

**JIHOČESKÁ UNIVERZITA V ČESKÝCH BUDĚJOVICÍCH  
PŘÍRODOVĚDECKÁ FAKULTA**

# **Střevní paraziti obratlovců na Svalbardu**

Diplomová práce

**Bc. Eva Myšková**

**Školitel: Doc. RNDr. Oleg Ditrich, CSc.**

**Školitel specialista, konzultant: MVDr. Jana Kvičerová, Ph.D.**

České Budějovice 2014

**Myšková, E., 2014:** Střevní paraziti obratlovců na Svalbardu. [Intestinal parasites of vertebrates in Svalbard. Mgr. Thesis, in Czech.] – 66 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

The study was aimed to obtain basic information about the distribution of intestinal parasites of mammals and birds in Svalbard. Faeces of different species were used to detect intestinal parasites. All samples were collected during two seasons and examined by microscopic methods and molecular diagnostic was used for detection of microsporidia, cryptosporidia, coccidia and giardia.

**Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracovala samostatně pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu citované literatury.**

**Prohlašuji, že v souladu s § 47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdanému textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem na odhalování plagiátů.**

**České Budějovice, 23.4.2014**

**Eva Myšková**

Děkuji školiteli své diplomové práce doc. RNDr. Olegu Ditrichovi, CSc. a MVDr. Janě Kvičerové, Ph.D., za jejich cenné rady, ochotu a hlavně trpělivost při vedení této práce. Můj neskonalý dík patří Tomáši Tymlovi a Jindře Šíchové za poskytnutí fotografií a celému osazenstvu Laboratoře veterinární a medicínské protistologie za jejich rady a vytvoření příjemného pracovního prostředí. Také bych chtěla poděkovat všem co mi s chutí i nechtutí pomohli se sběrem materiálu a byli se mnou i s mými vzorky na polární stanici. Můj dík také patří spolubydlícím a mé sestře, kteří mě museli snášet během zpracovávání této práce. Především bych ale chtěla poděkovat za podporu z grantů No. LM2010009 CzechPolar (MŠMT ČR) and CZ.1.07/2.2.00/28.0190 (EU), která mi umožnila práci na Špicberkách.

# OBSAH

1. ÚVOD .....	1
1.1. Paraziti v severském ekosystému .....	2
1.2. Studování hostitelé .....	4
1.2.1. Savci .....	4
1.2.2. Ptáci .....	8
1.3. Studování hostitelé – Foto dokumentace .....	13
2. CÍLE PRÁCE .....	20
3. MATERIÁL A METODY .....	21
3.1. Lokalita .....	21
3.2. Materiál .....	21
3.3. Mikroskopická diagnostika .....	23
3.3.1. Sedimentace M.I.F.C. ....	23
3.3.2. Sedimentace AMS .....	24
3.3.3. Flotace dle Sheathera .....	24
3.4. Molekulární diagnostika .....	25
3.4.1. Izolace dna z trusu – kryptosporidie, mikrosporidie a giardie .....	25
3.4.2. Izolace dna z trusu – kokcidie .....	25
3.4.3. Polymerázová řetězová reakce (PCR) .....	26
3.4.4. Gelová elektroforéza .....	30
3.4.5. Sekvenace .....	30
3.4.6. Fylogenetické analýzy .....	30
4. VÝSLEDKY .....	32
4.1. Savci .....	33
4.2. Ptáci .....	37
4.3. Fotografická dokumentace .....	38
4.4. Molekulární data .....	45
5. DISKUZE .....	49
6. ZÁVĚR .....	54
7. LITERATURA .....	55

**PŘÍLOHA I – Paraziti soba polárního**

**PŘÍLOHA II – Paraziti lišky polární**

**PŘÍLOHA III – Paraziti medvědů**

**PŘÍLOHA IV – Kokcidie soba polárního**

**PŘÍLOHA V – Kokcidie lišky polární**

**PŘÍLOHA VI – Kokcidie hus a bernešek**

# 1. ÚVOD

Severní polární oblasti sestávají z krajin jedinečné krásy s typickou faunou a flórou a řídkým lidským osídlením. Polární oblasti zahrnují území od hranic Subarktidy (nad 50° s. š.) až k severnímu pólu, a jejich biotopy jsou charakteristické svou relativní jednoduchostí, nízkou diverzitou s krátkými potravními řetězci a limitovanou pružností a kapacitou pro adaptaci na klimatické změny (Callaghan et al. 2004, Hoberg et al. 2012). V relativně jednoduchém severském ekosystému je možné sledovat dopady klimatických změn na infekční onemocnění volně žijících zvířat, zbavené mnoha matoucích faktorů, které komplikují studie v tropech. Arktický ekosystém je tak významným prostředím pro studium biotických, abiotických a historických faktorů, které ovlivňují rozšíření druhů, průběh vývojových cyklů a evoluci patogenů zvířat i člověka. To je umožněno zejména díky tomu, že klimatické změny zde mají rychlý dopad s viditelnými fyzikálními i biologickými odpověďmi v krátkém časovém úseku (Hoberg et al. 2008, Kutz et al. 2009).

Paraziti jsou celosvětově rozšíření a jsou důležitou součástí terestriálních, sladkovodních i mořských ekosystémů včetně arktických, ale jen zřídka jsou zahrnuti do celkového výčtu biodiverzity ekosystémů. Všechna zvířata v cirkumpolárním regionu jsou vnímavá k infekci jednobuněčnými i mnohobuněčnými parazity. S klesající diverzitou možných hostitelů v závislosti na zvyšující se zeměpisné šířce se nabízí předpoklad, že parazitofauna v těchto oblastech nebude velmi početná, pokud jde o druhové zastoupení. V případě Svalbardu je tato hypotéza posílena faktem, že Svalbard je skupinou ostrovů vzdálených okolo 650 km od nejbližší pevniny (pobřeží Norska) (Bye a Halvorsen 1983).

Porozumění roli a vlivu parazitů v severském ekosystému je spojené se studiem historie, biogeografie, biodiverzity a vztahů mezi rybami, ptáky, savci, domácími zvířaty a člověkem (Hoberg et al. 2003). V Arktidě často neexistují základní a dlouhodobé záznamy o diverzitě parazitů (početnost nebo hostitelské a geografické rozšíření), a to dokonce i u velmi dobře známých hostitelských druhů živočichů (Hoberg a Kutz 2013). Stále tak existují nevyřešené problémy v oblasti taxonomie, distribuce druhů a populací, spojení s hostitelem/hostiteli, patogenity a šíření jednotlivých infekčních agens. Tyto informace jsou ovšem důležité pro předpovědi, jak klimatické změny mohou ovlivňovat ekologii a chování hostitelů, a tím i rezistenci vůči patogenům/infekcím, které mohou mít vliv na celkové zdraví arktického ekosystému (Hoberg a Kutz 2013, Hoberg et al. 2003, Jenkins et al. 2011, Kutz et al. 2009).

Koprologické studie jsou neinvazivním přístupem umožňujícím prozkoumat parazitární faunu obratlovců v severských oblastech. Tyto studie jsou logisticky snadno proveditelné i v odlehlých oblastech a nevyžadují zásah do populací hostitelů v chráněných územích. To je také důvod, proč byla vybrána tato forma sběru materiálu. Cílem této práce je rozšíření znalostí o arktickém parazitárním ekosystému.

## **1.1. Paraziti v severském ekosystému**

Paraziti patří mezi nejběžnější organismy na planetě a reprezentují zástupce všech skupin eukaryotických organismů. Paraziti vázaní v ekosystému, odhalují a vyprávějí příběhy o rozhodujících momentech, které se staly v evoluci, ekologii (potravní zvyklosti, interakce mezi hostitelskými druhy) a biogeografii hostitelských populací, druhů v a regionální fauně. Jako takové nám tyto organismy mohou říct o procesech biologických (invaze) a fyzikálních (klimatická proměnlivost), které pozorujeme v ekosystému ve vyšších zeměpisných šířkách. Paraziti mohou způsobit nemoc a smrt, ovlivnit dynamiku a regulovat hostitelskou populaci. Mohou také ovlivnit konkurenci mezi hostiteli, kteří určují strukturu komunity a v neposledním případě i přispět k vymření druhu (Hoberg a Kutz 2013).

Někteří paraziti mají přímé životní cykly, které zahrnují infekci definitivního hostitele, kde se dospělý parazit vyvíjí a reprodukuje. Infekční stádia se často vyskytují volně v prostředí, kde jsou vystavena okolní teplotě, vlhkosti, světlu (UV) a do dalšího hostitele se dostanou prostřednictvím kontaminované vody nebo potravy. Naproti tomu, paraziti s nepřímými životními cykly jsou charakterističtí vztahem predátora (definitivní hostitel) a kořisti (mezihostitel), kde se parazit pouze vyvíjí, nebo tyto cykly mohou zahrnovat vektory. Tyto životní cykly parazitů a přenos jsou přímo ovlivněny kolísáním množství a hustoty populace jak definitivního hostitele, tak mezihostitele (Hoberg et al. 2012, Hoberg a Kutz 2013).

Klima je důležitým faktorem v určení diverzity a množství parazitů, tak i v projevech nemocí, které způsobují. Dopad klimatických změn je největší v polárních oblastech. Ačkoliv klimatické změny mají také vliv i na temperát a tropické oblasti, tento jev je v nich zcela maskován lidskou zemědělskou činností (Dobson et al. 2008). Většina helmintů a protistů má část svého životního cyklu ve vnějším prostředí nebo v bezobratlém mezihostiteli. Vývoj a přežití těchto stádií je citlivé ke klimatickým změnám a to jak přímo, tak i ovlivněním množství, chování a distribuce mezihostitelů a vektorů (Kutz et al. 2009). Hlavním limitujícím faktorem je teplota. Ta rozhoduje o rozšíření a abundanci parazitů. Dalšími činiteli

jsou vlhkost, která zvyšuje úspěšnost vývoje nematodů, dále pak sezonalita, geografie, hostitelská diverzita a abundance. Mnoho severských parazitů je adaptováno na chladné podmínky a krátkou sezónu. Tato selektivní výhoda je favorizovala oproti jiným. Příkladem může být *Ostertagia gruehneri* (Trichostrongylida), která má vrchol přenosu v létě a produkce vajíček dramaticky klesá na podzim (v půlce října), kdy dojde téměř k zastavení vývoje larev v hostiteli a vývoj je obnoven až na jaře (konec května) (Hoar et al. 2012, Kutz et al. 2012, Molnár et al. 2013, van der Wal et al. 2000).

Problém změn klimatu a introdukce parazitů je předmětem stálého studia. Zajímavým příkladem je výskyt *Toxoplasma gondii* ve svalbardském ekosystému. Ač se na Svalbardu nežijí definitivní hostitelé tohoto parazita (kočkovité šelmy), tak prevalence výskytu je velmi vysoká, hlavně u lišek polárních (*Vulpes lagopus*) (43 % séropozitivních), ale také u medvědů ledních (*Ursus maritimus*) (21,4 % séropozitivních) a tuleňů (*Erignathus barbatus* a *Pusa hispida*) (Jensen et al. 2010, Oksanen et al. 2009, Prestrud et al. 2007). Zdá se, že v případě tohoto parazita jsou zapojeny jak terestriální, tak mořské cesty přenosu. Na Svalbardu se předpokládá, že introdukce je udržována berneškami (*Branta leucopsis*) (Prestrud et al. 2007). Dále existuje hypotéza, že přežití oocyst transportovaných Atlantickými proudy z jihu se může zvýšit díky oteplení vody a souběžného přílivu mořských bezobratlých filtrátorů, kteří mohou sloužit jako vektoři. Tento fakt, spolu s migrací ptáků, zvýšení lidského pohybu, může způsobit zvýšení výskytu tohoto parazita (Jensen et al. 2010).

Teplejší a vlhčí podnebí může způsobit zvýšení diverzity a abundance parazitů, a to redukcí generačních časů, zvýšením vývojového tempa, delším přežíváním ve vnějším prostředí nebo introdukcí nových, teplomilnějších parazitů a hostitelů. Životní cykly se mohou změnit z víceletých na jednorocní nebo dokonce na vícegenerační během roku. Nicméně, vyšší teploty a sušší podmínky mohou způsobit také vyšší mortalitu volně se vyskytujících parazitů (hlavně s přímými vývojovými cykly) a kompenzovat tak důsledky rychlejšího vývoje (Carlsson et al. 2012, Hoberg et al. 2012, Hoberg a Kutz 2013, Kutz et al. 2004, Molnár et al. 2013, Parkinson et al. 2005, Polley a Thompson 2009). U *O. gruehneri* bylo experimentálně prokázáno, že zvyšující se teploty povedou ke zpomalení vývoje a zvětšení mortality přes léto (Hoar et al. 2012, Molnár et al. 2013).

