles (Ps) by invagination of the plasma membrane of haematin cell. The outline of the adjacent connective syncytium (CS) is amplified by numerous lamellae. Note numerous mitochondria (M) and large nucleus (N) inside the haematin cell. c U-shaped haematin cell with typical basal position of

the nucleus (N) with nucleolus (Nu) in the process of ingestion of haemoglobin (He) from the gut lumen (GL). Note the prominent endoplasmic reticulum (ER) and haematin vesicles filled with haematin and connective syncytium (CS) which envelops the haematin cell. d Release of haematin crystals (H) by haematin cell to the gut lumen. Note desmosomes (D) operating like a connecting and communication element between the haematin cell and connective syncytium, and numerous haematin vesicles (HV) inside the haematin cell. Intact erythrocyte (Ery) is visible inside the gut lumen.

POHLAVNÍ SOUSTAVA

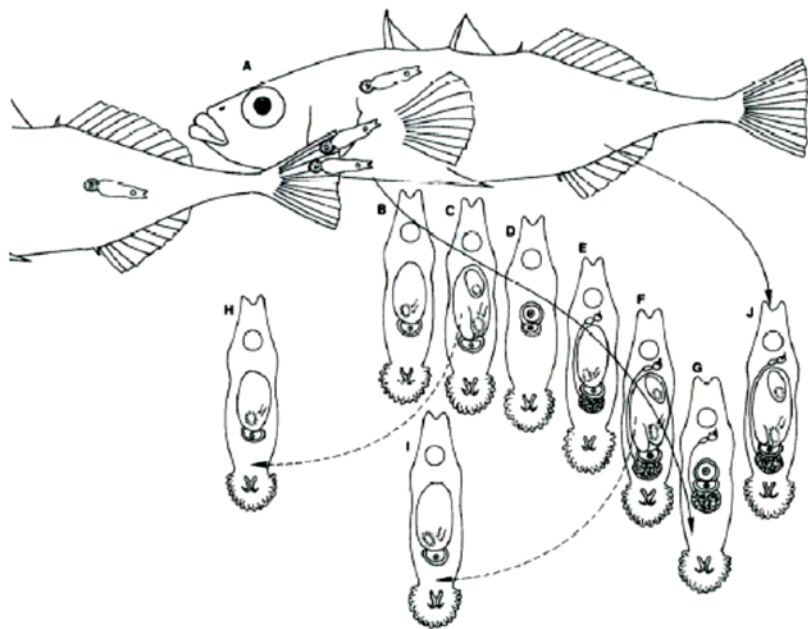
- hermafrodité, někdy trvalý srůst dvou jedinců (rod *Diplozoon*)
- samčí**: varlata, vassa efferentia, vas deferens, ductus ejaculatorius, genitální atrium, cirrus se sklerotizovanými útvary
- samičí**: germarium – produkce vajíček, ovidukt, ootyp, žloutkové trsy, +/- vagina (pouze jedna nebo jeden pár, výjimečně chybí, často vystužena sklerity), děloha, receptaculum seminis, +/- genitointestinální kanál – u *Polyopisthocotylea*
- oviparie, viviparie



ŽIVOTNÍ CYKLUS A ONTOGENETICKÁ ST.³

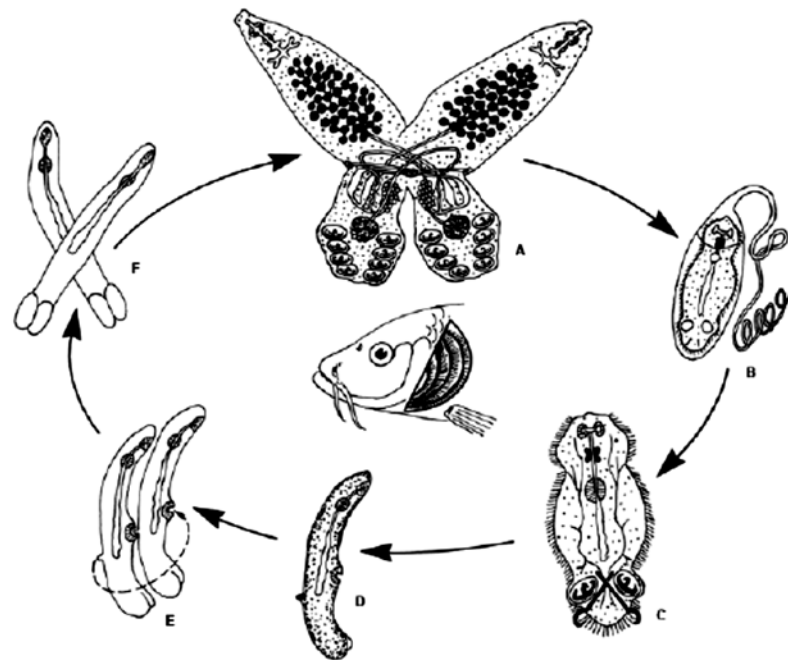
• Monopisthocotylea

Obr. 5. Životní cyklus zástupců rodu *Gyrodactylus*. (A) Přenos parazita kontaktem hostitelů; (B-G) ontogenetická stadia novorozeného jedince; (C) porod prvního dceřiného jedince (H); (D) oocyt vstupuje do prázdné dělohy; (E) vývoj samčího reprodukčního aparátu; (F) porod druhého dceřiného jedince (I). Pohlavní rozmnožování začíná od (E) dále, takže až třetí dceřiný jedinec může být zplozen pohlavně (upraveno podle Keama, 1994).



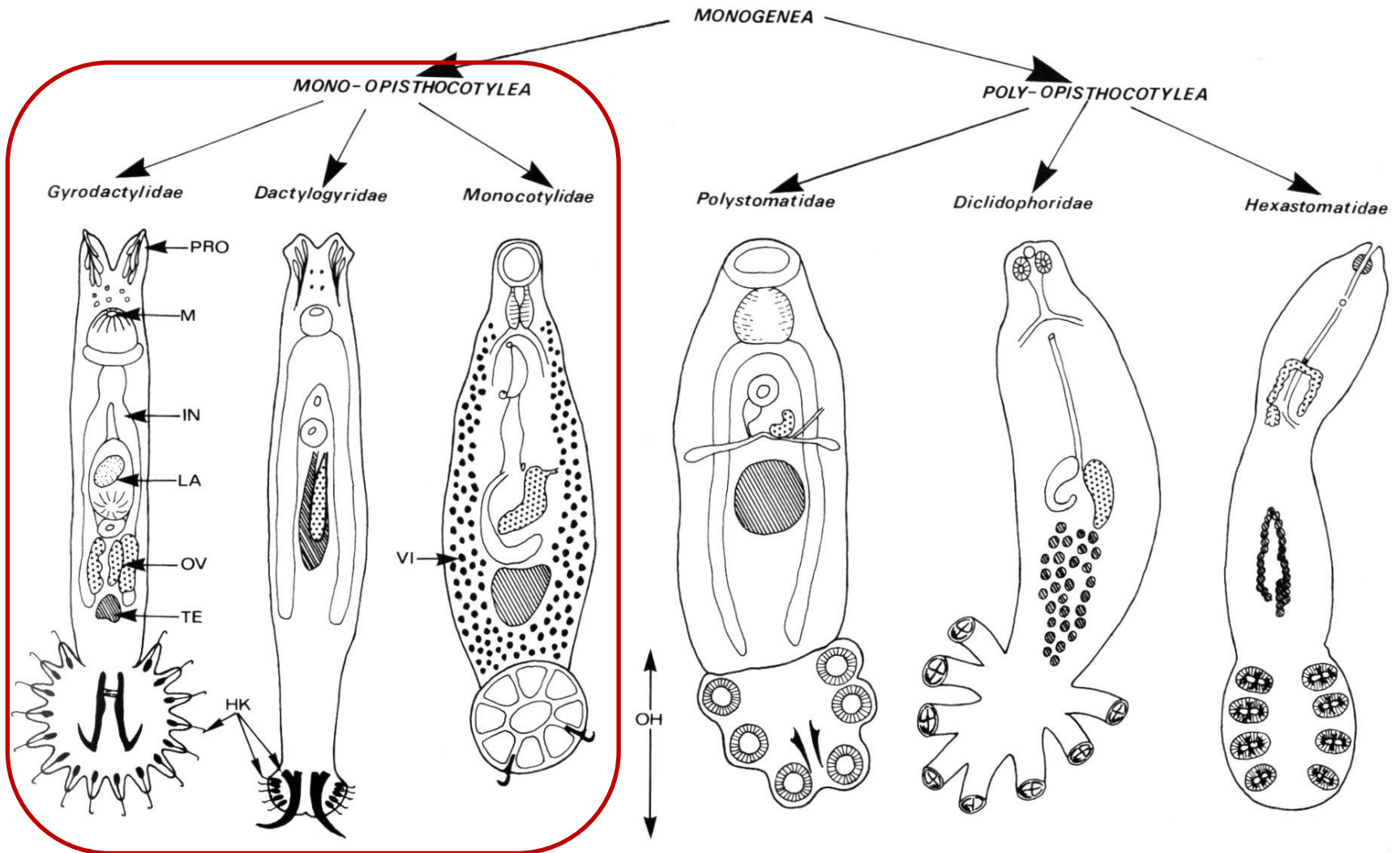
• Polyopisthocotylea

Obr. 4. Životní cyklus vejcorodého druhu *Diplozoon paradoxum*. (A) Dospělý jedinec parazitující na žábách ryb; (B) vajíčko s filamentem a larvou onkomiracidie uvnitř; (C) volně plovoucí onkomiracidium; (D) po přichycení na žábách onkomiracidium metamorfuje na diporpu; (E,F) párování diporpu na hostiteli a dospívání parazita (upraveno podle Mehlhorna, 2004).



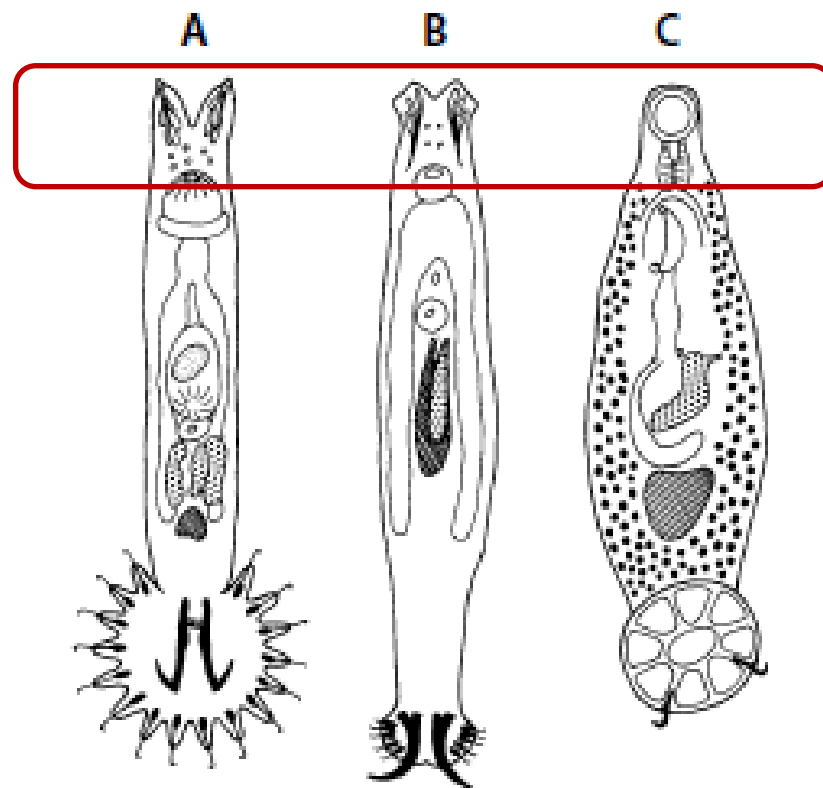
SYSTÉM TISK CVIČENÍ

3



PŘÍCHYTNÝ APARÁT

- Monopisthocotylea - PROHAPTOR

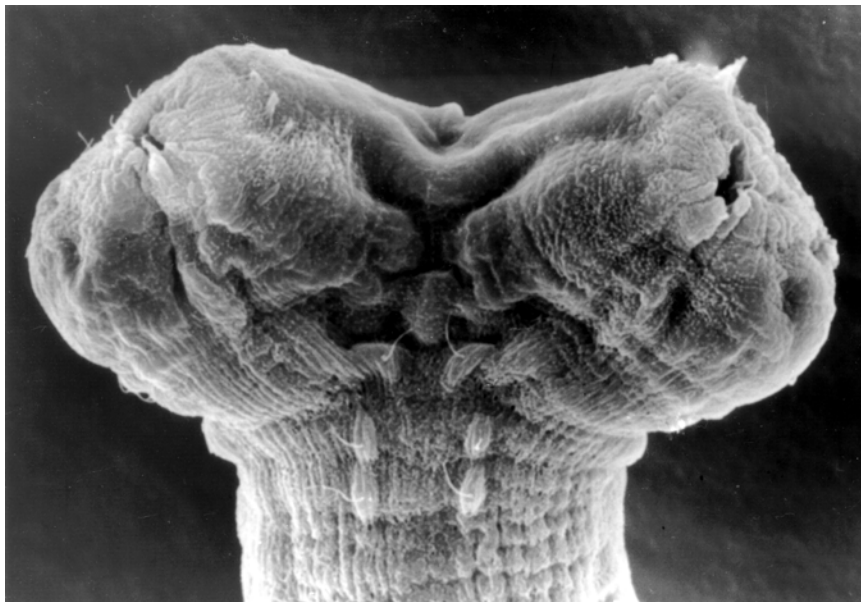


Obr. 3-28 Monogenea. Morfologie příslušníků různých skupin monogeneí. A – Gyrodactylidae, B – Dactylogyridae, C – Monocotylidae, D – Polystomatidae, E – Diclidophoridae, F – Hexastomatidae (dle Mehlhorn a kol., 2001, upraveno).