Volně žijící zvířata v s severských oblastech poskytují jak zdroj potravy lidí, tak také slouží k udržování kulturních tradic (permafrost pro uchování potravin, tradice ve stravování, tradiční recepty) (Hoberg et al. 2008). Tyto tradice spolu s loveckým způsobem života, minimální kontrolou potravin, vody a s nedostatečnými záznamy o výskytu problémů, zvyšují riziko zoonotických nákaz. S tím je také spojen další klíčový faktor severu a tím je ekonomika



ve spojení s turisty. Hostitelé parazitů (včetně *Homo sapiens*) mohou být naivní k parazitům v jejich novém prostředí a tomu velmi napomáhá obliba „autentických“ zážitků ve formě jedení tradičních pokrmů (Hoberg et al. 2008).

Je naprosto nemožné předvídat konečné následky změn klimatu a antropogenních zásahů na zdraví divokých zvířat. Ale vyplnění základních mezer ve znalostech, vylepšení předpovědních modelů a vznik monitorovacích programů může pomoci v porozumění roli parazitů v populaci volně žijících zvířat (Kutz et al. 2009).

## 1.2. Studování hostitelé

### 1.2.1. Savci

Zastoupení terestriálních savců je na Svalbardu velmi chudé. Jedinými přirozeně se vyskytujícími zástupci jsou zde sob polární (*Rangifer tarandus platyrhynchus*) a liška polární (*Vulpes lagopus*). Spolu s lidským osídlením sem byla zavlečena malá populace hrabošů (*Microtus levis*) (Henttonen et al. 2001), v norském správním centru Longyearbyenu jsou chováni jako domácí zvířata islandští poníci a psi, a v ruském Barentsburgu v malém množství prasata a skot (Kovacs a Lydersen 2006).

Vpřípadě mořských savců je tomu naopak a jejich zastoupení je na Svalbardu početné, a to i přes intenzivní lov v minulosti. Žije zde 19 zástupců zahrnujících medvěda ledního (*Ursus maritimus*), mrože ledního (*Odobenus rosmarus*), 5 druhů tuleňů a 12 druhů kytovců (Kovacs a Lydersen 2006).

### Sudokopytníci (Artiodactyla)

#### ***Rangifer tarandus platyrhynchus* (sob polární svalbardský) (Obr. 1)**

Sob polární má cirkumpolární rozšíření s několika poddruhy v různých oblastech. Ostrovní sobi jsou nemigrující, případně migrují jen částečně. Opravdu divoká populace euroasijských sobů se nachází už jen v Rusku a na Svalbardu, ale stále existují ještě i malé divoké populace ve Skandinávii (Bye 1987a, Sale 2006). V Severní Americe nebyl sob (karibu) nikdy domestikován. Na rozdíl od jiných jelenovitých rostou oběma pohlavím větvená paroží, která jsou asymetrická. Samci je mají větší. Sobi mají nejširší stopu z jelenovitých, což je adaptace pro pohyb ve sněhu, a ostrá kopyta pro lepší stabilitu na kamenech a ledu (Sale 2006).

Svalbardský sob je endemická subpopulace soba a je to jediný přirozeně se vyskytující savčí herbivor na Svalbardu. Prakticky všichni sobi se pohybují v nezaledněných oblastech souostroví. Jedinci této subpopulace jsou krátkonozí, mají relativně krátkou kulatou hlavu, přes léto mají tmavé zbarvení a v zimě jsou téměř bílí (Kovacs a Lydersen 2006). Pohybují se samotářsky nebo v malých stádech, vzácně početnějších než tři až pět jedinců. Původ sobů na Svalbardu je nejasný, nejpravděpodobněji pocházejí z oblasti Novaja Zemlja v Rusku. Na Svalbardu nemají žádného predátora, kromě člověka. Jen výjimečně jsou uloveni medvědem (Bye a Halvorsen 1983). Sob je zde chráněn od roku 1925, kdy byl téměř na pokraji vyhubení. Až v roce 1983 byl povolen limitovaný lov pro místní obyvatele (Stange 2012).

Sobi jsou herbivoři, živící se na tundrové vegetaci a lišejnících. V létě kumulují tuk na zimu, kdy je potrava méně dostupná a horší kvality. Ožírají také shozená paroží, aby získali minerály. V zimě se pohybují na místech s nízkou pokrývkou sněhu, aby se dostali k potravě. Nejčastější příčinou jejich úhynu je vyhladovění během zimních měsíců (Kovacs a Lydersen 2006, Stange 2012).

## Šelmy (Carnivora)

### ***Vulpes lagopus* (liška polární)** (Obr. 2)

Liška polární má cirkumpolární rozšíření a patří mezi nejlépe adaptované terestriální savce na arktické klima. Uši, čenich i končetiny jsou malé, na rozdíl od ocasu, který je velký a huňatý a při stočení funguje jako příkryvka. Srst je extrémně hustá a pokrývá, stejně jako u medvěda ledního, i spodní část tlap. Polární lišky tvoří dvě formy. První, tzv. bílá forma, je v létě šedo-hnědá se světlejší spodní částí těla a ocasem, v zimě se mění na bílou. Druhá, tzv. „blue fox“, je tmavě čokoládově hnědá nebo tmavě modrošedá v létě a světle modrošedá v zimě. Bílé formy jsou většinou kontinentální, zatímco modré, vzácnější formy se nacházejí na ostrovech. Nicméně křížení obou forem je běžné. Zajímavostí je, že i když by měla být forma „blue fox“ na Svalbardu běžná, vyskytuje se zde jen velmi sporadicky (3-10 %). (Sale 2006, Stange 2012).

Některé lišky jsou schopny překonat velmi dlouhé vzdálenosti (často i více než 1 000 km), dokonce i napříč kontinenty (Rusko - Aljaška, Svalbard - Novaja Zemlja). V oblastech, kde se vyskytují lišky obecné (*Vulpes vulpes*), jim nejsou lišky polární schopné konkurovat, proto je severní limit výskytu dán dostupností potravy a jižní výskytem lišky obecné. Žijí samotářsky, v párech, nebo skupinách. Přes léto jsou teritoriální a značují si svá území močí

nebo trusem na vyvýšených místech. Na Svalbardu obývají teritorium 10-20 km<sup>2</sup>, ale i menší než 10 km<sup>2</sup>; velikost závisí na množství dostupné potravy. Populace lišek na Svalbardu je stabilní i přes intenzivní lov v minulosti a fakt, že v zimě mohou být stále loveny vně chráněných oblastí (Dalen et al. 2005, Sale 2006, Tannerfieldt et al. 2002).

Polární lišky sežerou víceméně cokoliv, co najdou. Jejich hlavní potravou jsou hlodavci, ale živí se také ptáky, vejci nebo rybami. Na pobřežích vyhledávají koryše a ryby. Přebytky potravy si schovávají na horší časy. Může docházet k rozdílům ve složení potravy mezi liškami na pobřeží a žijícími ve vnitrozemí, což je ovlivněno zejména nepřítomností hlodavců, kteří jsou charakteristickou potravou vnitrozemských lišek v Severní Americe, Eurasii a na východě Grónska (Kovacs a Lydersen 2006, Skirnisson et al. 1993). Na Svalbardu se musí lišky obejít bez hlodavců, až na dvě oblasti kolem ruské důlní osady Grumantbyenu a 10 km západně od Longyearbyenu, hlavního norského osídlení na Svalbardu. Tam byl mezi lety 1920-1960 zavlečen hraboš (*Microtus levis*, pravděpodobně z oblasti Petrohradu, spolu s krmivem pro dobytek (Henttonen et al. 2001). V zimě se lišky živí hlavně mršinami, schovanými zásobami, bělokury a v blízkosti lidských obydlí odpadky. Některé lišky sledují lední medvědy a dojíždají zbytky z tuleňů nebo velryb, které medvědi najdou. Při sledování musí být obezřetné, aby samy neskončily jako potrava medvědů. Zima je pro lišky, co do přísunu potravy, velmi obtížné období a zdá se, že hlavní příčinou jejich úhynu je vyhladovění během zimních měsíců (Sale 2006, Stange 2012).

### ***Ursus maritimus* (medvěd lední) (Obr. 3)**

Lední medvěd má cirkumpolární rozšíření na severní polokouli a řadí se na vrchol potravního řetězce v Arktidě. Spolu s medvědem kodiakem (*Ursus arctos middendorffi*) je jedním z největších „suchozemských“ masožravců. Samci mohou vážit 300-700 kg a samice 150-350 kg. Váha velmi kolísá v průběhu sezóny v závislosti na dostupnosti potravy. Nemají žádné přirozené predátory kromě člověka. V oblastech, kde jsou chráněni, se lidí nebojí, což způsobuje konflikty. Celosvětově jsou medvědi chráněni od roku 1973. Výjimku pro lov mají pouze domorodí obyvatelé v Grónsku, Kanadě, na Aljašce a v Rusku. Na Svalbardu jsou medvědi striktně chráněni a mohou být zastřeleni pouze v ohrožení lidského života. V roce 2004 byla odhadnuta velikost populace v Barentsově moři přibližně na 3 000 jedinců. (Stange 2012). Jsou to dlouho žijící zvířata, která dospívají v poměrně vysokém věku a dlouho se starají o mláďata. Nejsou teritoriální, ale je pro ně charakteristické pohybovat se v prostoru o průměru 70 000-125 000 km<sup>2</sup>. Jsou to fakultativní migranti, kteří se pohybují s ledem.

Led jim slouží jako místo k lovu a k cestování, proto jižní limit jejich rozšíření závisí na podmínkách mořského ledu. Na některých místech se jejich teritorium může překrývat s medvědem hnědým (*Ursus arctos*). Na Svalbardu se většina medvědů nachází v oblastech se zamrzlým mořem, a proto má západní část ostrova menší hustotu výskytu, zatímco vyšší je podél východního pobřeží a také na severu. Jsou aktivní přes celou zimu (kromě březích samic), což jim umožňuje masožravý způsob života a výborná izolace ve formě husté srsti. Jejich srst je tak dobře izolovaná, že jim hrozí spíše přehřátí než podchlazení (Angliss a Allen 2009, Kovacs et al. 2004, Naidenko et al. 2013, Sale 2006).

Potravu ledních medvědů tvoří převážně tuleni (*Pusa hispida*, *Erignathus barbatus*). Z tuleně žerou většinou jen tuk a kůži, maso tak zpravidla zůstává pro lišky a racky; záleží však na podmínkách a stavu jedince. Výjimečně uloví mrože, lišku, nebo ptáky. Během léta je investice do lovu v oblastech bez ledové pokrývky natolik energeticky náročná, že medvědi zůstávají na pevnině, kde se živí hnědými řasami, ptáky, ptačími vejci apod. dokud se led znovu nevytvoří. Většinu času jsou to samotářská zvířata, ale v případech výskytu větších zdrojů potravy (např. velrybí mršina) tvoří „skupiny“ (Dyck a Kebreab 2009, Kovacs a Lydersen 2006, Sale 2006, Schaul 2006).

### ***Pusa hispida* (tuleň kroužkovaný) (Obr. 4)**

Tuleň kroužkovaný je běžný v celé Arktidě a je to nejpočetnější severský tuleň. Na Svalbardu se vyskytuje ve všech fjordech. Tráví značnou část doby mimo vodu, což ho odlišuje od tuleně vousatého (*Erignathus barbatus*) vyskytujícího se také na Svalbardu. Využívá led k odchovu mláďat a odpočinku a jen vzácně se vyskytuje na pevnině. Před zimou je chráněn velmi silnou tukovou vrstvou, a také si staví doupata ve sněhu na povrchu mořského ledu. Je to velmi zdatný plavec, který dokáže vydržet pod vodou až 45 minut. Je stříbrnošedý kromě bílého zbarvení na bříše. Jméno dostal podle nápadných vzorů na srsti ve tvaru kroužků (Kovacs et al. 2004, Sale 2006).

Jejich hlavní potravu tvoří ryby a koryši blízko ledu, ale živí se i bentickými a pelagickými rybami a bezobratlými (Kovacs et al. 2004).

## 1.2.2. Ptáci

Na Svalbardu hnízdí velké množství ptáků, zejména mořských ptáků a hus. Množství je značné, co do počtu jedinců, spíše než druhů, i když i toto číslo je vysoké. Bylo zde zaznamenáno 203 druhů, z toho 28 velmi početných a běžných. Většina druhů je migrujících, kromě svalbardského bělokura horského (*Lagopus muta hyperborea*), který zůstává na ostrovech přes celou zimu (Kovacs a Lydersen 2006, Stange 2012).

Z ptáků žijících na Svalbardu zde uvádím pouze druhy, jejichž trus byl vyšetřován.

### Vrubozobí (Anseriformes)

#### ***Anser brachyrhynchus* (husa krátkozobá)** (Obr. 5)

Husa krátkozobá je zástupce arktické ptačí fauny a vyskytuje se v oblasti severního Atlantiku. Jejím zimovištěm je pobřeží Norska, Dánsko a Nizozemí. Na Svalbardu je to jedna z nejběžnějších hus. Je velmi plachá, jelikož je lovena jak na hnízdištích, tak i na zimovištích (Drent et al. 2003, Sale 2006, Stange 2012).

Zbarvení hus krátkozobých je víceméně šedé. Mají relativně krátký krk, nohy jsou růžové a zobák je tmavý s různým podílem růžové barvy. Hnízdí na volném prostranství nebo na skalních terasách a malých ostrůvcích. Husa krátkozobá je mnohem úspěšnější v ochraně sebe a vajíček před liškami, než bernešky (Kovacs a Lydersen 2006, Sale 2006, Stange 2012).

Živí se tundrovou vegetací, rostlinami bažin, i kořeny. V zimě se její potrava skládá z trávy a zbytků na polích (Sale 2006, Stange 2012).

#### ***Branta leucopsis* (berneška bělolící)** (Obr. 6)

Berneška bělolící hnízdí v oblasti severního Atlantiku (severovýchodní Grónsko, Svalbard, od severozápadu Ruska až k Baltskému moři), na zimu migruje do jižního Skotska a severní Anglie. Hnízdí zejména na jižním a západním pobřeží Špicberk (Kovacs a Lydersen 2006, Sale 2006, Stange 2012).

Má částečně bílou hlavu s černou čepičkou a černým, krátkým krkem. Ocas je také černý. Tělo je šedé kromě černých konců per na křídlech. Nohy jsou tmavé. Hnízdí na skalních terasách na vrcholcích útesů a na malých ostrůvcích v jezerech nebo v blízkosti pobřeží (Kovacs a Lydersen 2006, Sale 2006, Stange 2012).

Živí se tundrovou vegetací (rostliny a lišejníky) a v zimě převážně trávou (Kovacs a Lydersen 2006, Sale 2006, Stange 2012).

### ***Somateria mollissima* (kajka mořská)** (Obr. 7)

Kajka mořská se vyskytuje cirkumpolárně, s výjimkou velké části Ruska. Kajky ze Svalbardu zimují na severním pobřeží Norska a Islandu. Je to velmi společenský druh žijící většinou v koloniích, ale mohou hnízdit i jednotlivě. Kajka je nejpočetnější kachnou na Svalbardu (Kovacs a Lydersen 2006, Sale 2006, Stange 2012).

Kajka je velká, mohutně stavěná, potápivá kachna. Kačeři jsou nápadně černo-bílí a nohy mají žlutozelené, samice jsou tmavohnědé a příčně černě pruhované. Hnízdí na otevřeném prostranství, často spolu s rybáky. Na Svalbardu hnízdí většinou na ostrovech, což je adaptace na predaci liškami. Kajka je objektem silné predace jak ze strany lišky polární, tak racka šedého (*Larus hyperboreus*) (Kovacs a Lydersen 2006, Sale 2006, Stange 2012).

Její potravu tvoří bentičtí živočichové. Hlavní složkou jsou měkkýši, dále korýši a ostnokožci. Pro potravu se potápějí do hloubky až 20 m (Hobson 1993, Kovacs a Lydersen 2006, Sale 2006).

### ***Fratercula arctica* (papuchalk bělobradý)** (Obr. 8)

Papuchalk bělobradý se vyskytuje v oblasti severního Atlantiku. Na Špicberkách hnízdí na západním a severním pobřeží, kde tvoří menší kolonie než v jižnějších oblastech svého výskytu (Sale 2006, Stange 2012).

Jeho zbarvení je černo-bílé, s bílými plochami okolo očí a na břiše. Dominantou je velký barevný zobák, jehož přední část je červená, zadní šedá, oddělené jsou žlutým pruhem. Nohy jsou zbarveny červenooranžově. Hnízdí na římsách u vrcholů útesů (Kovacs a Lydersen 2006, Sale 2006, Stange 2012).

Převážnou část jejich potravy tvoří bezobratlí živočichové, v menší míře žerou také ryby. Pro potravu se potápějí do hloubky 15 m (Sale 2006, Stange 2012)

### ***Uria lomvia* (alkoun tlustozobý)** (Obr. 9)

Alkoun tlustozobý má cirkumpolární rozšíření. Na Svalbardu a v Zemi Františka Josefa se vyskytuje v hojném počtu. Zimuje na volném moři kolem Islandu, jižního Grónska a Newfoundlandu. Je to jeden z nejpočetnějších mořských ptáků na Svalbardu. Jeho populace se odhaduje na 850 000 hnízdících párů (Kovacs a Lydersen 2006, Sale 2006, Stange 2012).

Je černý s tmavou linkou nad okem a bílým pruhem u zobáku. Pouze oblast břicha a nohou je bílá. Nohy jsou tmavě šedé. Hnízdí na útesech (Sale 2006, Stange 2012).

Živí se hlavně rybami, ale také mořskými bezobratlými. Pro potravu se potápí velmi hluboko (až do hloubky 20-60 m) (Hobson 1993, Sale 2006).

### Dlouhokřídlí (Charadriiformes)

#### ***Sterna paradisea* (rybák dlouhoocasý)** (Obr. 10)

Rybák dlouhoocasý má cirkumpolární rozšíření. Pyšní se nejdelší migrací ze všech ptáků na planetě, kdy z Arktidy přelétává až na pobřeží Antarktidy. Na Špicberkách se nachází v největším počtu na západě a severu ostrova (Kovacs a Lydersen 2006, Sale 2006, Stange 2012).

Má bílou hlavu s černou čepičkou. Jinak je zbarven šedavě, se světlejším spodkem křídel. Charakteristická jsou jeho dlouhá ocasní pera. Nohy a zobák jsou červené. Hnízdí v otevřené tundře většinou u pobřeží, na plážích nebo malých ostrůvcích. Velmi agresivně brání svá hnízda (Kovacs a Lydersen 2006, Sale 2006, Stange 2012).

Jeho potravu tvoří mořští bezobratlí a ryby, pro které se potápí (Sale 2006, Stange 2012).

#### ***Rissa tridactyla* (racek tříprstý)** (Obr. 11)

Racek tříprstý se vyskytuje na území celé Arktidy a subarktické oblasti. Na Svalbardu tvoří četné kolonie na příkrých skalních srázech, kolonie se vyskytují dokonce i na opuštěných budovách v Barentsburgu a Pyramiden. Na Svalbardu hnízdí přibližně 270 000 hnízdních párů, což z něj dělá nejběžnějšího ptáka souostroví. Zimu tráví na otevřeném moři v blízkosti hnízdních oblastí (Kovacs a Lydersen 2006, Sale 2006, Stange 2012).

Tento racek má bílou hlavu se žlutým zobákem. Boky a vrchní část křídel jsou šedé, konce křídel černé. Nohy jsou černé (Kovacs a Lydersen 2006, Sale 2006, Stange 2012).

Živí se mořskými bezobratlými a malými rybami (Hobson 1993, Kovacs a Lydersen 2006).

## Hrabaví (Galliformes)

### ***Lagopus muta hyperborea* (svalbardský bělokur horský)** (Obr. 12)

Bělokur má cirkumpolární rozšíření. Na Svalbardu a Zemi Františka Josefa se vyskytuje poddruh *Larus muta hyperborea*. Tento poddruh je větší a mohutnější než bělokur horský žijící v Norsku. Jsou to jediní ptáci, kteří na zimu neopouštějí hnízdní oblast. Během podzimu mohou být loveni. Kromě člověka mají také několik přirozených predátorů, z nichž nejvýznamnějšími jsou liška polární, racek šedý nebo chaluha příživná (Kovacs a Lydersen 2006, Sale 2006, Stange 2012).

Samci jsou šedohnědí na vrchní části těla, hlavě a ocase, mají červené obočí a černou linku vedoucí od oka k zobáku. Ocasní pera jsou černá. Zbytek těla je bílý. Samice jsou více hnědé. V zimě přepeřují na bílou barvu (s výjimkou ocasních per) a samcům zůstává červeně zabarvený proužek nad okem (Kovacs a Lydersen 2006, Sale 2006, Stange 2012).

Živí se semeny, pupeny a větvičkami (Sale 2006, Stange 2012).

## Trubkonosí (Procellariiformes)

### ***Fulmarus glacialis* (buřňák lední)** (Obr. 13)

Buřňák lední má cirkumpolární rozšíření. Je to dlouhověký příbuzný albatrosů, který se dožívá až 60 let. Se zvýšením rybolovu v posledních 150 letech narostla i populace buřňáka. Hlavními hnízdními oblastmi jsou západní Špicberky a Medvědí ostrov (norsky Bjørnøya). Populace na Špicberkách se většinu roku pohybuje v okolí ostrova, pouze na několik zimních měsíců se přesouvá jižněji nad otevřený Atlantik. Odhaduje se, že populace čítá více než půl milionu párů (Kovacs a Lydersen 2006, Sale 2006, Stange 2012).

Na rozdíl od racků je buřňák šedobílý, bez výrazného kontrastu. Na Svalbardu se vyskytuje tmavší forma buřňáka s tmavě šedými až černými pery na křídlech. Na Špicberkách hnízdí na téměř všech příkrých útesech a mimo hnízdní sezónu jsou striktně pelagičtí. Jsou to výborní letci. (Kovacs a Lydersen 2006, Sale 2006, Stange 2012).

Živí se planktonem, rybami, hlavonožci a korýši, které loví blízko hladiny. Příležitostně se mohou přizivit na mršinách (Kovacs a Lydersen 2006, Sale 2006, Stange 2012).



## Pěvci (Passeriformes)

### ***Plectrophenax nivalis* (sněhule severní)** (Obr. 14)

Sněhule severní má cirkumpolární rozšíření a řadí se mezi nejseverněji hnízdící pěvce. Na zimu migrují do oblasti Bílého moře v severním Rusku, nebo stepí severně od Kaspického moře nebo Kazachstánu. V zimě se vyskytují v hejnech a v období páření tvoří páry, které jsou teritoriální (Dolnik et al. 2011, Sale 2006).

Samci mají bílou hlavu a spodní část těla. Zobák je černý. Hřbet a křídla jsou tmavá s velkými bílými poli. Střed ocasu je černý s bílým lemováním. Samice je stejně zbarvená, pouze černá je nahrazena hnědou. Hnízdí většinou ve skalních trhlinách (Kovacs a Lydersen 2006, Sale 2006, Stange 2012).

Potravu tvoří především semena, ale živí se také bezobratlými živočichy (Kovacs a Lydersen 2006, Sale 2006).