PŘÍCHYTNÝ APARÁT

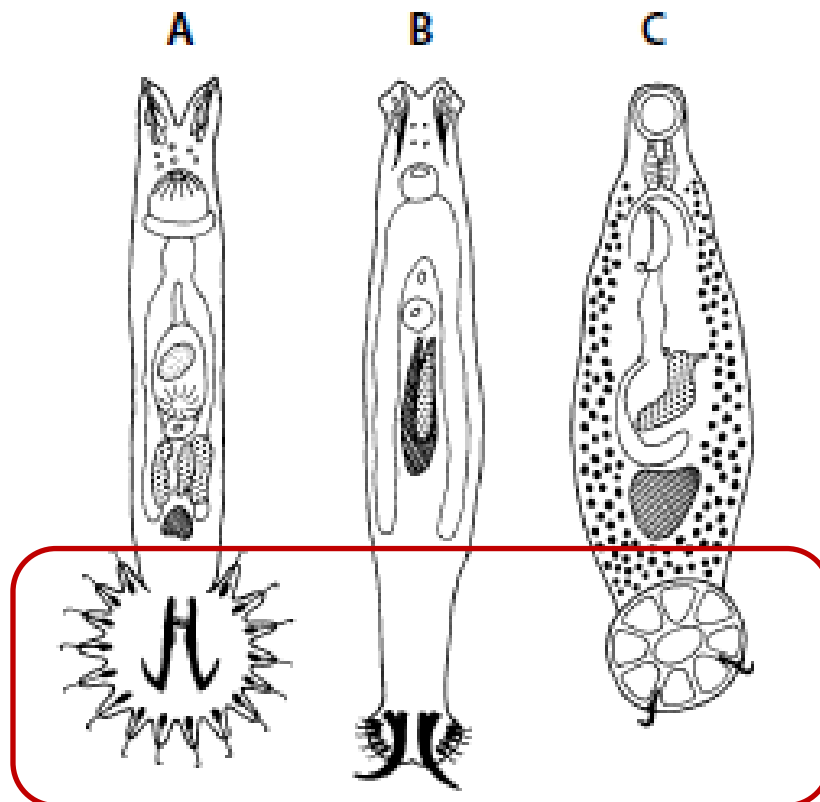
- Monopisthocotylea – PROHAPTOR

- PŘEDNÍ konec těla – slabší přichycovací fce, smyslové org., žlázy, laloky, svalové záhyby



PŘÍCHYTNÝ APARÁT

- Monopisthocotylea – OPISTHAPTOR
- determinační znaky



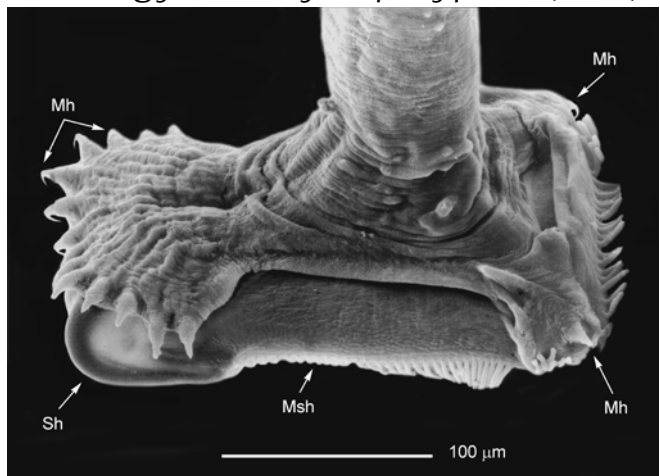
Obr. 3-28 Monogenea. Morfologie příslušníků různých skupin monogeneí. A – Gyrodactylidae, B – Dactylogyridae, C – Monocotylidae, D – Polystomatidae, E – Diclidophoridae, F – Hexastomatidae (dle Mehlhorn a kol., 2001, upraveno).

PŘÍCHYTNÝ APARÁT

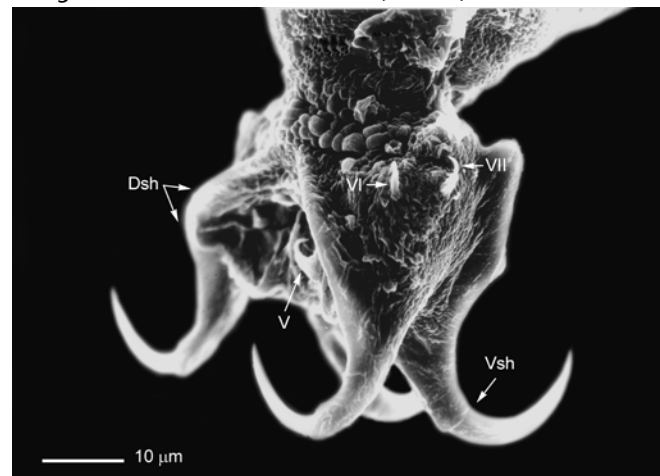
• Monopisthocotylea – OPISTHAPTOR

- ZADNÍ konec těla – hlavní přichycovací funkce
- sklerotizované háčky a destičky => silné poškození tkání hostitele

Macrogyrodactylus polypteri (SEM)



Thylacicleidus latus (SEM)



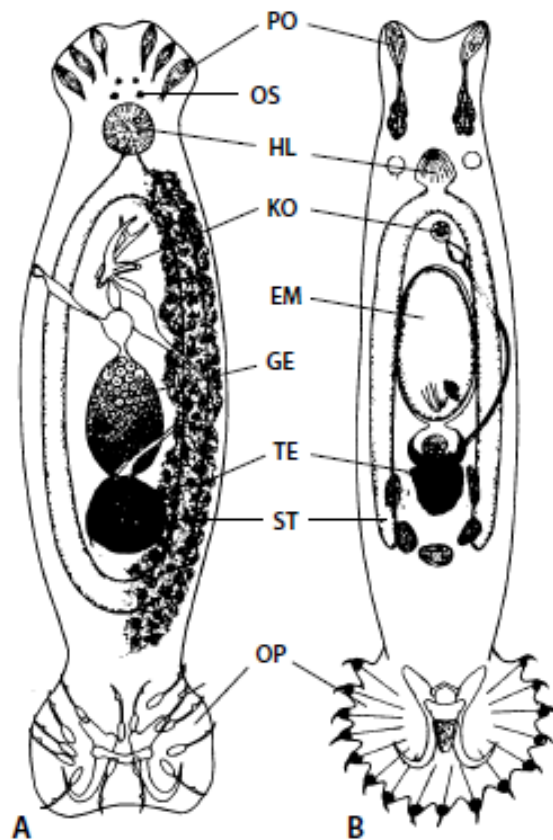
Gyrodactylus salaris



SYSTÉM – Monopisthocotylea TISK CVIČENÍ 3

- rod *Dactylogyrus*

- rod *Gyrodactylus*



Obr. 3-31 Monogenea, Polyonchoinea.

A – *Dactylogyrus* sp., B – *Gyrodactylus* sp.

PO – přední přichycovací orgán, OS – oční skvrny, HL – hltan, KO – kopulační orgán, GE – germarium, EM – vyvíjející se embryo, TE – varlata, ST – střevo, OP – opisthaptor (dle Roberts a Janovy, 2005, upraveno).



SYSTÉM - Monopisthocotylea

- rod *Dactylogyrus*

- paraziti velmi malých rozměrů (kolem 1 mm)
- především **na žábrách ryb**
- **úzká hostitelská specifita**, někteří významné patogeny - *D. vastator* na plůdku
- jsou **oviparní**, k nákaze dalšího hostitele dochází až poté, kdy se ve vodě ze zralého vajíčka vylíhne onkomiracidium, které aktivně vyhledá novou rybu



rod *Dactylogyrus*

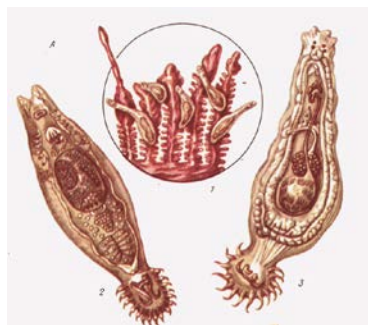
- *Dactylogyrus vastator*
- Patogen

Životní cyklus

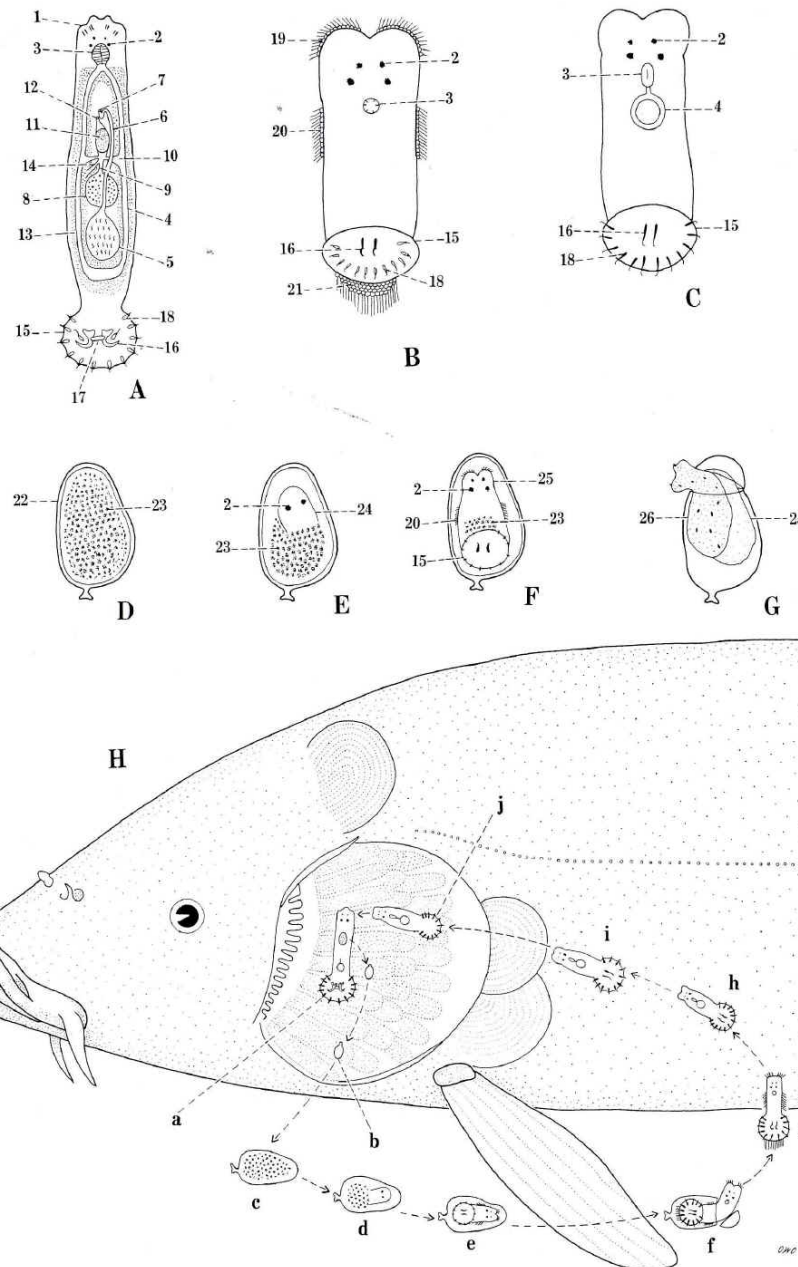
Ha-b; uvolnění vajíčka

Hc-f; a vývoj vajíčka a juvenila

Hg-j; přichycení na rybu a přesun na žábry



- *Dactylogyrus coartatus*



SYSTÉM - Monopisthocotylea

- rod *Gyrodactylus*

- rozměry rozměrů (asi 1–1,5 mm),
- cizopasíci především na povrchu
- významné patogeny (např. *G. salaris* na lososech)
- jsou **živorodí** - způsob jejich rozmnožování bývá označován jako pedogenetická polyembryonie
- přenosu na novou rybu **není** využívána **volně plovoucí larva**, ale dojde k němu při vzájemném kontaktu dvou hostitelů
- **Hostitelská specifita není tak úzká** jako u *Dactylogyridae*