### 1.3. Studování hostitelé – Foto dokumentace



**Obrázek 1:** *Rangifer tarandus platyrhynchus* (sob polární špicberský)

Foto: Eva Myšková



**Obrázek 2:** *Vulpes lagopus* (liška polární) Foto: Eva Myšková

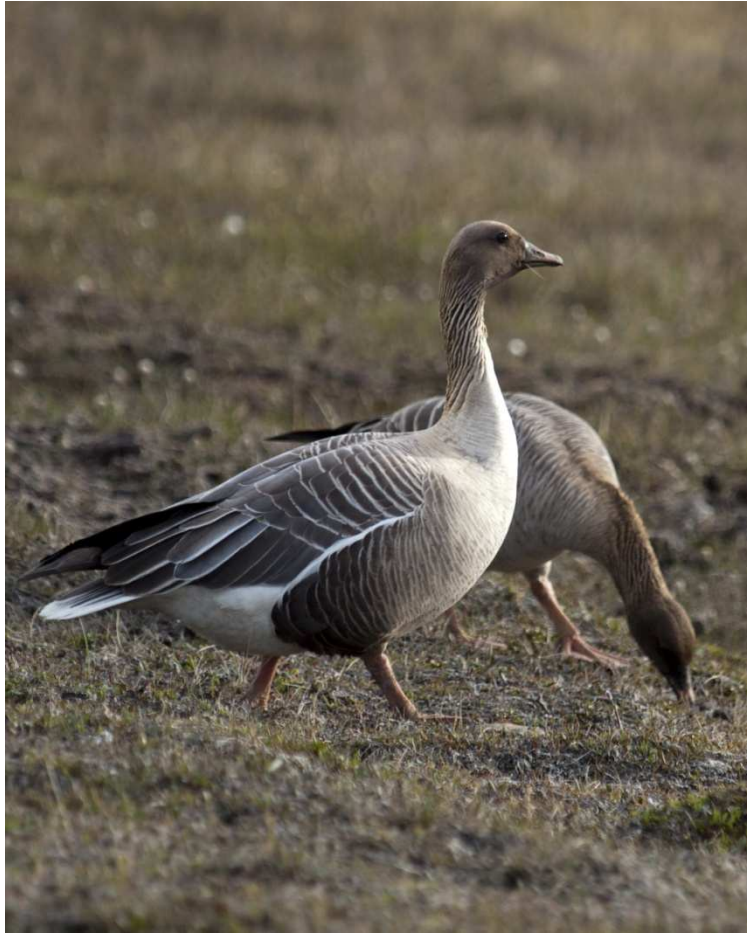


**Obrázek 3:** *Ursus maritimus* (medvěd lední) Foto: Eva Myšková

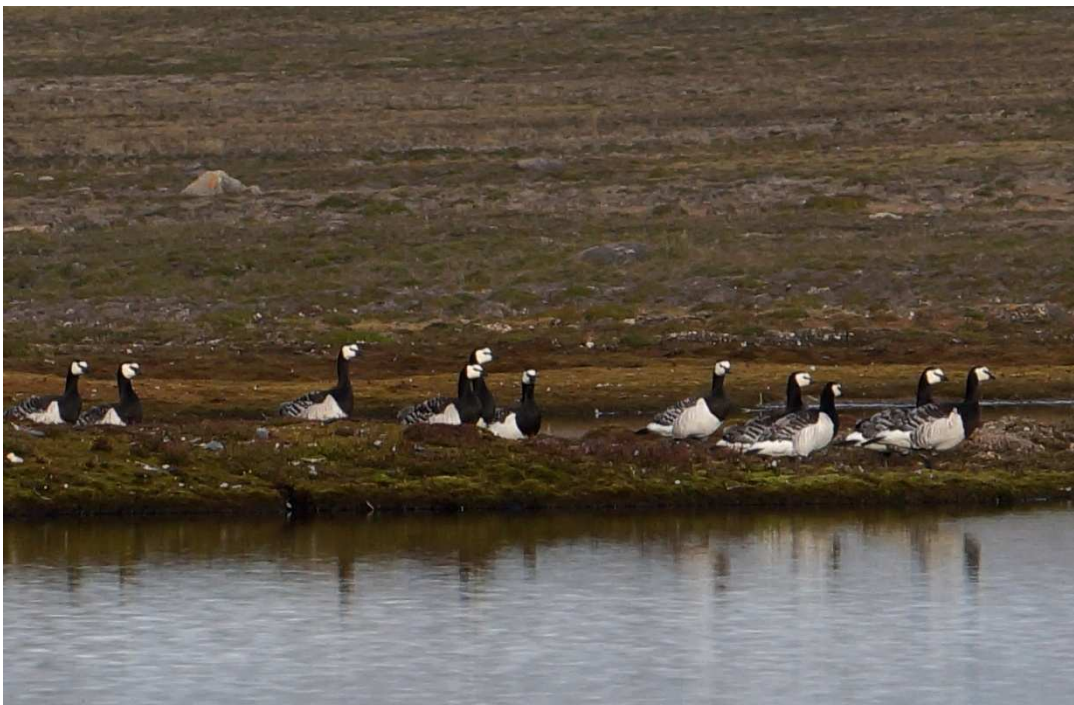


**Obrázek 4:** *Pusa hispida* (tuleň kroužkovaný) Foto: Tomáš Tymel





**Obrázek 5:** *Anser brachyrhynchus* (husa krátkozobá) Foto: Tomáš Týmľ



**Obrázek 6:** *Branta leucopsis* (berneška bělolící) Foto: Eva Myšková



**Obrázek 7:** *Somateria mollissima* (kajka mořská) Foto: Tomáš Tymml



**Obrázek 8:** *Fratercula arctica* (papuchalk bělobradý) Foto: Eva Myšková



**Obrázek 9:** *Uria lomvia* (alkoun tlustozobý) Foto: Tomáš Tysl



**Obrázek 10:** *Sterna paradisea* (rybák dlouhoocasý) Foto: Jindra Šichová





**Obrázek 11:** *Rissa tridactyla* (racek tříprstý) Foto: Eva Myšková



**Obrázek 12:** *Lagopus muta hyperborea* (bělokur horský) Foto: Eva Myšková



**Obrázek 13:** *Fulmarus glacialis* (buňák lední) Foto: Tomáš Tysl



**Obrázek 14:** *Plectrophenax nivalis* (sněhule severní) Foto: Jindra Šichová



## 2. CÍLE PRÁCE

1. Parazitologicky vyšetřit reprezentativní vzorek savců a ptáků na Svalbardu (koprologické vyšetření).
2. Shromáždit materiál pro genotypizaci (především kryptosporidie, kokcidie, mikrosporidie a giardie).
3. Na základě genotypizace zhodnotit vliv geografické lokality na evoluci střevní parazitofauny.

## **3. MATERIÁL A METODY**

### **3.1. Lokalita**

Svalbard je souostroví nacházející se mezi 74° a 81° severní šířky a 10° a 35° východní délky, jehož největším ostrovem jsou Špicberky. Svalbard tvoří nejsevernější část Norského království. Administrativním centrem je Longyearbyen; dále zde existuje ruská těžařská komunita v Barentsburgu, výzkumná komunita v Ny-Ålesundu, těžařská osada v Sveagravě a několik menších obydlených míst. Je to nejsevernější místo planety se stálým osídlením (Henttonen et al. 2001, Stange 2012).

Na ostrovech převládá arktické podnebí. Navzdory tomu, že leží tak blízko severnímu pólu, má souostroví relativně mírné klima ve srovnání s oblastmi o stejné zeměpisné šířce. Teplota vzduchu klesá směrem na východ, jelikož západní pobřeží je oteplováno Gofským proudem. Průměrná teplota v Longyearbyenu se pohybuje v rozmezí od -14 °C v zimě, do +6 °C v létě. Avšak teploty mezi -20 °C až -30 °C během zimy nejsou neobvyklé. Počasí se může měnit rychle a místní rozdíly jsou značné.

Svalbard leží tak daleko za polárním kruhem, že fenomén polárního dne a noci je zde velmi výrazný. Období půlnočního slunce trvá od 15. dubna do 26. srpna a polární noci od 14. listopadu do 29. ledna (Anonymous 2013, Stange 2012).

### **3.2. Materiál**

Vzorky trusu převážně terestriálních obratlovců různých druhů byly sbírány v průběhu dvou sezón (Tab. 1). Většina vzorků pocházela z centrální části ostrova Špicberky, konkrétně z oblasti Petuniabukta (Billefjorden) a Longyearbyenu, několik vzorků bylo i z Ny-Ålesundu a z Hornsundu (Obr. 15). Každý vzorek byl odebrán do zip-lock sáčku, případně do mikrozkuhavek typu eppendorf a uchován v chladu při 4 °C. U každého vzorku byl zaznamenán původ, místo a datum nálezů. Materiál byl sbírán pouze v případě, kdy byla jistota, že pochází od daného hostitele.



**Obrázek 15:** Mapa Svalbardu se označenými místy odběru vzorků (červeně).

Zdroj: <http://toposvalbard.npolar.no/>

**Tabulka 1:** Původ vzorků trusu získaných pro analýzy (Obr. 1-13).

Druh zvířete	Počet vzorků		
	IV 2012	VI,VII 2012	VII,VIII 2013
<i>Rangifer tarandus platyrhynchus</i> (sob polární)	3	51	52
<i>Canis lupus f. familiaris</i> (husky)	8	2	–
<i>Vulpes lagopus</i> (liška polární)	–	8	12
<i>Ursus maritimus</i> (medvěd lední)	–	3	4
<i>Pusa hispida</i> (tuleň kroužkovaný)	–	–	1
<i>Anser brachyrhynchus</i> (husa krátkozobá)	–	8	22
<i>Branta leucopsis</i> (berneška bělolící)	–	4	8
<i>Lagopus muta hyperborea</i> (bělokur horský)	–	–	4
<i>Somateria mollissima</i> (kajka mořská)	–	4	4
<i>Fratercula arctica</i> (papuchalk bělobradý)	–	2	20
<i>Uria lomvia</i> (alkoun tlustozobý)	–	1	–
<i>Sterna paradisea</i> (rybák dlouhoocasý)	–	3	9
<i>Rissa tridactyla</i> (racek tříprstý)	–	5	13
<i>Plectrophenax nivalis</i> (sněhule severní)	–	1	–
<i>Fulmarus glacialis</i> (buňňák lední)	–	–	2

Vysvětlivky: -, vzorky daných druhů nebyly sbírány (tj. nebyly nalezeny).

### 3.3. Mikroskopická diagnostika

Vzorky trusu byly vyšetřeny dvěma sedimentačními koncentračními metodami (M.I.F.C. a AMS) a flotační metodou (Sheather). Těmito metodami byly vyšetřeny všechny vzorky trusu savců. V případě ptáků byly vyšetřeny pouze vzorky od *Anser brachyrhynchus*, *Branta leucopsis* a *Fratercula arctica*. Vzorky ostatních ptáků nebyly mikroskopicky vyšetřeny z důvodu nedostatečného množství materiálu. Tyto vzorky byly zpracovány pouze molekulárně.

#### 3.3.1. Sedimentace M.I.F.C.

Pro vyšetření vzorků trusu metodou M.I.F.C. byly použity dva zásobní roztoky o následujícím složení:

##### 1. roztok M.I.F.C.

500 ml deionizované vody

50 ml 40 % formaldehydu

400 ml 0,1 % roztoku mertiolátu sodného v 96% etanolu

10 ml glycerinu

##### 2. Lugolův roztok

1 g krystalického jódu

2 g KI

100 ml deionizované vody

Ve zkumavce s 5 ml roztoku M.I.F.C. a 1 ml Lugolova roztoku byl rozmíchán trus (množství vzorku o velikosti hrachu). Vzniklá směs se slila přes gázu, bylo přidáno 6 ml diethyléru a celý obsah dobře protřepán. Poté následovala centrifugace po dobu 2 min při 400 g. Supernatant byl odstraněn (vylit) a sediment prohlížen světelným mikroskopem při zvětšení 200×.

### 3.3.2. Sedimentace AMS

Pro vyšetření vzorků trusu metodou AMS byly použity dva zásobní roztoky v následujícím složení:

#### 1. AMS III roztok

115,2 g Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> bezvodý

540 ml HCl

660 ml H<sub>2</sub>O

hustota = 1,080 g/ml

#### 2. roztok Triton

16,5 ml Triton X 100

33,5 ml H<sub>2</sub>O

Ve zkumavce s 6 ml roztoku AMS byl rozmíchán trus (vzorek o velikosti hrachu) a vzniklá směs se přelila přes gázu. Do směsi byly přidány 3 kapky Tritonu a 3 ml diethyléru, poté byl obsah protřepán a centrifugován po dobu 2 min při 600 g. Sediment byl prohlížen světelným mikroskopem při zvětšení 200×.

### 3.3.3. Flotace dle Sheathera

#### Sheatherův cukerný roztok

259 ml deionizované vody

405 g cukru (krystal)

7,29 g fenolu

hustota = 1,2 g/ml

Vzorek trusu (o velikosti hrachu) byl rozmíchán ve vodě a zhomogenizován ve třecí misce. Vzniklá směs se slila přes gázu a centrifugovala po dobu 5 min při 1000 g. Supernatant byl poté odstraněn a sediment rozmíchán v malém objemu Sheatherova cukerného roztoku. Poté byl zbytek zkumavky doplněn Sheatherovým roztokem a centrifugován po dobu 5 min při 1000 g. Pomocí mikrobiologické kličky byla opatrně odebrána povrchová blanka na podložní sklo, přikryta krycím sklem a prohlížena světelným mikroskopem při zvětšení 200×.

Vzorky zpracované koncentračními metodami byly prohlíženy mikroskopem Olympus BX51 při zvětšení 200×. Detaily byly pozorovány při zvětšení 400× a 1000×; při tomto zvětšení byla rovněž pořizována fotografická dokumentace (Olympus Camedia C-5060 digitální kamera, Quick PHOTO MICRO 2.3 software).