rod *Gyrodactylus*

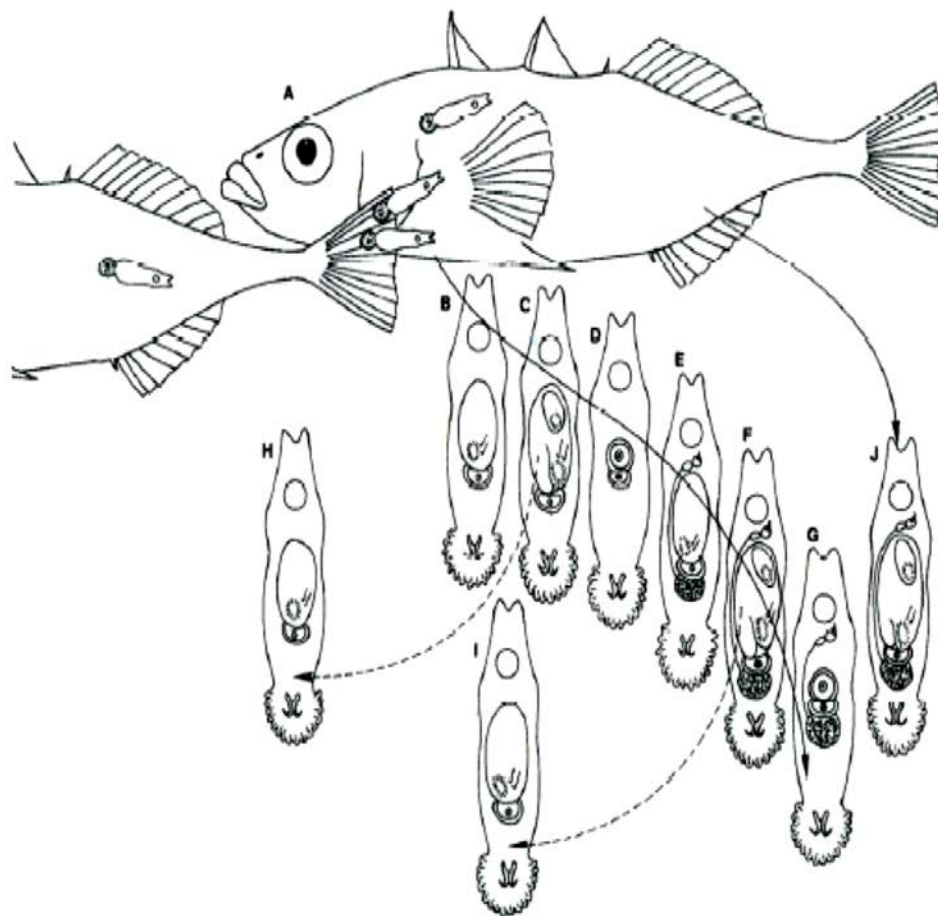
- *Gyrodactylus salaris*

- malé rozměry (asi 0,5 mm)
- hostitel *Salmo salar*
- především na povrchu ryb –
narušení povrchu =>
sekundární infekce



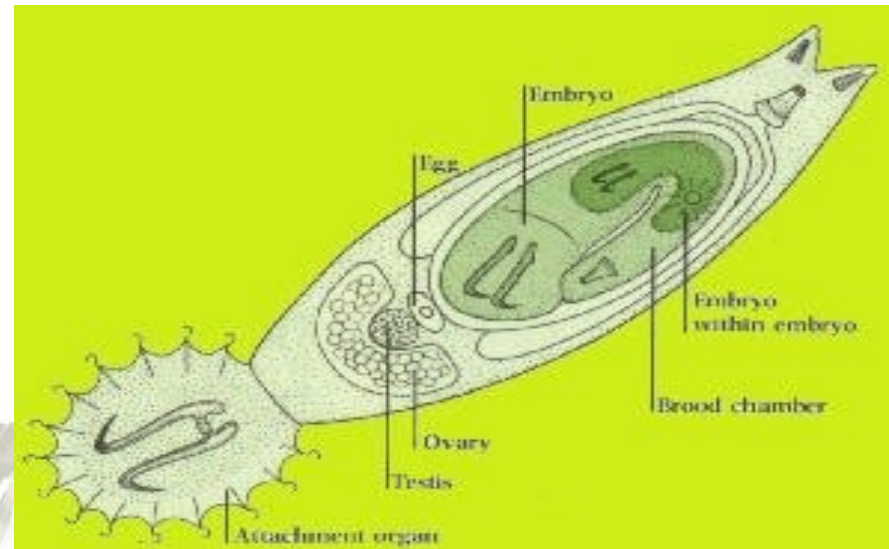
3

Obr. 5. Životní cyklus zástupců rodu *Gyrodactylus*. (A) Přenos parazita kontaktem hostitelů; (B-G) ontogenetická stadia novorozeného jedince; (C) porod prvního dceřiného jedince (H); (D) oocyt vstupuje do prázdné dělohy; (E) vývoj samčího reprodukčního aparátu; (F) porod druhého dceřiného jedince (I). Pohlavní rozmnožování začíná od (E) dále, takže až třetí dceřiný jedinec může být zplozen pohlavně (upraveno podle Keama, 1994).



rod *Gyrodactylus*

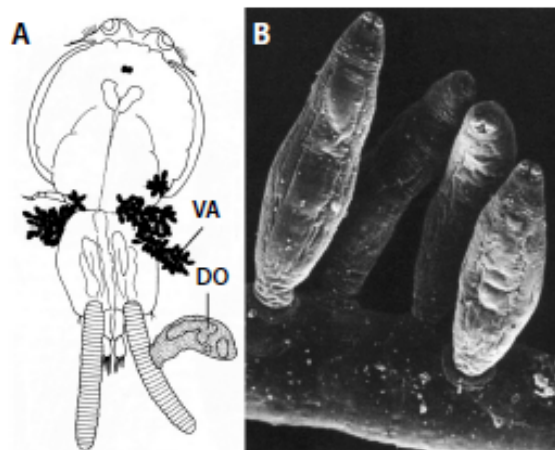
- *Gyrodactylus salaris* – formování embrya
 - formování embrya v reprodukčním systému
 - relativně nízká fekundita, ale rychlá reprodukce (24 hodin po „narození“)
 - **1. embryo** vzniká asexuálně ze shluku buněk uvnitř „embryonálního rodiče“
 - **2. embryo** vzniká již z oocytů v uteru, ale před dozráním samčí soustavy – partenogeneze
 - **následující embryo** vzniká již po oplodnění nebo partenogeneticky



rod *Udonella*

- *Udonella* sp.

- původně považována za ploštěnku
- mezi monogenea přerazena na základě morfologických znaků
 - neodermis, „opisthaptor“ + molekulárně fylogenetické studie



Obr. 3–32 Monogenea, Polyonchoinea. Jedinci rodu *Udonella* sp. přichycení na povrchu korýšů parazitujících na rybách. A – náčrtek celkové situace, B – dospělí jedinci na vaječném vaku korýše. VA – vajíčka přilepená na korýše, DO – dospělý jedinec (A dle Kearns, 1998, upraveno; B dle Bush a kol., 2001, upraveno).

Figure 3

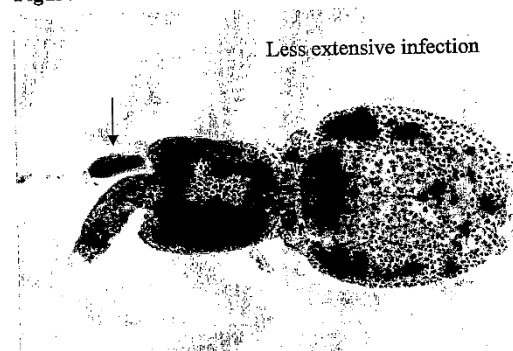
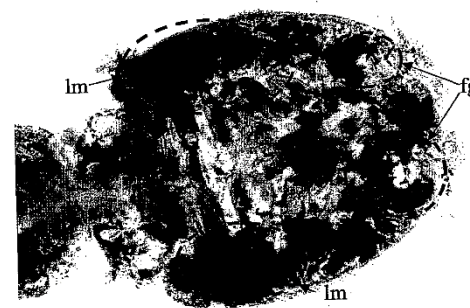
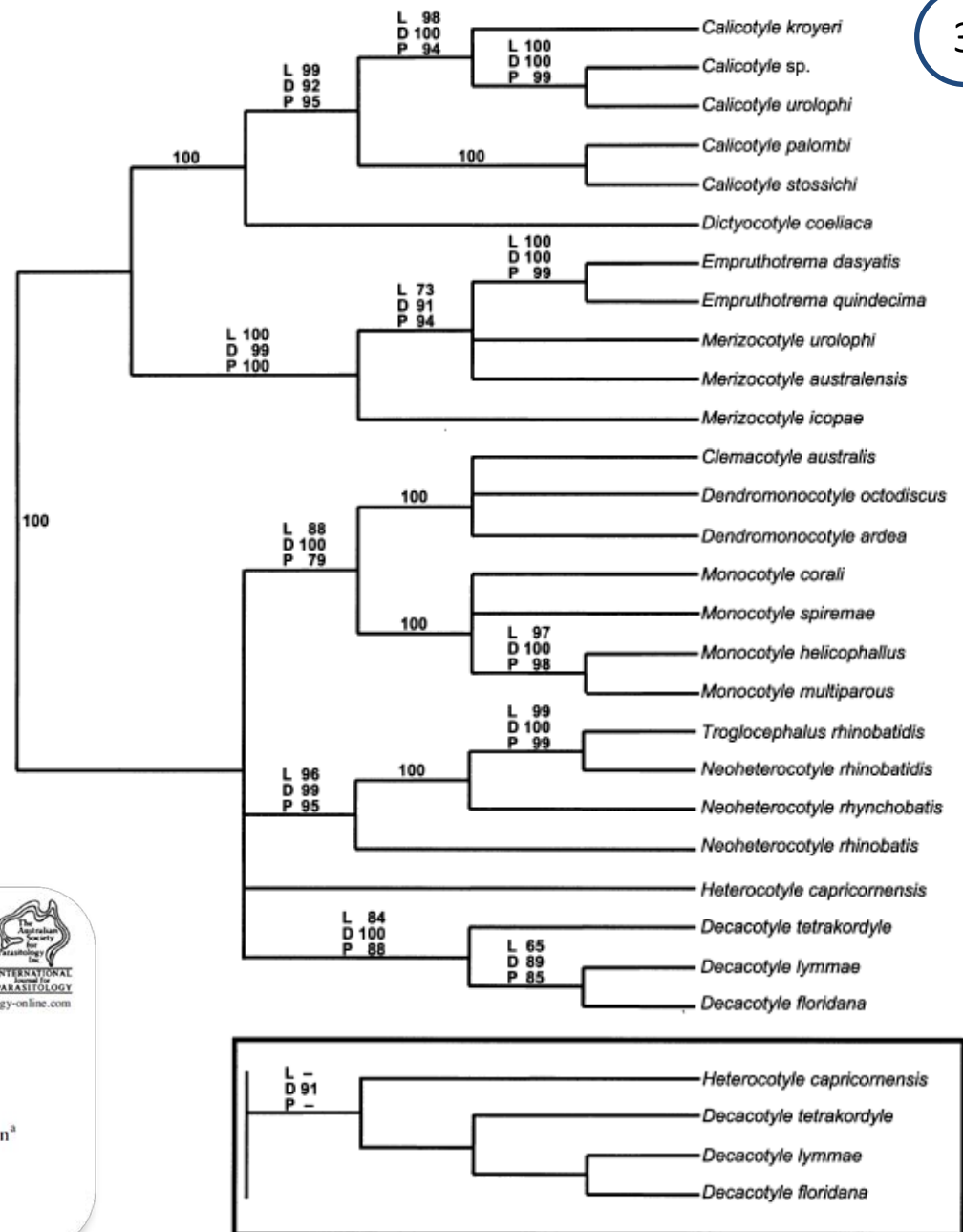


Figure 4



Monocotylidae

- 109 druhů
- převážně paraziti paryb
– žraloci
- lokalizace – různé části
těla ryby – žábry, ploutve,
rektum, tělní
dutinu - endoparaziti



ELSEVIER

International Journal for Parasitology 31 (2001) 1537–1547



INTERNATIONAL
JOURNAL FOR
PARASITOLOGY

www.parasitology-online.com

Phylogenetic analysis of the Monocotylidae (Monogenea) inferred from 28S rDNA sequences[☆]

Leslie A. Chisholm^{a,*}, Jess A.T. Morgan^{a,1}, Rob D. Adlard^b, Ian D. Whittington^a

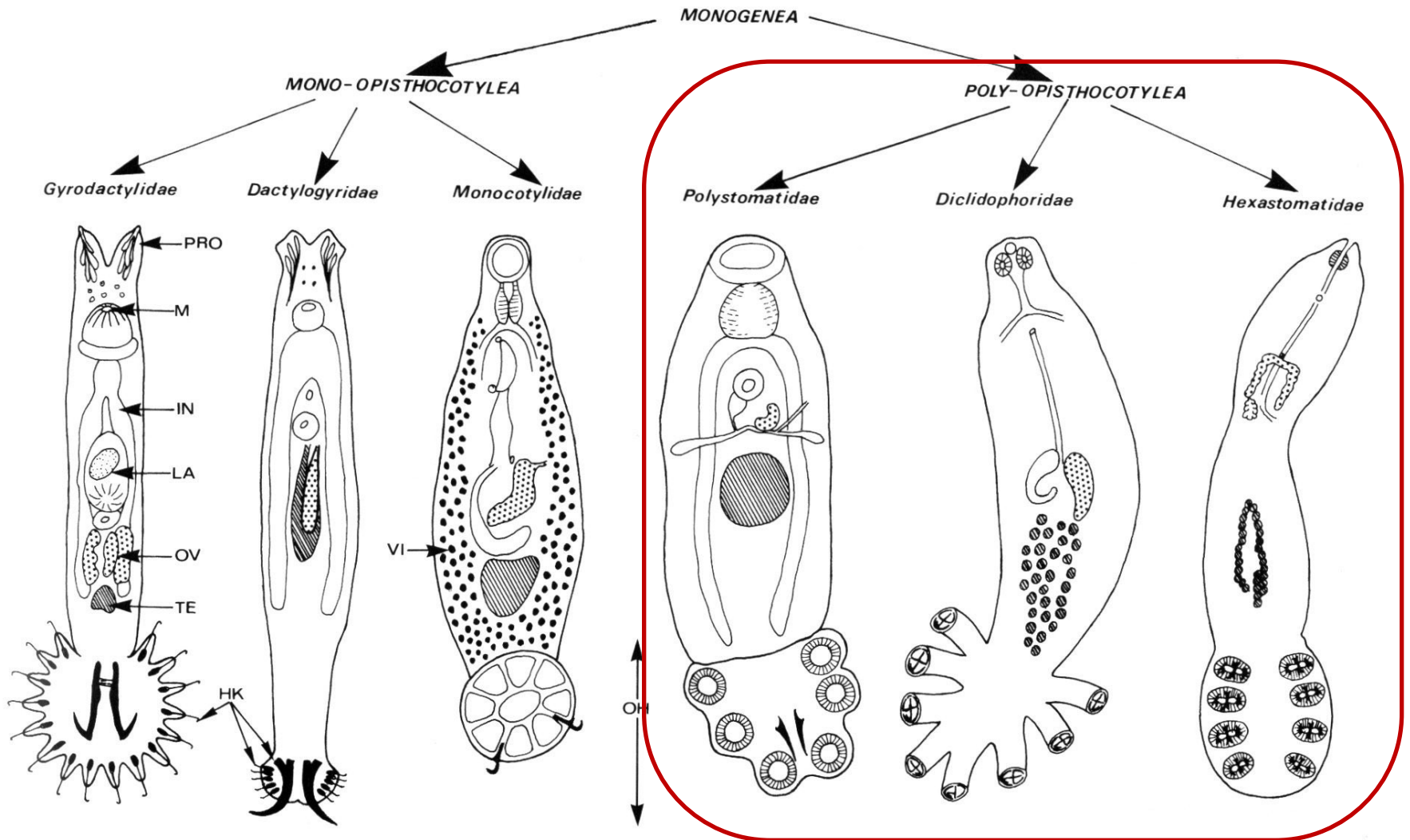
^aDepartment of Microbiology and Parasitology, School of Molecular and Microbial Sciences, The University of Queensland,
Brisbane, Queensland 4072, Australia

^bProtozoa Section, Queensland Museum, PO Box 3300, South Brisbane 4101, Australia

Received 19 February 2001; received in revised form 23 March 2001; accepted 23 March 2001

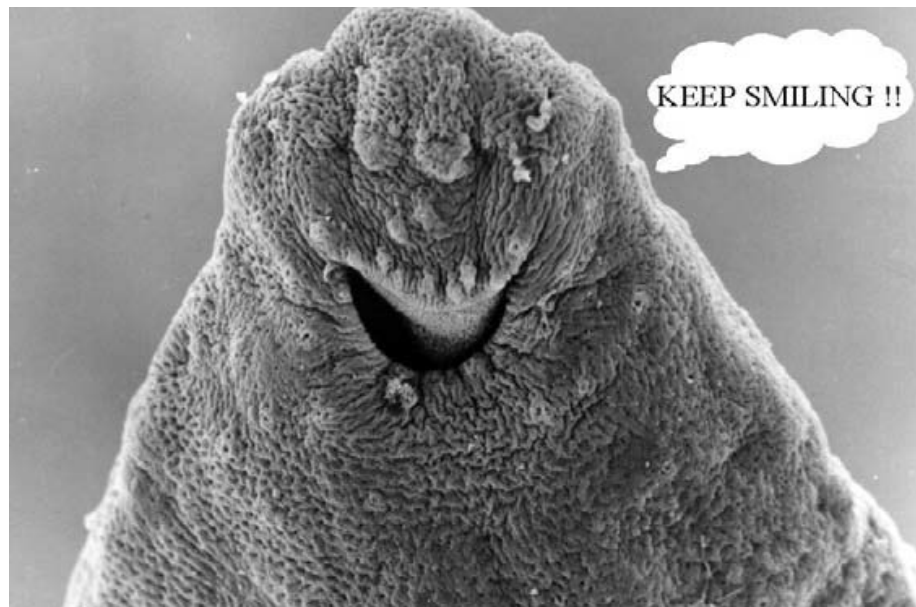
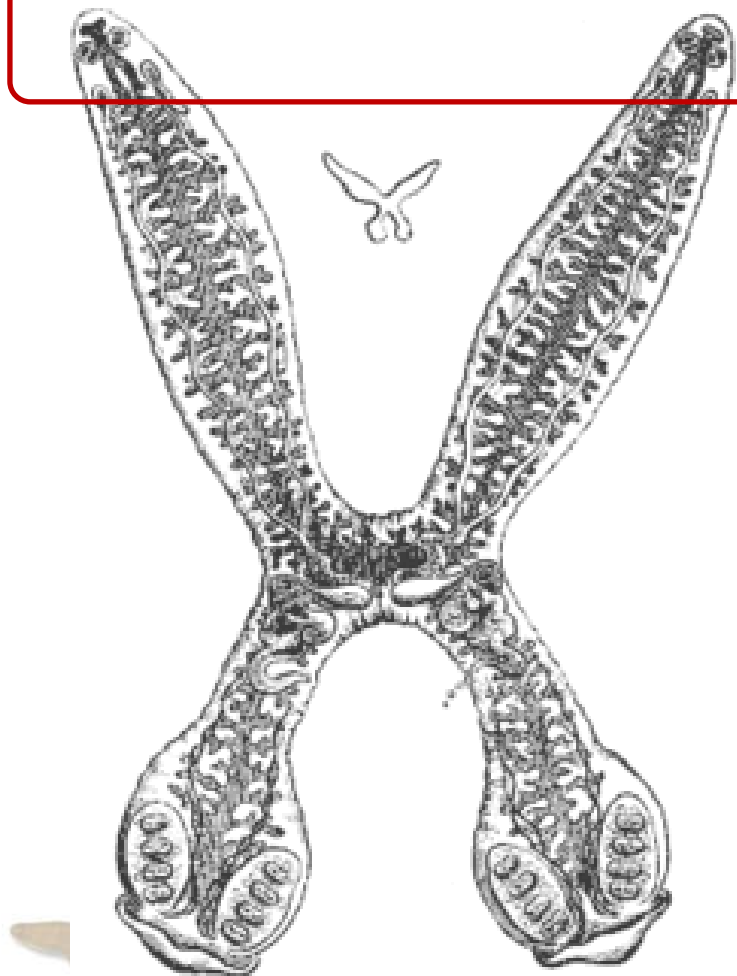
SYSTÉM

3

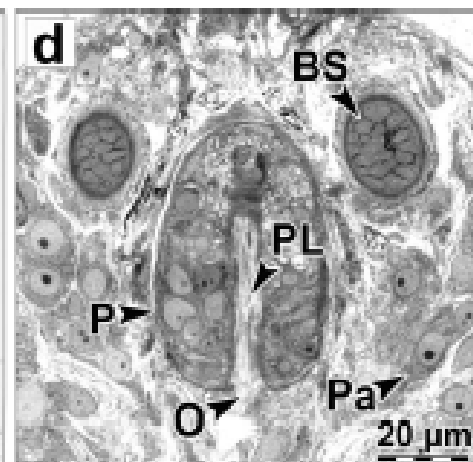
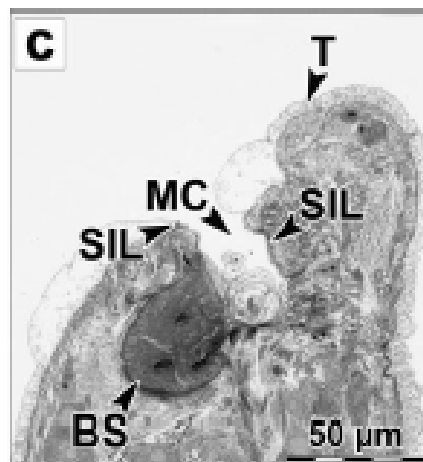


PŘÍCHYTNÝ APARÁT

- Polypisthocotylea - PROHAPTOR



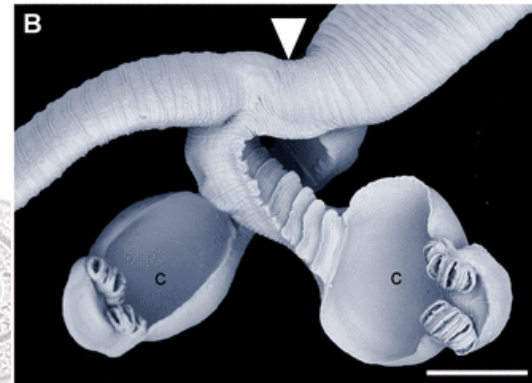
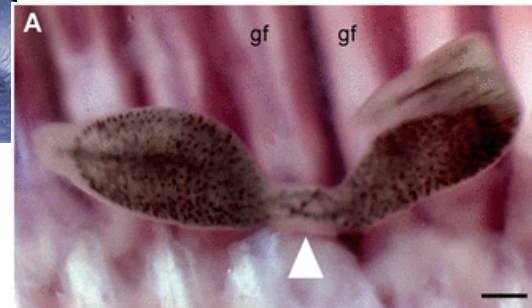
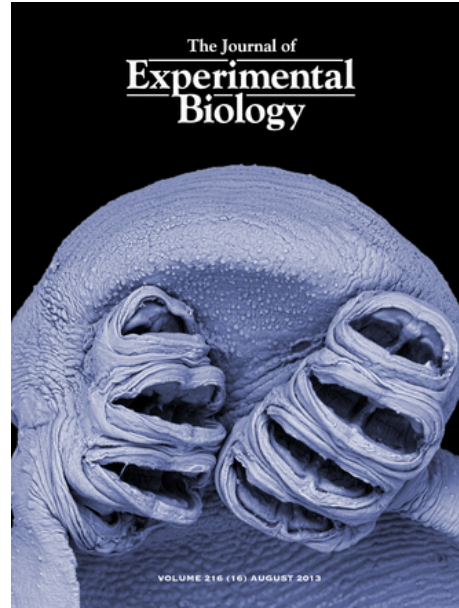
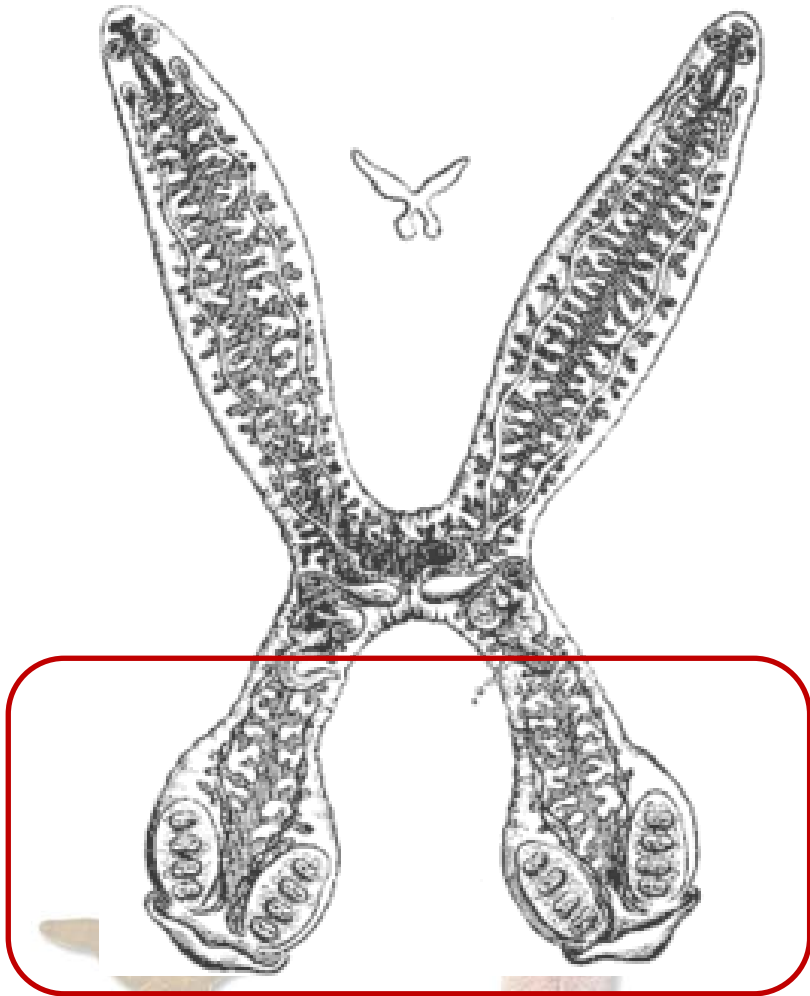
Hodová. 2008, disertační práce