### **3.4. Molekulární diagnostika**

Všechny získané vzorky byly pomocí molekulárních metod testovány na přítomnost DNA kryptosporidií, mikrosporidií a giardií. Na přítomnost DNA kokcií byly testovány jen vybrané vzorky, které byly mikroskopicky pozitivní. DNA kokcií byla izolována odlišnou technikou než DNA ostatních výše uvedených parazitů. U kokcií byl také odlišný protokol pro PCR a přípravu na sekvenaci.

#### **3.4.1. Izolace DNA z trusu – kryptosporidie, mikrosporidie a giardie**

Do mikrozkušky obsahující 180–200 mg trusu byly přidány skleněné kuličky o velikosti 0,5 mm (BioSpec Products, Inc., Bartlesville, OK, USA), zirkonové kuličky (Invitex), a připipetován 1 ml lyzačního pufru. Takto připravené vzorky byly rozbíjeny pomocí přístroje FastPrep® -24 Instrument (M.P. Biomedicals, CA, USA) po 1 min při rychlosti 5,5 m/s. Dále bylo postupováno podle návodu výrobce komerčně dodávaného izolačního kitu PSP Spin Stool DNA Kit (Invitex), který je určen pro čištění a izolaci DNA ze vzorků trusu a pro následnou detekci patogenů. Součástí kitu, kromě výše zmíněného lyzačního pufru, byla proteináza K, vazebný pufr, dva promývací pufrы, eluční pufr, InviAdsorb mikrozkušky a kolony se sběrnými mikrozkuškami. Získaná DNA byla uchovávána při teplotě -20 °C.

#### **3.4.2. Izolace DNA z trusu – kokcidie**

Vzorek trusu (přibližně 2 g) byl rozmíchán ve vodě a 500 µl takto vzniklé směsi bylo poté odebráno do mikrozkušky. Vzorek byl centrifugován 5 min při maximální rychlosti (16 100 g), supernatant byl odsát a k peletu bylo přidáno 200 µl vody. Celý obsah byl připipetován do Lysing Matrix E tube, bylo přidáno 987 µl Sodium Phosphate Buffer a 122 µl MT Buffer. Takto připravené vzorky byly rozbíjeny pomocí přístroje FastPrep® -24 Instrument (M.P. Biomedicals, CA, USA) po 1 min při rychlosti 5,5 m/s. Dále bylo postupováno dle návodu výrobce komerčně dodávaného izolačního kitu FastDNA Spin Kit for Soil (MP Biomedicals). Součástí kitu, kromě výše uvedených pufrů, byl Protein

Precipitation Solution, Binding Matrix, SEWS-M promývací roztok a DES (DNA eluční voda). Získaná DNA byla uchovávána při teplotě -20 °C.

### 3.4.3. Polymerázová řetězová reakce (PCR)

V případě parazitů rodu *Cryptosporidium* byl amplifikován gen pro malou ribozomální podjednotku (SSU rRNA) (Jiang et al. 2005). Protokol pro amplifikaci Internal Transcribed Spacer (ITS) genu rRNA byl použit pro mikrosporidie *Enterocytozoon bieneusi* (Buckholt et al. 2002) a *Encephalitozoon* spp. (Didier et al. 1995, Katzwinkel-Wladarsch et al. 1996). U parazitů rodu *Giardia* byla amplifikována část genu Triose Phosphate Isomerase (TPI) (Sulaiman 2003a). V případě kokcií byl k amplifikaci vybrán gen pro malou ribozomální podjednotku (SSU rRNA) a mitochondriální gen pro cytochrom oxidázu I (COI). Sekvence specifických primerů pro jednotlivé amplifikace jsou uvedeny v tabulce 2. Celkový objem reakční směsi pro PCR byl 25 µl (*Giardia* spp., *E. bieneusi*, *Encephalitozoon* spp., kokcie) (Tab. 3 - 5) a 20 µl (*Cryptosporidium* spp.) (Tab. 6). Součástí každé PCR reakce byla také pozitivní a negativní kontrola. Taq polymeráza byla vždy přidávána jako poslední. Jako pozitivní kontrola u giardií a kokcií byl použit pozitivní osekvenovaný vzorek, v případě mikrosporidií se jednalo o vzorky z kultur.

**Tabulka 2:** Charakteristika primerů použitých pro amplifikaci vybraných genů.

<b>Primer</b>	<b>Sekvence primeru (5'→3')</b>	<b>Nasedací teplota</b>
<b><i>Cryptosporidium</i> spp. (SSU rRNA)</b>		
F1	TTC TAG AGC TAA TAC ATG CG	55 °C
R1	CCC ATT TCC TTC GAA ACA GGA	
F2	GGA AGG GTT GTA TTT ATT AGA TAA AG	55 °C
R2	CTC ATA AGG TGC TGA AGG AGT A	
<b><i>Giardia</i> spp. (TPI)</b>		
GIAF1	AAA TIA TGC CTG CTG GTC G	50 °C
GIAR1	CAA ACC TTI TCC GCA AAC C	
GIAF2	CCC TTC ATC GGI GGT AAC TT	50 °C
GIAR2	GTG GCC ACC ACI CCC GTG CC	
<b><i>Enterocytozoon bieneusi</i> (ITS)</b>		
EBITS3	GGT CAT AGG GAT GAA GAG	57 °C
EBITS4	TTC GAG TTC TTT CGC GCT C	
EBITS1	GCT CTG AAT ATC TAT GGC T	55 °C
EBITS2,4	ATC GCC GAC GGA TCC AAG TG	
<b><i>Encephalitozoon</i> spp. (ITS)</b>		
INT580F	TTT CAC TCG CCG CTA CTC AG	55 °C
INT580R	TGC AGT TAA AAT GTC CGT AGT	
MSP-3	GGA ATT CAC ACC GCC CGT CVY TAT	55 °C
MSP-4A	CCA AGC TTA TGC TTA AGT YMA ARG GGT	
<b>Kokcidie (SSU rRNA)</b>		
EimF	GAA ACT GCG AAT GGC TCA TT	53 °C
EimR	CTT GCG CCT ACT AGG CAT TC	
<b>Kokcidie (COI)</b>		
CoiF	GGT TCA GGT GTT GGT TGG AC	52 °C
CoiR	ATC CAA TAA CCG CAC CAA GAG	

Použité roztoky pro PCR reakci - kryptosporidie, mikrosporidie a giardie:

- 10× koncentrovaný kompletní pufr pro Taq purple DNA polymerázu (Top-Bio, 15 mM MgCl<sub>2</sub>)
- Taq purple DNA polymeráza (Top-Bio, 1 U/μl)
- Deoxyribonukleosid trifosfáty (dNTP's; Top-Bio, 10 mM roztok - 2,5 mM každé báze)
- BSA (Sigma, 10 mg/ml)
- MgCl<sub>2</sub> (Top-Bio, 25 mM)
- forward a reverse primery (Generi Biotech, 10 pmol/μl)



Použité roztoky pro PCR reakci -kokcidie:

- 10× koncentrovaný kompletní pufr pro HotStar Taq polymerázu (Qiagen)
- HotStar Taq polymeráza (Qiagen, 5 U/μl)
- Deoxyribonukleosid trifosfáty (dNTP's; Top-Bio, 10 mM roztok - 2,5 mM každé báze)
- forward a reverse primery (Generi Biotech, 10 pmol/μl)

**Tabulka 3:** Reakční směs pro PCR - *Enterocytozoon bienewisi* a *Encephalitozoon* spp. (1 reakce).

<b>Použitý roztok</b>	<b>Primární PCR [μl]</b>	<b>Sekundární PCR [μl]</b>
deionizovaná H <sub>2</sub> O	12,87	16,87
Pufr	2,50	2,50
MgCl <sub>2</sub>	1,50	1,50
dNTP's	0,50	0,50
forward primer	0,50	0,50
reverse primer	0,50	0,50
BSA	1,00	–
Taq polymeráza	0,63	0,63
templátová DNA/PCR produkt	5,00	2,00
<b>celkem</b>	<b>25,00</b>	<b>25,00</b>

**Tabulka 4:** Reakční směs pro PCR - *Giardia* spp. (1 reakce).

<b>Použitý roztok</b>	<b>Primární PCR [μl]</b>	<b>Sekundární PCR [μl]</b>
deionizovaná H <sub>2</sub> O	14,7	18,7
pufr	2,5	2,5
dNTP's	0,5	0,5
forward primer	0,5	0,5
reverse primer	0,5	0,5
BSA	1,0	–
Taq polymeráza	0,3	0,3
templátová DNA/PCR produkt	5,0	2,0
<b>celkem</b>	<b>25,0</b>	<b>25,0</b>

**Tabulka 5:** Reakční směs pro PCR - kokcidie (SSU, COI) (1 reakce).

<b>Použitý roztok</b>	<b>PCR [<math>\mu</math>l]</b>
deionizovaná H <sub>2</sub> O	18,3
pufř	2,5
dNTP's	1,0
forward primer	0,5
reverse primer	0,5
HotStar Taq polymeráza	0,2
templátová DNA/PCR produkt	2,0
<b>celkem</b>	<b>25,0</b>

**Tabulka 6:** Reakční směs pro PCR - *Cryptosporidium* spp. (1 reakce).

<b>Použitý roztok</b>	<b>Primární PCR [<math>\mu</math>l]</b>	<b>Sekundární PCR [<math>\mu</math>l]</b>
deionizovaná H <sub>2</sub> O	11,3	12,1
pufř	2,0	2,0
MgCl <sub>2</sub>	1,2	1,2
dNTP's	0,4	0,4
forward primer	0,4	0,4
reverse primer	0,4	0,4
BSA	0,8	–
Taq polymeráza	0,5	0,5
templátová DNA/PCR produkt	3,0	3,0
<b>celkem</b>	<b>20,0</b>	<b>20,0</b>

Amplifikační program pro mikrosporidie, kryptosporidie a giardie, pro primární i sekundární PCR (Nested PCR), byl složen z počáteční denaturace při 94 °C po dobu 3 min. Následovalo 35 cyklů, z nichž každý cyklus zahrnoval denaturaci po dobu 45 sec při 94 °C, druhově specifické nasedání primerů (annealing) po dobu 45 sec (Tab. 2) a syntézu nového řetězce (extenze) při 72 °C po dobu 1 min. Po těchto 35 cyklech následovalo dosyntetizování nového řetězce (finální extenze) při 72 °C po dobu 7 min.

Amplifikační program pro kokcidie byl složen z počáteční denaturace při 95 °C po dobu 15 min (neboť byla použita HotStar Taq DNA polymeráza). Následovalo 30 cyklů (SSU rRNA)/ 35 cyklů (COI), z nichž každý cyklus zahrnoval denaturaci po dobu 45 sec při 95 °C, specifické nasedání primerů pro SSU rRNA a COI (annealing) po dobu 45 sec (Tab. 2) a syntézu nového řetězce při 72 °C po dobu 90 sec. Po těchto 30/35 cyklech následovalo dosyntetizování nového řetězce (finální extenze) při 72 °C po dobu 10 min.

#### **3.4.4. Gelová elektroforéza**

Výsledky PCR reakce a velikost získaných DNA fragmentů byly ověřovány gelovou elektroforézou v 1% agarózovém gelu s přidavkem ethidium bromidu (Sigma) při napětí zdroje 70 V po dobu 60 minut. Výsledné produkty byly vizualizovány pomocí UV transiluminátoru (Electronic UV transilluminator, Ultra-Lum, Inc.) při vlnové délce 312 nm. Jako DNA marker byl použit 100 bp DNA ladder (Fermentas).

Pozitivní PCR produkty byly vyříznuty z gelu a izolovány/přečištěny kitem QIAquick Gel Extraction Kit (Qiagen) dle návodu výrobce. U kokcií byly pozitivní PCR produkty přečištěny enzymaticky, s použitím 0,2 µl Exo I (Exonuclease I z *E. coli*, Thermo Scientific, 20 000 U/ml) a 0,2 µl FastAP (Thermosensitive Alkaline Phosphatase; Thermo Scientific 1 u/µl). Vlastní přečišťování probíhalo v termocycleru za následujících podmínek: 37 °C – 15 min a 80 °C – 15 min.

#### **3.4.5. Sekvence**

Sekundární PCR produkty pozitivních vzorků (mikrosporidie) byly sekvenovány pomocí ABI BigDye Terminator v 3.1 Cycle Sequencing Kit na sekvenátoru ABI3130 (SEQme, ČR) za použití sekundárních primerů (*E. bienersi* - EBITS1 a EBITS2,4; *Encephalitozoon* spp. – MSP-3 a MSP-4A) (Tab. 2). Získané sekvence byly analyzovány pomocí programu ChromasPro v 1.32 (Technelysium Pty Ltd., Australia), a poté pomocí programů ClustalX (Thompson et al. 1997) a BioEdit (Hall 1999). Enzymaticky přečištěné PCR produkty kokcií byly sekvenovány na automatickém sekvenátoru ABI PRISM 3730XL DNA analyzer (Makrogen, Amsterdam), použitím PCR primerů (18S rDNA – EimF, EimR; COI – CoiF a CoiR) (Tab. 2). Sekvence byly identifikovány analýzou BLAST algoritmem.