PŘÍCHYTNÝ APARÁT

3

- Polypisthocotylea - OPISTHAPTOR



SYSTÉM - Polyopisthocotylea

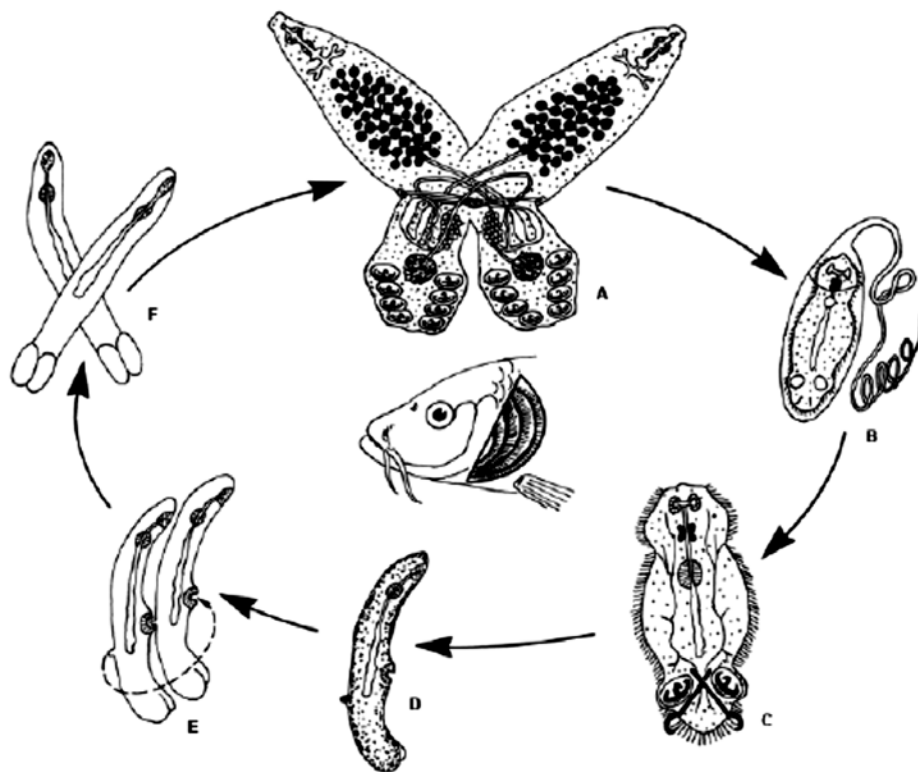
• rod *Diplozoon* TISK CVIČENÍ (KLÍČ POD HYPERTEXTOVÝM ODKAZEM)

- velikost cca až 1 cm
- složitější ontogeneze

Obr. 4. Životní cyklus vejcorodého druhu *Diplozoon paradoxum*. (A) Dospělý jedinec parazitující na žábách ryb; (B) vajíčko s filamentem a larvou onkomiracidium uvnitř; (C) volně plovoucí onkomiracidium; (D) po přichycení na žábách onkomiracidium metamorfuje na diporpu; (E,F) párování diporpu na hostiteli a dospívání parazita (upraveno podle Mehlhorna, 2004).



Ernst Hackel 1834-1919



• rod *Diplozoon*

- základní odlišnosti

Diplozooni na první pohled:

Abramis brama

Diplozoon paradoxum

Haptor rozdělen na tři části – 1. úzká s gonádami;
2. miskovitá rozšířenina, u živého červa velmi dobře vidět;
3. svorky



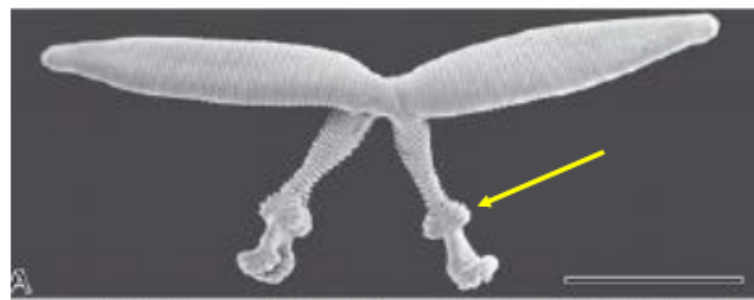
Miskovitá rozšířenina

Cyprinus carpio

Eudiplozoon nipponicum

Haptor s výrazným rýhováním regimentu, rozdělen na tři části –

1. úzká s gonádami;
2. trojúhelníková rozšířenina, u živého červa velmi dobře vidět;
3. svorky - bývá „ohnuté“ dorzálně



• rod *Diplozoon*

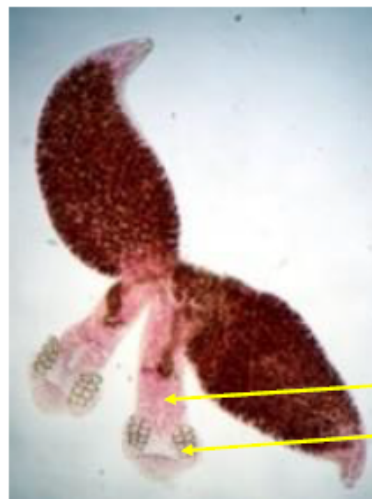
- základní odlišnosti

Ostatní druhy kaprovitých ryb

Rod *Paradiplozoon*

Haptor bez výrazného rýhování, rozdělen na dvě části –

1. úzká s gonádami;
2. část se svorkami – konec těla za svorkami může být „ohnutý“ dorzálně



Žádná rozšířenina
u rodu *Paradiplozoon*

Střední háček hledej tady – délka těla SH je znak taxonomicky stabilní
(a je malý – od 18 do 36 µm u různých druhů)

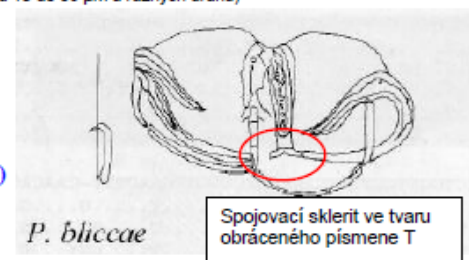
Rod *Paradiplozoon* – validní druhy v Evropě,
u nás potvrzené molekulárně

Paradiplozoon bliccae *Blicca bjoerkna* (cejnek malý)

<i>P. pavlovskii</i>	<i>Aspius aspius</i> (bolen dravý)
<i>P. megan</i>	<i>Leuciscus cephalus</i> (jelec tloušť)
<i>P. nagibinae</i>	<i>Abramis ballerus</i> (cejn sinný)
<i>P. sapae</i>	<i>Abramis sapae</i> (cejn perleťový)

Z těchto červů se musí udělat preparát svorek do GAPu

nebo do 4% form : glycerol (1:1), změřit střední háček a zjistit tvar ukončení předního konce střední destičky (různý tvar „rybího ocásku“) a délku a šířku předních spojovacích skleritů svorky (poměrově) – viz přiložená publikace



P. bliccae

Spojovací sklerit ve tvaru
obráteného písmene T

P. homoion – popsán z *Rutilus rutilus* a *Gobio gobio*, generalista

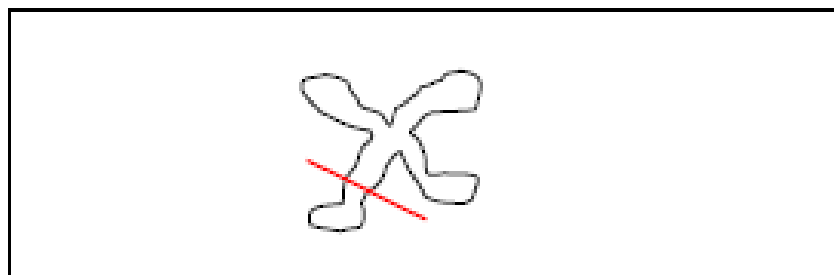
Nalezený na všech výše uvedených druzích ryb včetně kapra a cejna. Musí se udělat preparát svorek do GAPu nebo do 4% form : glycerol (1:1), změřit střední háček a zjistit tvar předních spojovacích skleritů svorky – nejlépe nakreslit přes kreslicí zařízení. Nebo vyfotit detail svorky a poslat



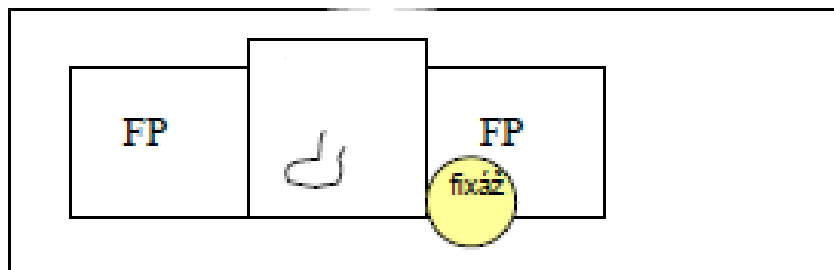
• rod *Diplozoon*

- základní odlišnosti

Jak se dělá preparát svorek



Do kapky vody dát červa
Odříznout opisthaptor se svorkama
Zbytek těla může na DNA



Vodu odsávat filtračním papírkem (FP)
z obou stran tak dlouho, až noha
praskne a svorky a střední háček se
položí do jedné roviny
Pak se k hraně krycího skla přikápně
fixáz
Nemáte-li GAP, plnohodnotně ho
nahradí směs 4% form. : glycerol 1 : 1

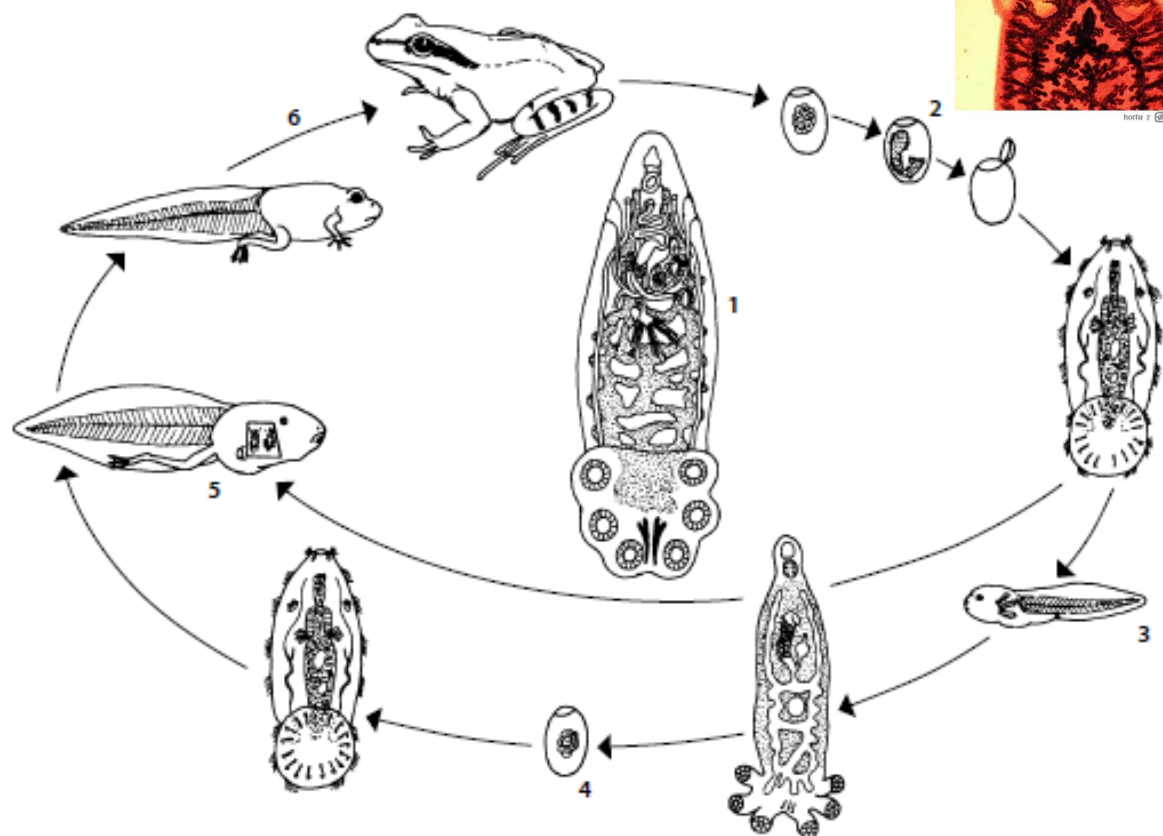


SYSTÉM - Polyopisthocotylea

- rod *Polystoma*

- velikost cca až 1 cm
- paraziti žab - dospělci v močovém měchýři
- adaptace na reprodukční cyklus hostitele - vytváří dvě generace

- *Polystoma integerrimum*



Obr. 3-29 Monogenea. Životní cyklus *Polystoma integerrimum*. 1 – dospělý jedinec, 2 – líhnutí onkomiracidia z vajíčka, 3 – napadení mladých pulců s vnějšími žábrami a vývoj progenetických monogeneí, 4 – produkce nové generace (vajíčka a onkomiracidia), 5 – napadení vnitřních žaber starších pulců, 6 – po metamorfóze pulců na dospělé žáby migrují paraziti do močového měchýře (dle Mehlhorn a kol., 2001, upraveno).



Table 1
Anuran polystomatids: comparison of life-history characteristics

Parasite	<i>Protopolystoma xenopodis</i>	<i>Polystoma integerrimum</i>	<i>Pseudodiplorchis americanus</i>
Host	<i>Xenopus</i> (aquatic)	<i>Rana</i> (mesic)	<i>Scaphiopus</i> (arid adapted)
Transmission process			
Invasion target	All stages post-metamorphosis	Tadpole only	Adult only
Pre-reproductive period	3 months	3 years	1 year
Maximum life span	2.5 years	6 years	4 years
Transmission within host population	Continuous	Once/year (several weeks)	Once/year (<24 h)
Frequency of invasion/individual	Continuous	Once/lifetime ^a	Once/year
Maximum output of infective stages/parasite/year	3650 ^b	2700	350 ^c
Transmission outcome			
Prevalence (%)	40	12–25	50
Mean intensity reproducing worms	1–2	1–2	5–6
Maximum intensity reproducing worms	6	5	30

^a Possibility of additional invasion via neotenic cycle. Possibility of internal autoinfection. (Data from Lees, 1962; Combes, 1968, 1972; Tinsley, 1983).