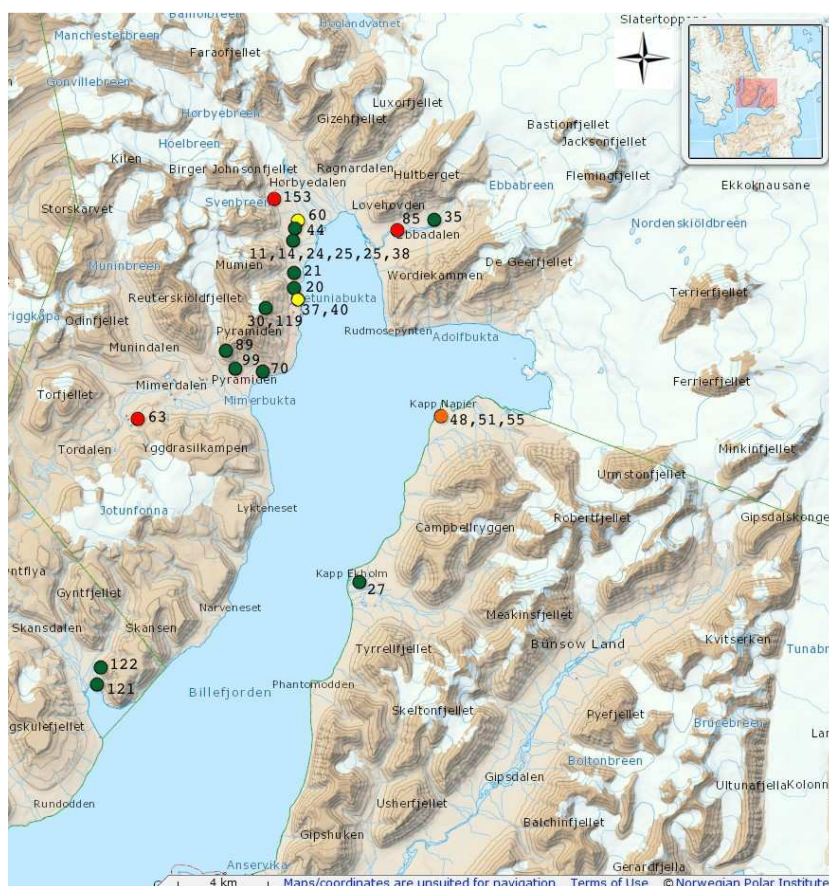
#### **3.4.6. Fylogenetické analýzy**

Pro zjištění fylogenetických vztahů získaných sekvencí kokcií a mikrosporidií byly použity jedno-genové matice. Tyto matice byly vytvořeny použitím získaných sekvencí a sekvencí vybraných z databáze GenBank ([www.ncbi.nlm.nih.gov](http://www.ncbi.nlm.nih.gov)). Pro dosažení stability a spolehlivosti umístění kořene bylo jako outgroup použito několik taxonů. Matice pro mikrosporidie byla upravována na úrovni nukleotidů, pro kokcie na úrovni aminokyselin a následně uložena v nukleotidech. Alignment byl vytvořen v programu

MAFFT v.6 (Kato et al. 2002, 2005) a ručně upraven pomocí programu BioEdit. Fylogenetické vztahy mezi mikrosporidii byly rekonstruovány metodou Neighbor-Joining (Saitou et Nei 1987) dle Kimury (Kimura 1980), a pro fylogenezi získaných kokcií byly použity tři rozdílné fylogenetické přístupy: Maximum parsimony (MP), Maximum likelihood (ML) a Bayesian inference (BI). MP byla prováděna programem PAUP v. 4b10 (Swofford 2002). Matice byla analyzována heuristickým algoritmem TBR a ze získaných stromů byl následně vytvořen konsensus. ML byla počítána programem PhyML v. 2.4.3s (Guindon a Gascuel 2003) s použitím modelu GTR, a BI v programu MrBayes v 3.2. (Huelsenbeck a Ronquist 2001) pro 10 milionů generací. Bootstrap výsledných MP a ML stromů byl získán na základě 1000 opakování. K rekonstrukci fylogenetických stromů pro mikrosporidie byl použit program TREECON 1.3b (Van de Peer 1994). Strom kokcií byl znázorněn užitím programu TreeView v. 1.6.6. (Page 1996) a graficky upraven v programu Adobe Illustrator CS5 (Adobe Systems Inc.).

## 4. VÝSLEDKY

Mikroskopicky bylo vyšetřeno 208 vzorků trusu z celkového počtu 254. Z těchto 208 vzorků bylo 60 (28,9 %) mikroskopicky pozitivních na přítomnost parazitů. Nejčastěji byly nacházeny oocysty kokciidií, a to u savců i u ptáků z různých lokalit (Obr. 16). Z celkem 254 vzorků trusu pouze 11 (4,3 %) vzorků bylo molekulárně pozitivních na přítomnost mikrosporidií a u 4 vzorků se podařilo získat DNA kokciidií.



**Obrázek 16:** Zaznačené GPS souřadnice jednotlivých vzorků pozitivních na kokcidie v oblasti Petuniabukta (Billefjorden) (zeleně – *Rangifer* sp., červeně – *Vulpes* sp., žlutě – *Anser* sp., oranžově – *Branta* sp.).  
Zdroj mapy: <http://toposvalbard.npolar.no/>

## 4.1. Savci

### Sudokopytníci (Artiodactyla)

#### ***Rangifer tarandus platyrhynchus* (sob polární)**

Z počtu 106 vyšetřených vzorků sobů bylo 41 (38,7 %) mikroskopicky pozitivních na přítomnost parazitů, z toho u některých jedinců byla zjištěna smíšená infekce. Pomocí flotační techniky byly určeny 4 morfologicky odlišné typy gastrointestinálních parazitů (Tab. 7). V sezóně 2013 byly nalezeny pouze 2 typy. Největší zastoupení měla vajíčka trichostrongyloidních hlístic a oocysty kokcií.

Celkem 11 (10,3%) vyšetřovaných sobů bylo pozitivních na kokcie (Tab. 7). Nalezené oocysty byly určovány do morfotypů na základě dosud publikovaných popisů (Pellérdy 1974, Gudmundsdottir a Skirnisson 2005, 2006) (Příloha IV). Většina vzorků obsahovala dva i více morfotypů kokcií (Tab. 8). Mnoho oocyst se nacházelo v nevysporulovaném stavu.

**Tabulka 7:** Paraziti zjištění mikroskopicky u soba polárního v sezóně 2012 a 2013.

<b>Parazit</b>	<b>Počet pozitivních vzorků</b>	
<i>Coccidia</i>	18	
<i>Trichostrongyloidea</i>	38	(Obr. 17)
<i>Capillaria</i> sp.	2	(Obr. 19, 20)
<i>Moniezia benedini</i>	1	(Obr. 18)

**Tabulka 8:** Morfotypy kokcií zjištěné mikroskopicky u soba polárního. Součástí tabulky je číslo vzorku/rok (2012 = 2, 2013 = 3), určený morfotyp a jeho charakteristika.

<b>Vzorek</b>	<b>Morfotyp</b>	<b>Popis</b>
20/3	<i>Eimeria polaris</i> (Obr. 21A)	Nalezené oocysty se nacházely pouze v nevysporulovaném stavu a byly určeny na základě velikosti oocysty a přítomnosti mikropyle.
24/3	<i>Eimeria</i> sp. (Obr. 21B)	Neodpovídá žádnému z dosud popsáných druhů u sobů. Oocysta má velice silnou a hladkou stěnu s mikropyle a kulaté sporocysty bez zřetelného Stiedova tělíska.
	<i>Eimeria</i> sp. (Obr. 21C)	Neodpovídá žádnému z dosud popsáných druhů. Oocysta má tenkou stěnu s mikropyle a výraznou pólou čepičku.
	<i>Eimeria polaris</i>	Oocysta má drsnou stěnu a kulatý sporont.
25/3	<i>Eimeria polaris</i>	
26/3	<i>Eimeria polaris</i> <i>Eimeria</i> sp.	Velikostně neodpovídá žádnému z dosud popsáných druhů u sobů. Oocysta má oválný tvar a mikropyle. Sporont je kulatý.
27/3	<i>Eimeria arctica</i> (Obr. 21D)	Oocysty mají protáhlý oválný tvar s mikropyle. Sporont je kulatý.
30/3	<i>Eimeria</i> sp. <i>Eimeria polaris</i>	Nalezené oocysty neodpovídají velikostně na žádný z dosud popsáných druhů u sobů. Mají hladkou, silnou stěnu s širokým mikropyle.
38/2	<i>Eimeria</i> sp. (Obr. 21E)	Nalezené oocysty neodpovídají žádnému z dosud popsáných druhů. Mají hladkou stěnu a velmi široké mikropyle s pólou čepičkou.
44/2	<i>Eimeria tarandina</i> (Obr. 21F)	Oocysty jsou bez mikropyle s granulovanými, sférickými až oválnými sporocystami.
	<i>Eimeria rheindyria</i> (Obr. 21G)	Elipsoidní oocysty jsou bez mikropyle, s vřetenovitými sporocystami.
89/2	<i>Eimeria mayeri</i> (Obr. 21H)	Oocysty jsou nevysporulované, se sporontem vyplňujícím celý obsah oocysty. Oocysta má modravě zbarvenou stěnu.
119/3	<i>Eimeria</i> sp.	Oocysty jsou nevysporulované s hladkou stěnou a s mikropyle.
122/3	<i>Eimeria</i> sp.	Oocysty jsou nevysporulované s hladkou stěnou a sporontem vyplňujícím celý obsah oocysty.

## Šelmy (Carnivora)

### *Vulpes lagopus* (liška polární)

Z celkového počtu 20 vyšetřených lišek bylo 7 (35 %) pozitivních na přítomnost parazitů. Flotační metodou a sedimentačními metodami bylo určeno 5 odlišných typů endoparazitů (Tab. 9).. Nejvíce zastoupeny byly oocysty kokcií.

Nalezené oocysty kokcií byly určovány do morfotypů na základě dosud publikovaných popisů (Pellérdy 1974) (Příloha V). Dva vzorky obsahovaly dva odlišné morfotypy kokcií, u třetího se vyskytoval pouze jeden (Tab. 10). Většina nalezených oocyst se vyskytovala v nevysporulovaném stavu.

**Tabulka 9:** Paraziti nalezení mikroskopicky u lišky polární v sezóně 2012 a 2013.

<b>Parazit</b>	<b>Počet pozitivních vzorků</b>	
<i>Coccidia</i>	3	
<i>Toxascaris leonina</i>	2	(Obr. 22)
<i>Capillaria aerophila</i>	2	(Obr. 24)
<i>Uncinaria stenocephala</i>	1	(Obr. 23)
Trematoda	1	

**Tabulka 10:** Morfotypy kokcií nalezené mikroskopicky u lišky polární. Součástí tabulky je číslo vzorku/rok (2012 = 2, 2013 = 3), určený morfotyp a jeho charakteristika.

<b>Vzorek</b>	<b>Morfotyp</b>	<b>Popis</b>
63/2	<i>Eimeria chaus</i> (Obr. 25A)	Stěna oocysty je nažloutlá, oocysta je kulovitá až oválná, bez mikropyle.
	<i>Eimeria langeroni</i> (bažantí) (Obr. 25B)	Oocysta je oválného tvaru, světle zbarvená, bez mikropyle. Je přítomno reziduum oocysty. Pravděpodobně pasáž.
85/2	<i>Eimeria</i> sp.	Oocysta je nevysporulovaná, kulovitá, bezbarvá, bez mikropyle. Obsahuje formující se sporont.
153/3	<i>Eimeria canis</i> (Obr. 25C)	Oocysta je oválná s hladkou stěnou a obsahuje polární granulum. Sporocysty jsou oválné.
	<i>Eimeria adleri</i> (Obr. 25D)	Oocysta je kulovitá, nevysporulovaná. Má nažloutlou stěnu.



### ***Ursus maritimus* (medvěd lední)**

Z celkového počtu 7 nalezených vzorků trusu byl pouze jeden mikroskopicky pozitivní na přítomnost parazitů. Vzorek obsahoval vajíčka škrkavky rodu *Baylisascaris* (Obr. 26), detekovaná sedimentační metodou AMS.