^b Calculated as 10 e/w/d (Tinsley, 1995; Jackson and Tinsley, 2001).

^c Larvae complete development in utero (Tinsley, 1995, 1999).

R.C. Tinsley, J.A. Jackson / International Journal for Parasitology 32 (2002) 353–365



• rod *Polystoma*

Polystoma integerrimum
(*Rana temporaria*)



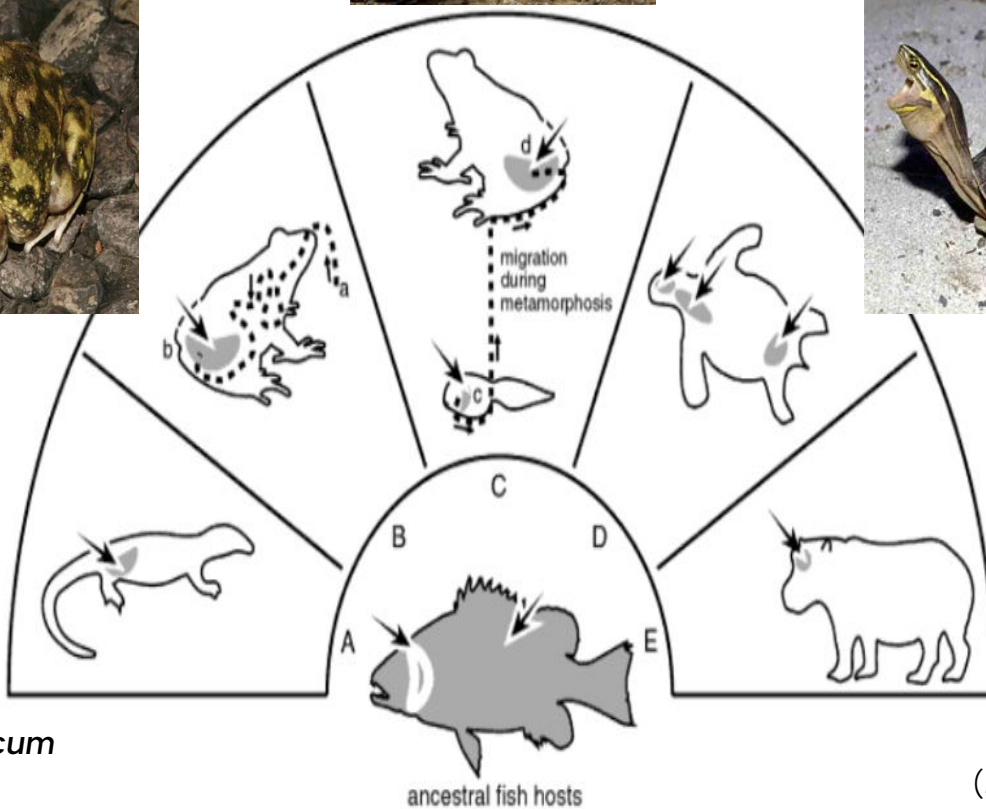
Pseudodiplorchis americanus
(*Scaphiopus couchii*)



Neopolystoma liewi
(*Cuora amboinensis*)



Pseudopolystoma dendriticum
(*Andrias japonicus*)



Oculotrema hippopotami
(*Hippopotamus amphibius*)

- *Protopolystoma xenopodis*
- dospělci v močovém měchýři žab
- sekvenace genomu (2014)

Parasite 2014, 21, 20
© M. Theunissen et al., published by EDP Sciences, 2014
DOI: 10.1051/parasite/2014020

PARASITE
Available online at:
www.parasite-journal.org

RESEARCH ARTICLE

OPEN ACCESS

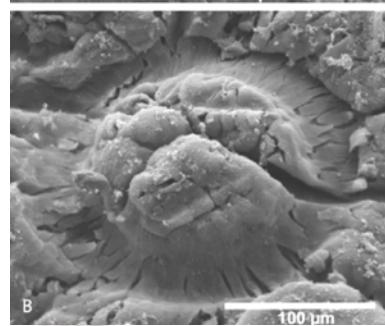
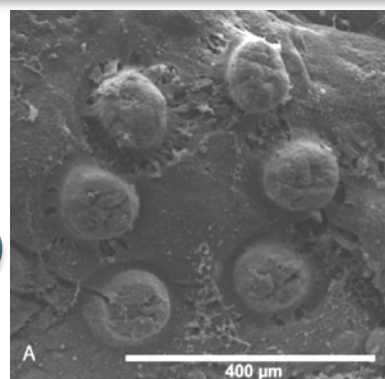
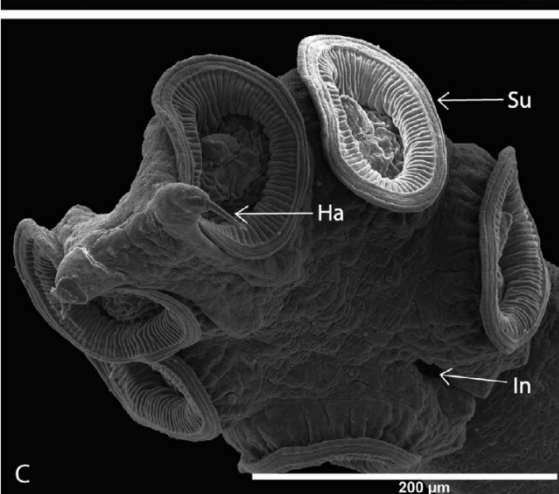
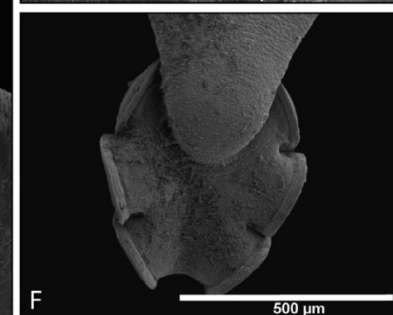
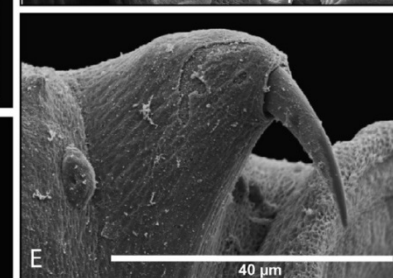
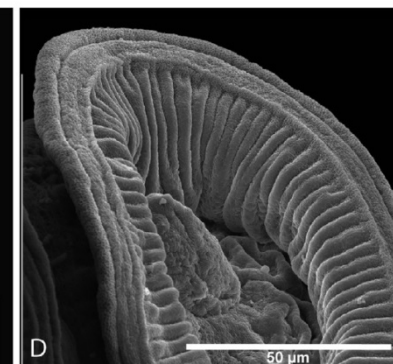
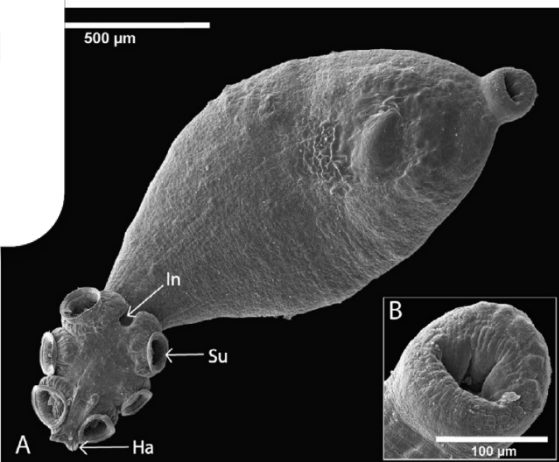
The morphology and attachment of *Protopolystoma xenopodis* (Monogenea: Polystomatidae) infecting the African clawed frog *Xenopus laevis*

Maxine Theunissen¹, Louwrens Tiedt², and Louis H. Du Preez^{1,*}



© Rune Midtgaard

500 µm



old_assemblies/	02.06.14 0:00:00
Onchocerca flexuosa_v1.0_4.fa.gz	25.2 MB 02.06.14 0:00:00
Onchocerca ochengi_v1.0_4.fa.gz	32.9 MB 02.06.14 0:00:00
Onchocerca volvulus_v3.0_4.fa.gz	27.0 MB 02.06.14 0:00:00
Parascaris equorum_v1.0_4.fa.gz	46.2 MB 02.06.14 0:00:00
Parastrongyloides trichosuri_v2.0_4.fa.gz	12.1 MB 02.06.14 0:00:00
Protopolystoma xenopodis_v1.0_4.fa.gz	182 MB 02.06.14 0:00:00
README	2.2 kB 19.06.14 0:00:00
Rhabditophanes_sp_v2.0_4.fa.gz	13.7 MB 02.06.14 0:00:00
Sanguinicola cf. nermis_v1.0.fa.gz	52.1 MB 24.01.13 0:00:00
Schistocephalus solidus_v1.5_4.fa.gz	154 MB 02.06.14 0:00:00
Schistosoma bovis_v1.0.fa.gz	99.3 MB 24.01.13 0:00:00
Schistosoma curassoni_v1.0_4.fa.gz	101 MB 02.06.14 0:00:00
Schistosoma guineensis_v1.0.fa.gz	89.7 MB 24.01.13 0:00:00
Schistosoma intercalatum_v1.0.fa.gz	95.6 MB 24.01.13 0:00:00
Schistosoma margrebowiei_v1.5_4.fa.gz	108 MB 02.06.14 0:00:00
Schistosoma mattheei_v1.0_4.fa.gz	98.9 MB 02.06.14 0:00:00
Schistosoma rodhaini_v1.0_4.fa.gz	99.7 MB 02.06.14 0:00:00
Schistosomatium douthitti_v1.0.fa.gz	174 MB 11.09.13 0:00:00

SYSTÉM - Polyopisthocotylea

- Diclidophoridae
- rod *Diclidophora*
 - „hlubokomořské Monogenea“
 - vysoký stupeň hostitelské specifity velikost
 - žáby
 - *Diclidophora merlangi* - hostitel atlantická treska (*Gadus morhua*)

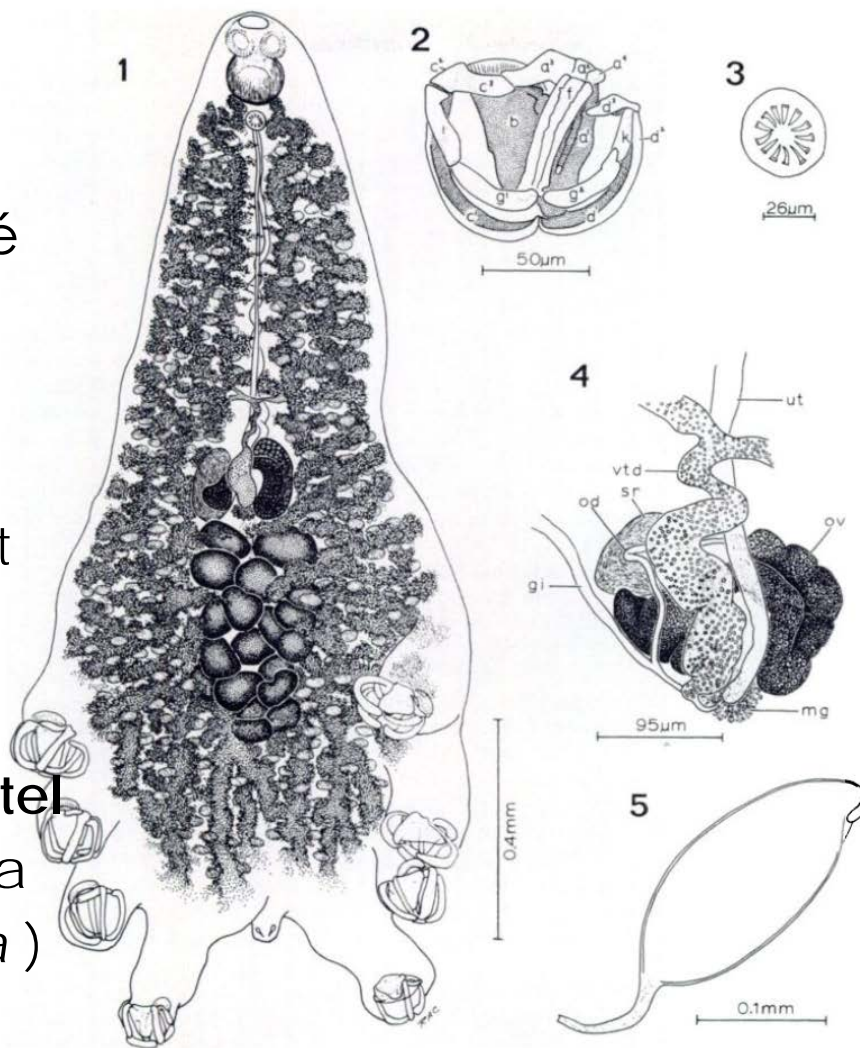


FIGURE 1. *Diclidophora nezumiae* sp. n., holotype. FIGURE 2. Clamp, posterior view. FIGURE 3. Cirrus armature. FIGURE 4. Detail of female reproductive system: gi, genital-intestinal canal; mg, genital gland; od, oviduct; ov, ovary; sr, seminal receptacle; ut, uterus; vtd, vitelline duct. FIGURE 5. Egg, in utero.