### ***Pusa hispida* (tuleň kroužkový)**

Jediný vzorek obsahoval velké množství vajíček tasemnice rodu *Diphyllobothrium* (Obr. 27). Tato vajíčka byla detekována jak flotační, tak i sedimentační metodou AMS.

## 4.2. Ptáci

### *Anser brachyrhynchus* (husa krátkozobá)/ *Branta leucopsis* (berneška bělolící)

Všechny vzorky trusu papuchalků byly negativní na parazity. Z celkového počtu 42 hus a bernešek bylo 5 (11,9 %) pozitivních na přítomnost kokcií, které byly detekovány flotační metodou (Tab. 11). Nalezené oocysty kokcií byly určovány do morfotypů na základě dosud publikovaných popisů (Pellérdy 1974) (Příloha VI). Většina oocyst se nacházela v nevysporulovaném stavu. Vajíčka helmintů nebyla nalezena.

**Tabulka 11:** Morfotypy kokcií nalezené mikroskopicky u bernešek a hus během sezóny 2013. Součástí tabulky je číslo vzorku/rok (2012 = 2, 2013 = 3), určený morfotyp a jeho charakteristika.

Vzorek	Hostitel	Morfotyp	Popis
48	<i>B. leucopsis</i>	<i>Eimeria hermani/E. kotlani</i> (Obr. 28A)	Oocysta tvarem odpovídá morfotypu <i>E. hermani</i> , ale liší se velikostí. Velikostně odpovídá morfotypu <i>E. kotlani</i> . Je v nevysporulovaném stavu a obsahuje kulatý sporont.
		<i>Eimeria fulva</i> (Obr. 28B)	Oocysta má hrubou stěnu s hnědým zabarvením a mikropyle.
55	<i>B. leucopsis</i>	<i>Eimeria nocens</i> (Obr. 28C)	Oocysta odpovídá danému morfotypu velikostí, oválným tvarem, hladkou stěnou, rozměry sporocysty a charakterem Stiedova tělíska.
37	<i>A. brachyrhynchus</i>	<i>Eimeria hermani/E. kotlani</i> (Obr. 28D)	Většina nevysporulovaných - popis viz Vzorek 48. U několika náznak tvorby sporocyst.
40	<i>A. brachyrhynchus</i>	<i>Eimeria</i> sp. (Obr. 28E)	Oocysta neodpovídá žádnému z dosud popsáných morfotypů u bernešek a hus. Má drsnou stěnu s mikropyle, bez pólové čepičky. Oválné až kulaté sporocysty.
60	<i>A. brachyrhynchus</i>	<i>Eimeria nocens</i>	Oocysta má nezřetelné mikropyle a hrubou stěnu. S morfotypem se shoduje i přítomností rezidua sporocysty.

### 4.3. Fotografická dokumentace

#### *Rangifer tarandus*



**Obrázek 17:** Vajíčko trichostrongyloidní hlístice z trusu soba polárního, flotace (Měřítko = 20  $\mu\text{m}$ ).



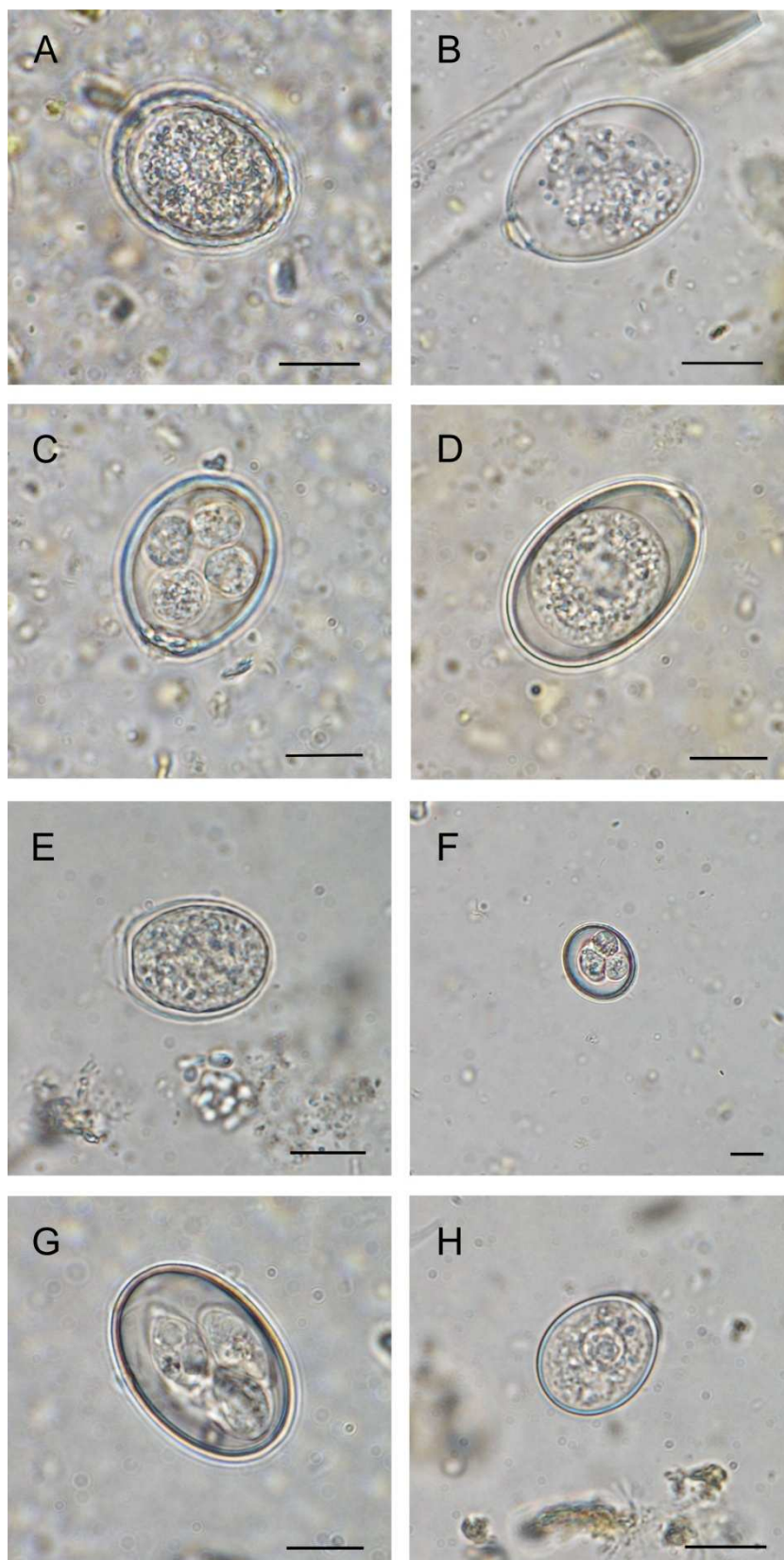
**Obrázek 18:** Vajíčko *Moniezia benedini* z trusu soba polárního, flotace (Měřítko = 20  $\mu\text{m}$ ).



**Obrázek 19:** Vajíčko *Capillaria* sp. z trusu soba polárního, flotace (Měřítko = 20  $\mu\text{m}$ ).



**Obrázek 20:** Vajíčko *Capillaria* sp. z trusu soba polárního, flotace (Měřítko = 20  $\mu\text{m}$ ).



**Obrázek 21:** Oocysty kokcií z trusu soba polárního, flotace. A- morfotyp *Eimeria polaris* (vzorek 20/3), B- *Eimeria* sp. C- *Eimeria* sp. (vzorek 24/3), D- morfotyp *E. arctica* (vzorek 27/3), E- *Eimeria* sp. (vzorek 38/2), F- morfotyp *E. tarandina*, G- morfotyp *E. rheindyria* (vzorek 44/2), H- *E. mayeri* (Měřítko = 10  $\mu$ m).



*Vulpes lagopus*



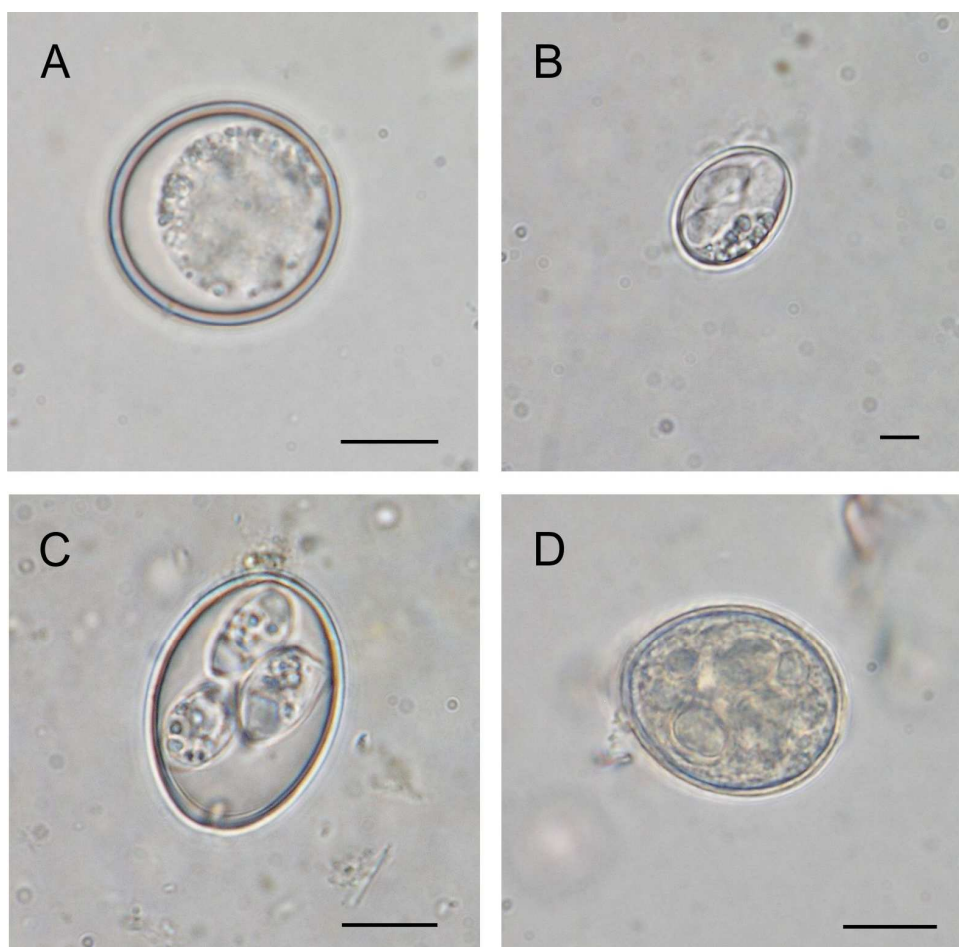
**Obrázek 22:** Vajíčko *Toxascaris leonina* z trusu lišky polární, flotace (Měřítko = 20  $\mu\text{m}$ ).



**Obrázek 23:** Vajíčko *Uncinaria stenocephala* z trusu lišky polární, flotace (Měřítko = 20  $\mu\text{m}$ ).



**Obrázek 24:** Vajíčko *Capillaria aerophila* z trusu lišky polární, flotace (Měřítko = 20  $\mu\text{m}$ ).



**Obrázek 25:** Oocysty kokcií z trusu lišky polární, flotace. A- morfotyp *Eimeria chaus*, B- morfotyp *E. langeroni* (vzorek 63/2), C- morfotyp *E. canis*, D- morfotyp *E. adleri* (vzorek 153/2) (Měřítko = 10  $\mu\text{m}$ ).

***Ursus maritimus***



**Obrázek 26:** Vajíčko *Baylisascaris transfuga* z trusu medvěda ledního, sedimentace AMS (Měřítko = 20  $\mu\text{m}$ ).

***Pusa hispida***



**Obrázek 27:** Vajíčko *Diphyllobothrium lanceolatum* z trusu tuleně kroužkovaného, AMS (Měřítko = 20  $\mu\text{m}$ ).



*Anser brachyrhynchus/ Branta leucopsis*



**Obrázek 28:** Oocysty kokcií z trusu husy krátkozobé a bernešky bělolící, flotace. A- morfotyp *Eimeria hermani*, B- morfotyp *E. fulva* (vzorek 48), C- morfotyp *E. nocens* (vzorek 55), D- morfotyp *E. hermani* (vzorek 37), E- morfotyp *Eimeria* sp. (vzorek 40) (Měřítko = 10  $\mu$ m).