Diclidophora sp.

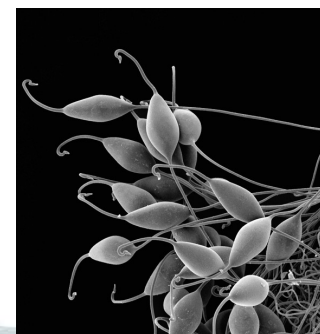
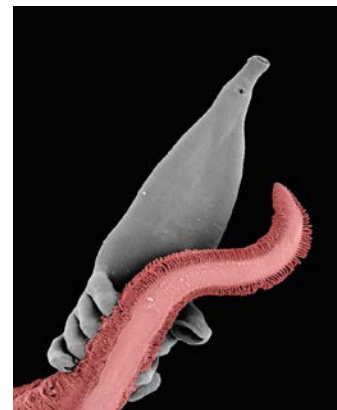


foto J. Bulantová

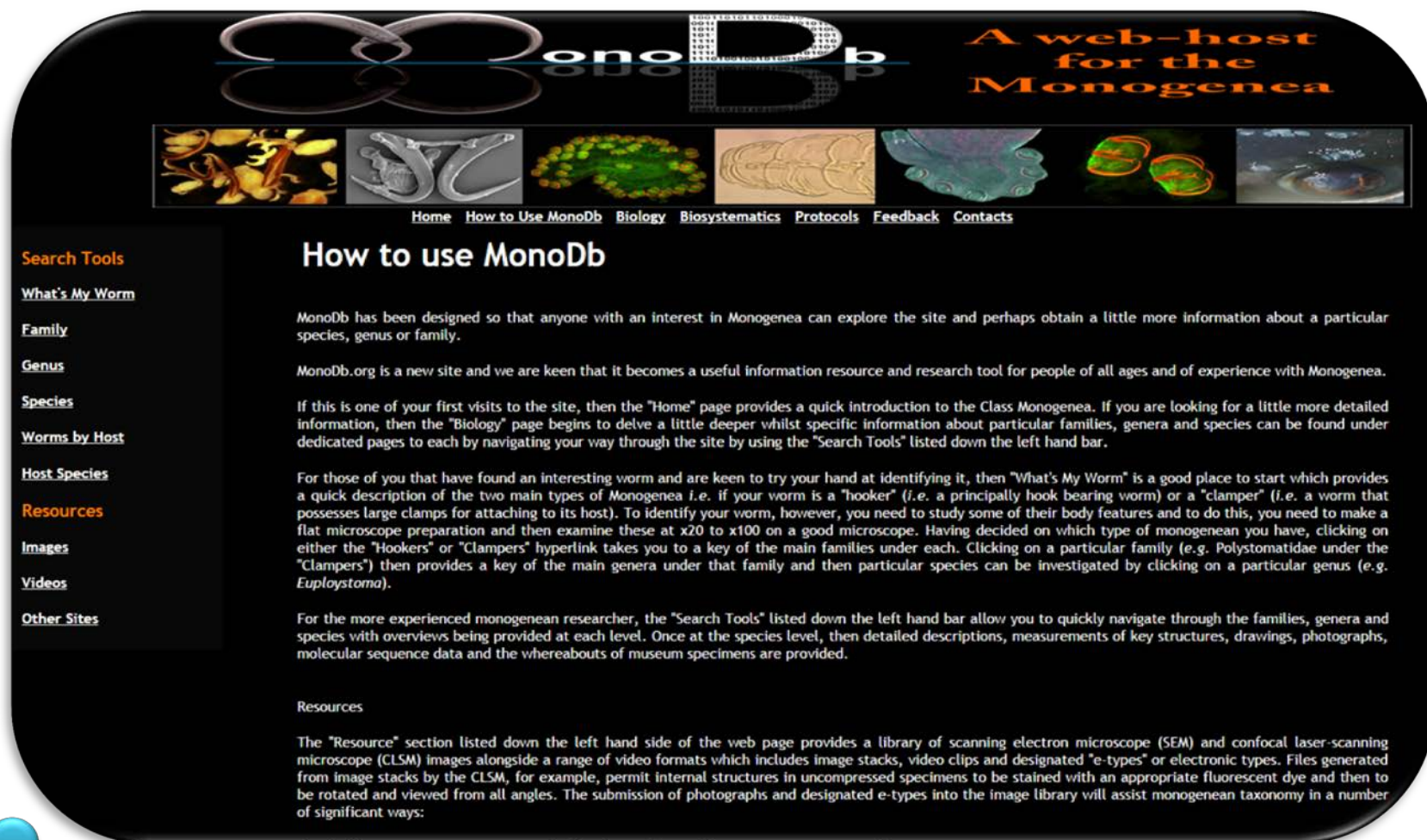
LÉČBA

Pro léčbu infikovaných ryb se aplikují krátkodobé nebo dlouhodobé koupele (např. u akvarijských ryb) různého složení (slabé roztoky amoniaku, formaldehydu, trichlorfonu, chloridu sodného apod.). Z hlediska prevence je nezbytné dbát na parazitologickou kontrolu nově vysazovaných ryb (nebezpečí introdukce dospělých parazitů) a vhodnou úpravu krmení, substrátu a vody (nebezpečí introdukce vajíček monogeneí).

Horák a Volf 2007



ZDROJ INFORMACÍ



MonDb
A web-host for the Monogenea

Home How to Use MonDb Biology Biosystematics Protocols Feedback Contacts

Search Tools
[What's My Worm](#)
[Family](#)
[Genus](#)
[Species](#)
[Worms by Host](#)
[Host Species](#)
[Resources](#)
[Images](#)
[Videos](#)
[Other Sites](#)

How to use MonDb

MonDb has been designed so that anyone with an interest in Monogenea can explore the site and perhaps obtain a little more information about a particular species, genus or family.

MonDb.org is a new site and we are keen that it becomes a useful information resource and research tool for people of all ages and of experience with Monogenea.

If this is one of your first visits to the site, then the "Home" page provides a quick introduction to the Class Monogenea. If you are looking for a little more detailed information, then the "Biology" page begins to delve a little deeper whilst specific information about particular families, genera and species can be found under dedicated pages to each by navigating your way through the site by using the "Search Tools" listed down the left hand bar.

For those of you that have found an interesting worm and are keen to try your hand at identifying it, then "What's My Worm" is a good place to start which provides a quick description of the two main types of Monogenea *i.e.* if your worm is a "hooker" (*i.e.* a principally hook bearing worm) or a "clamper" (*i.e.* a worm that possesses large clamps for attaching to its host). To identify your worm, however, you need to study some of their body features and to do this, you need to make a flat microscope preparation and then examine these at x20 to x100 on a good microscope. Having decided on which type of monogenean you have, clicking on either the "Hookers" or "Clampers" hyperlink takes you to a key of the main families under each. Clicking on a particular family (*e.g.* Polystomatidae under the "Clampers") then provides a key of the main genera under that family and then particular species can be investigated by clicking on a particular genus (*e.g.* *Euploystoma*).

For the more experienced monogenean researcher, the "Search Tools" listed down the left hand bar allow you to quickly navigate through the families, genera and species with overviews being provided at each level. Once at the species level, then detailed descriptions, measurements of key structures, drawings, photographs, molecular sequence data and the whereabouts of museum specimens are provided.

Resources

The "Resource" section listed down the left hand side of the web page provides a library of scanning electron microscope (SEM) and confocal laser-scanning microscope (CLSM) images alongside a range of video formats which includes image stacks, video clips and designated "e-types" or electronic types. Files generated from image stacks by the CLSM, for example, permit internal structures in uncompressed specimens to be stained with an appropriate fluorescent dye and then to be rotated and viewed from all angles. The submission of photographs and designated e-types into the image library will assist monogenean taxonomy in a number of significant ways:



bonus

PŘÍPRAVA PREPARÁTŮ Z MONOHENEÍ

EVA ŘEHULKOVÁ



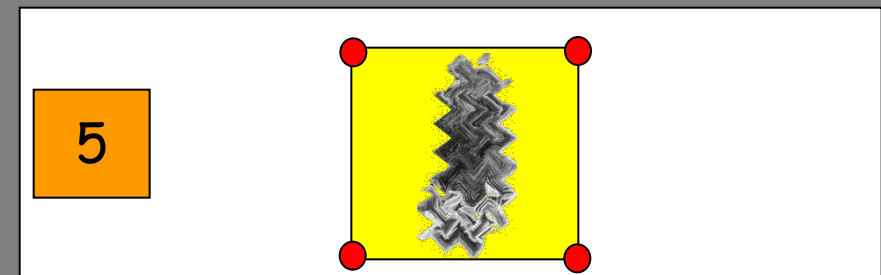
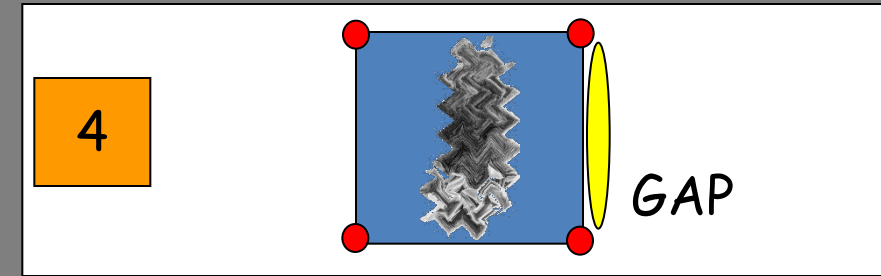
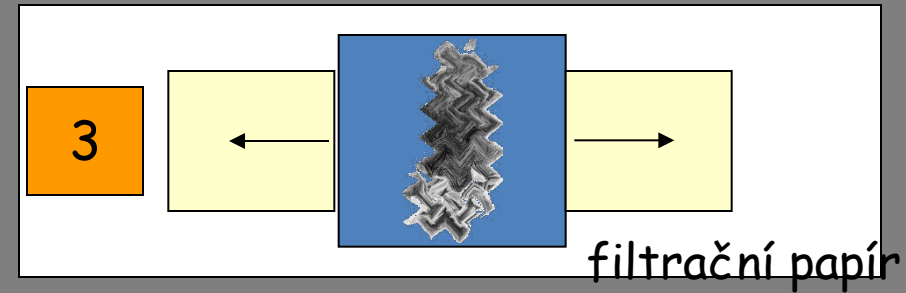
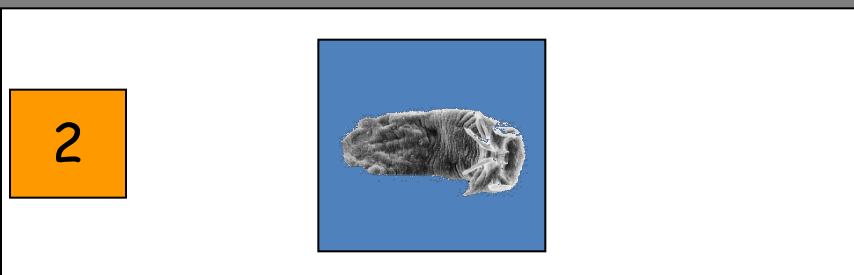
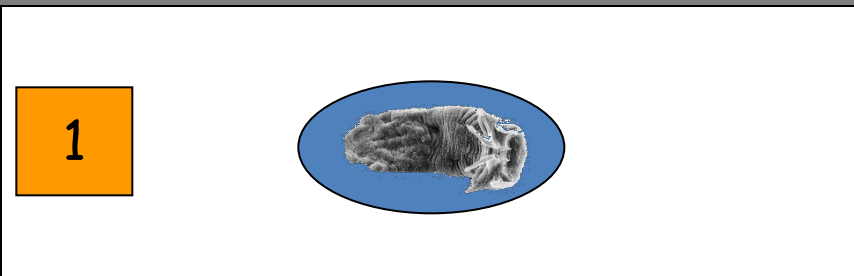
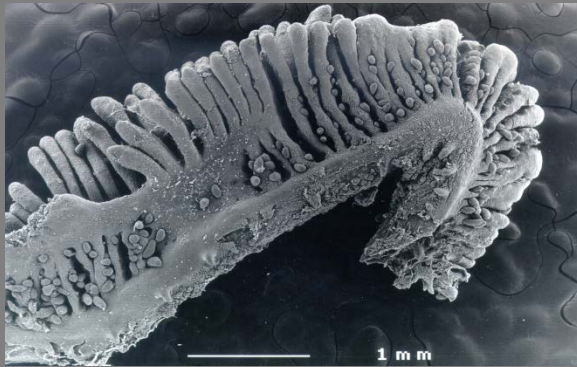
Příprava cizopasníků pro druhovou determinaci

MONOGENEA

3

Studium tvrdých sklerotizovaných částí → prasknutí tělní stěny parazita

- **fixace**: GAP = směs glycerinu a nasyceného roztoku pikranu amonného (1 : 1)



Příprava cizopasníků pro druhovou determinaci

3

MONOGENEA

➤ Studium tvrdých sklerotizovaných částí

- **fixace**: směs glycerinu a nasyceného roztoku pikranu amonného (1 :1)
- **tvorba trvalých preparátů**: převedení do kanadského balzámu



Olympus BX 50: Fázový kontrast



Olympus BX 50: Nomarského kontrast

Příprava cizopasníků pro druhovou determinaci

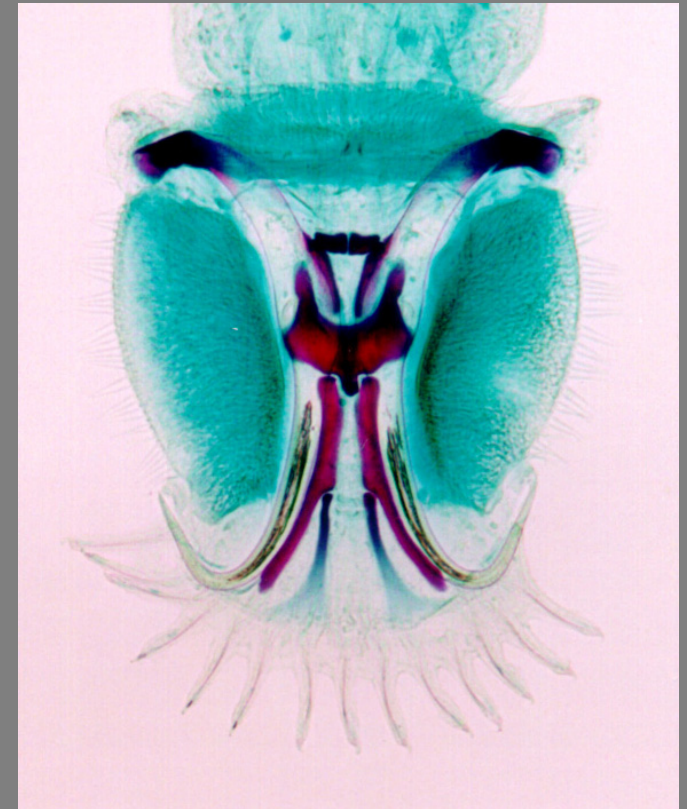
3

MONOGENEA

➤ Studium měkkých orgánů a vnitřních struktur těla

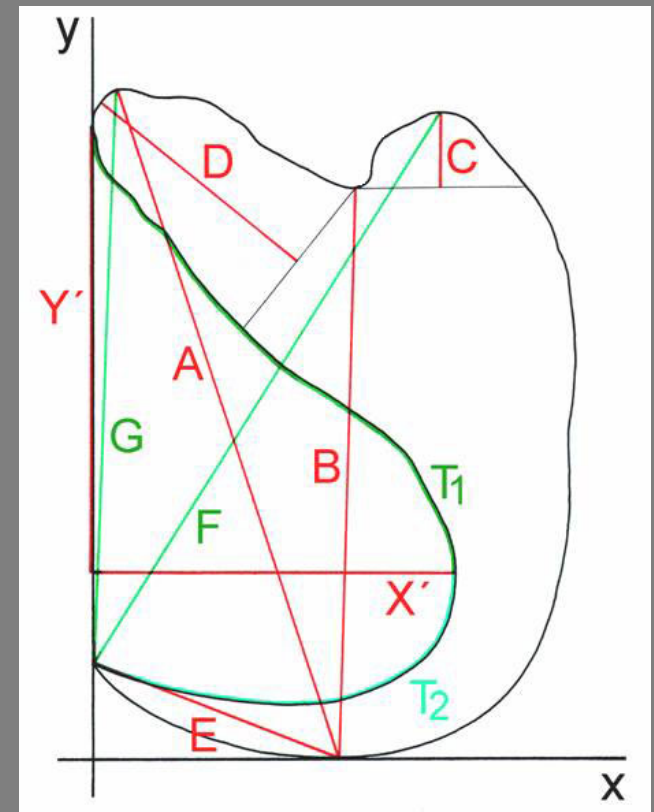
- **fixace**: 4% formaldehyd, AFA, 4% paraformaldehyd v 0,2M fosfátovém pufru

- **barvení**: Gomoriho trichrom, Harrisův hematoxylin, Mayersův acetokarmín, Semichonův karmín, železitý acetokarmín



Determinace nalezených cizopasníků

- **Mikroskopická technika:** Olympus BX 50 (fázový kontrast a diferenciální kontrast Nomarského)
- **Dokumentace:**
 - kresby - kreslicí zařízení a studené světlo firmy Olympus
 - mikrofotografie - PM-10
- **Měření morfometrických znaků:**
digitální analýza obrazu (MicroImage 4.0. pro Windows 95)



SKANOVACÍ ELEKTRONOVÁ MIKROSKOPIE

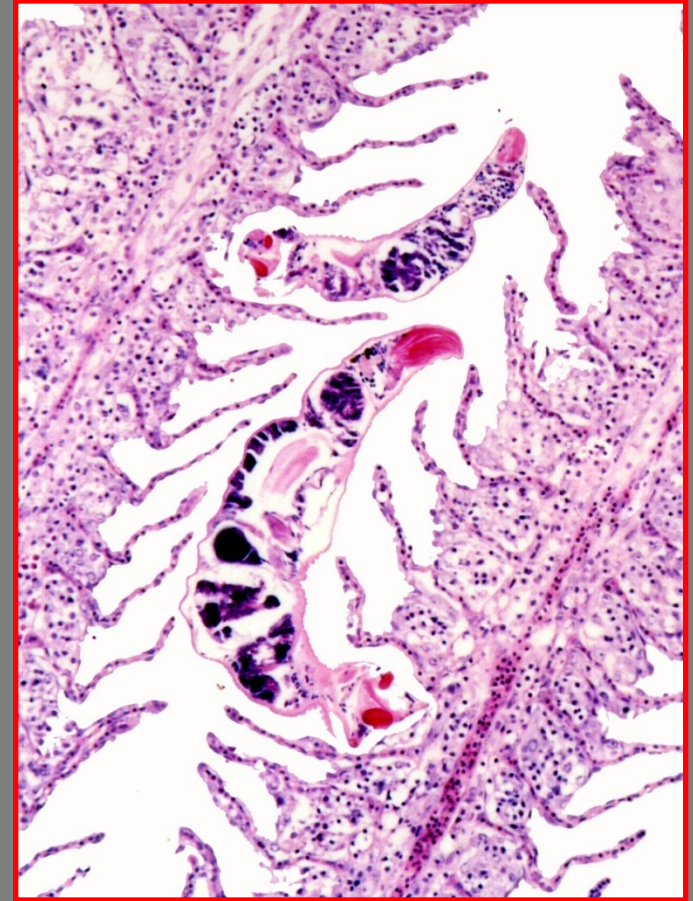
3

- Fixace
 - Glutaraldehydová fixáž s kakodylátovým pufrem
 - Paraformaldehyd - glutaraldehydová fixáž
 - Fixace horkým formaldehydem
- Vyprání objektů - 0,1 M pufr
- Odvodnění - vzestupná alkohol-acetonová řada
- Vysoušení při kritickém bodě - tekutý CO_2
- Umístění objektů na terčíky a pokovení zlatem
- Jeol JSM 6300



HISTOLOGIE

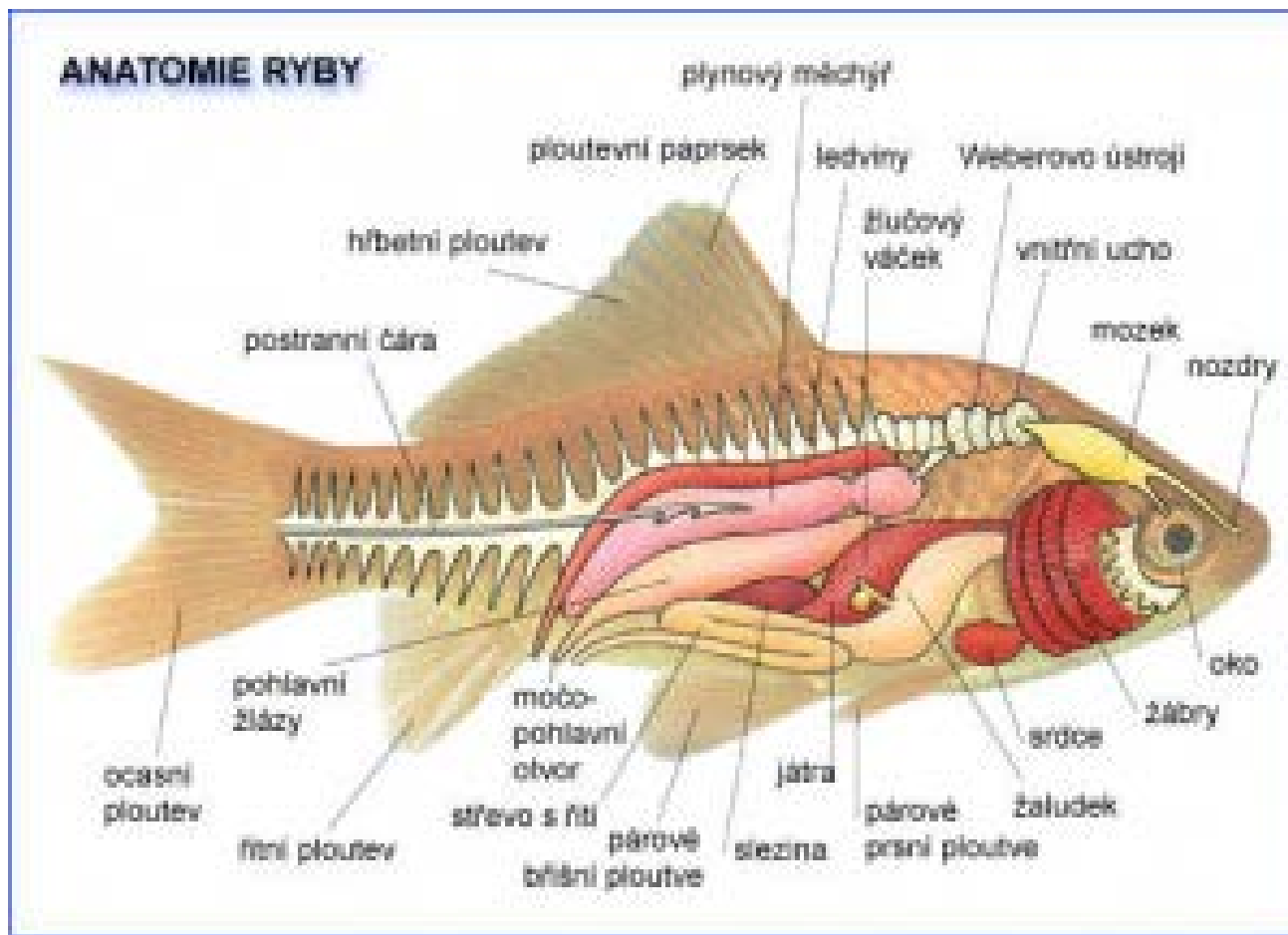
- Fixace: modifikovaný fixační roztok dle Davidsona
- Příprava tkáňových bločků: klasická parafínová technika, Histoplast S
- Barvení histologických řezů: Hematoxylin-Eozin
- Odvodnění, projasnění a montování do kanadského balzámu



LITERATURA



PARAZITOLOGICKÁ PITVA RYB



PREPARÁTY - TISK CVIČENÍ (VŠE Z BRNA E. ŘEHULKOVÁ)

3

***Entobdella* sp.** – (Monoopisthocotylea, Capsalidae), h. *Solea solea* (platýz)

***Haliotrema* sp.** - (Monoopisthocotylea, Dactylogyridae), h. korálové ryby

***Ancyrocephalus* sp.** - (Monoopisthocotylea, Dactylogyridae), h. *Sander lucioperca* (candát)

***Teraonchus* sp.** - (Monoopisthocotylea, Dactylogyridae), h. *Esox lucius* (štika obecná)

Dactylogyrus coartatus - (Monoopisthocotylea, Dactylogyridae), h. *Balantiocheilos melanopterus* (parmička žraločí)

***Macrogyrodactylus* sp.** - (Monoopisthocotylea, Gyrodactylidae), sladkovodní ryby (Afrika)

Thylacicleidus brunensis - (Monoopisthocotylea, Dactylogyridae), h. *Tetraodon nigroviridis* (čtverzubec zelený)

***Udonella* sp.** – (Monoopisthocotylea, Udonellidae), hyperparasit, coppoda
(*Lepeophtheirus salmonis*) parazitujičích na rybách

***Allopyragrphorus* sp.** (Polyopisthocotylea), h. *Trachinotus*

***Sparicotyle* sp.** (Polyopisthocotylea, Microcotylinae), h. *Sparus aurata*

Octomacrum europaeum (Polyopisthocotylea, Mazocraeinae), h. *Alburnoides bipunctatus* (ouklejka pruhovaná)

Diplozoon paradoxum (Polyopisthocotylea), h. *Abramis brama*

Eudiplozoon nipponicum (Polyopisthocotylea), h. *Cyprinus carpio*

Polystoma integerrimum (Polyopisthocotylea), h. žáby

***Diclidophora* sp.** (Polyopisthocotylea), h. *Trisopterus* (treska)

***Heterobothrium* sp.** - (Polyopisthocotylea), h. př. *Tetraodon lineatus* (čtverzubec)

Diplocotyle saginata- (Polyopisthocotylea), h. př. *Tetraodon lineatus* (čtverzubec)