#### 4.4. Molekulární data

U žádného z 254 vyšetřených vzorků trusu nebyla prokázána přítomnost DNA giardií ani kryptosporidií. DNA mikrosporidií byla detekována u 11 (4,3 %) vzorků. Pět vzorků (medvěd lední, pes) bylo pozitivních na *Encephalitozoon cuniculi* genotyp II a šest vzorků (liška polární, sob polární, racek tříprstý, husa krátkozobá) na *Enterocytozoon bieneusi* (Tab. 12). Jak je znázorněno v kladogramu fylogenetických vztahů *E. bieneusi* (Obr. 29), všechny sekvence spadají do jedné hlavní skupiny, která byla na základě standardizované nomenklatury označena jako skupina 1 (Thellier a Breton 2008). Pro fylogenetickou analýzu byly použity vybrané sekvence z databáze GenBank. Přístupová čísla jsou uvedena v hranatých závorkách. Všechny hodnoty podpory větví (bootstrap) byly více než 50 %. ITS sekvence (B1106, B1326, B1329) ze vzorků od lišky, racka a soba jsou 100 % shodné s genotypem EbpC [AF076042] původně popsáno z prasete. Genotypy B1327, B1325 ze soba a racka jsou nejpříbuznější genotypu EbpC. Genotyp B1328 z racka je 100 % shodný s genotypem CAF1 [DQ683746] popsáno z imunodeficientního pacienta.

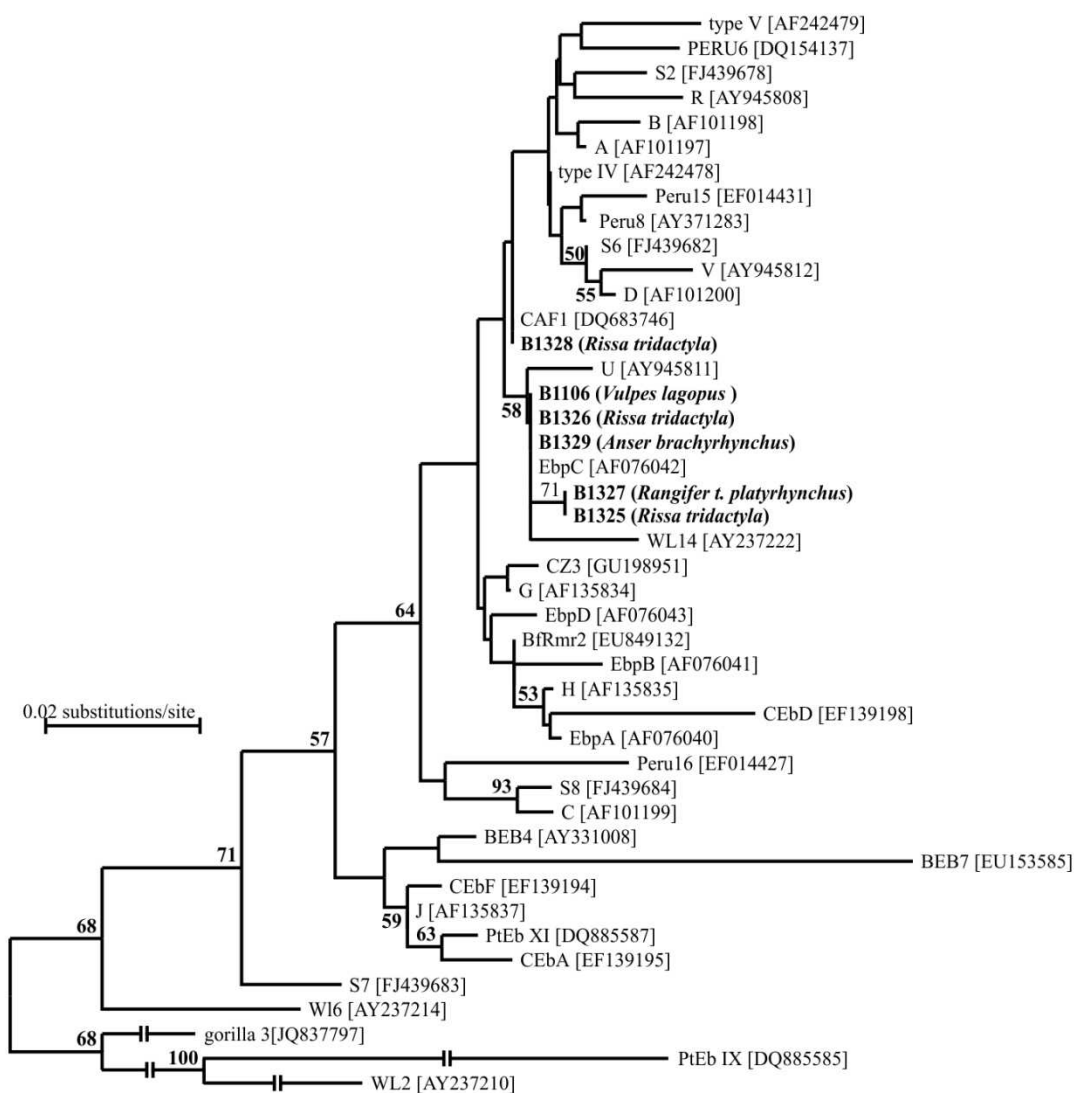
Z 22 vzorků, ve kterých byly mikroskopicky diagnostikovány kokcidie, se podařilo získat sekvence mitochondriálního genu pro cytochrom c oxidázu I (COI) u 4 vzorků (Obr. 30). V alignmentu bylo použito celkem 35 sekvencí COI, které byly doplněny z databáze GenBank (Tab. 13). Výsledný alignment byl ořezán na jednotnou délku 636 bp. Jako outgroup pro fylogenetické analýzy byla vybrána *Chromera velia* (Tab. 13). Sekvence COI vzorku č. 63 (63A – z lišky polární) klastruje spolu se sekvencemi kokcidií získaných z krocanů. Sekvence vzorku 153 (3A) z trusu lišky polární klastruje se sekvencemi nepříbuzných hostitelských druhů (luskoun, čížek). Sekvence vzorku č. 51 (9B) z bernešky a č. 60 (10FH) z husy jsou si příbuzné a v analýzách jsou vždy vyčleněny zvlášť, na samostatné větví, velmi vzdálené od ostatních sekvencí.

**Tabulka 12:** Molekulárně pozitivní vzorky na DNA mikrosporidií.

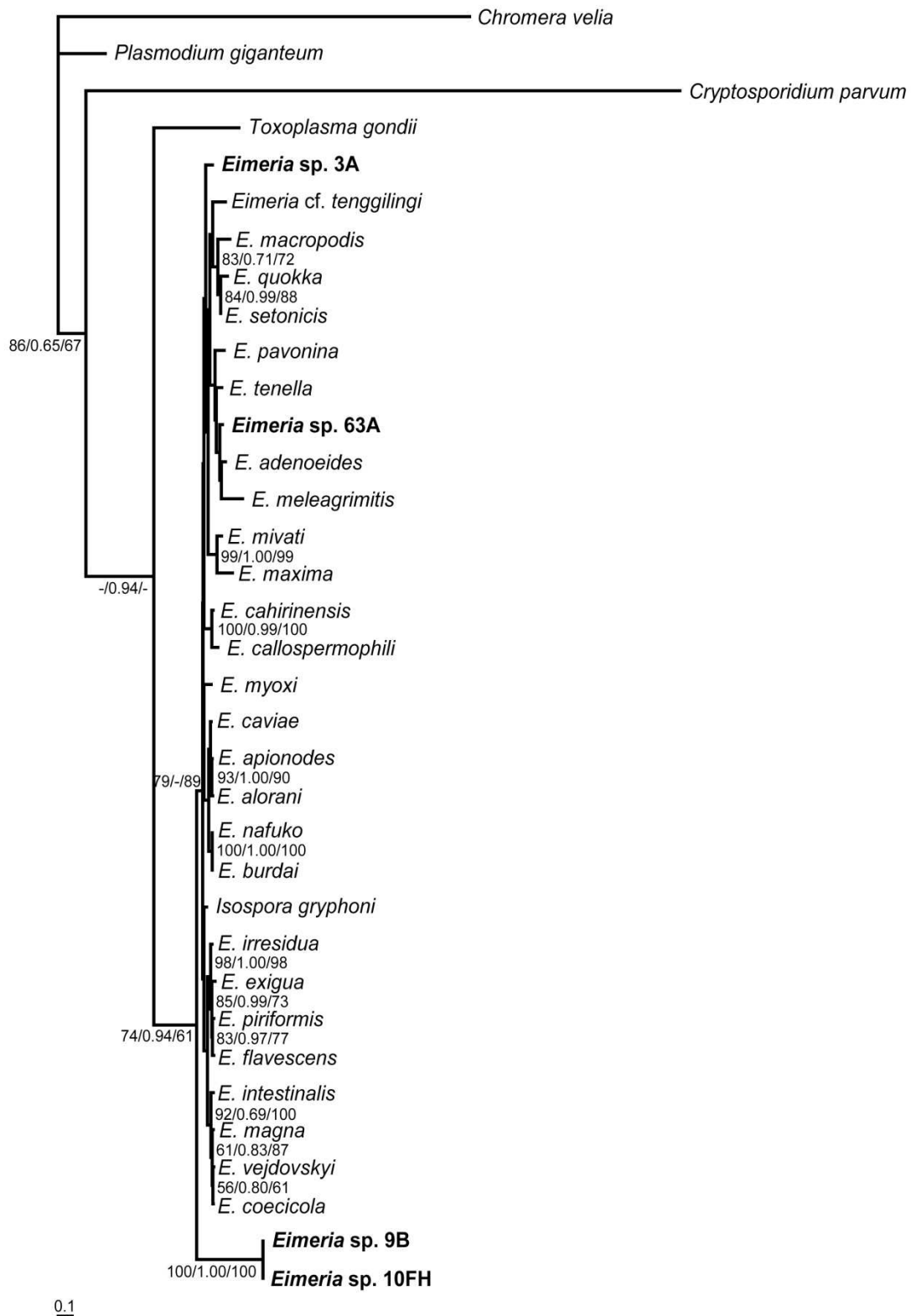
<i>Encephalitozoon cuniculi</i> genotyp II	Počet pozitivních vzorků	
<i>Ursus maritimus</i>	1	
<i>Canis lupus f. familiaris</i>	4	
<i>Enterocytozoon bieneusi</i> (Obr. 29)		Genotyp
<i>Vulpes lagopus</i>	1	B1106
<i>Rangifer tarandus platyrhynchus</i>	1	B1327
<i>Rissa tridactyla</i>	3	B1325, B1326, B1328
<i>Anser brachyrhynchus</i>	1	B1329

**Tabulka 13:** Získané sekvence COI (tučně) a další sekvence vybrané z databáze GenBank, použité pro fylogenetické analýzy.

Název kokcidie (číslo vzorku)	Hostitel	Přístupový kód z GenBank
<i>Eimeria adenoeides</i>	krocán domácí	KC346360
<i>E. alorani</i>	myšice temnopásá	JQ993701
<i>E. apionodes</i>	myšice lesní	JX464221
<i>E. burdai</i>	rypoš stříbřitý	JQ993709
<i>E. cahirinensis</i>	myš bodlinatá	JQ993687
<i>E. callospermophili</i>	sysel obecný	JQ993688
<i>E. caviae</i>	morče domácí	JQ993689
<i>E. coecicola</i>	králík domácí	JQ993690
<i>E. exigua</i>	králík domácí	JQ993691
<i>E. flavescens</i>	králík domácí	JQ993692
<i>E. intestinalis</i>	králík domácí	JQ993693
<i>E. irresidua</i>	králík domácí	JQ993694
<i>E. macropodis</i>	klokan	JQ392580
<i>E. magna</i>	králík domácí	JQ993695
<i>E. maxima</i>	kur domácí	FJ236459
<i>E. meleagrimitis</i>	krocán domácí	KC346351
<i>E. cf. mivati</i>	kur domácí	FJ236441
<i>E. myoxi</i>	plch zahradní	JQ993696
<i>E. nafuko</i>	rypoš stříbřitý	JQ993708
<i>E. pavonina</i>	páv	JN596590
<i>E. piriformis</i>	králík domácí	JQ993698
<i>E. quokka</i>	klokan	KF225637
<i>E. setonicis</i>	klokan	KF225638
<i>E. cf. tenggilingi</i>	luskoun bělobřichý	JX464222
<i>E. vej dovsk yi</i>	králík domácí	JQ993699
<i>E. tenella</i>	kur domácí	FJ236458
<b><i>Eimeria</i> sp. (63A)</b>	liška polární	-
<b><i>Eimeria</i> sp. (3)</b>	liška polární	-
<b><i>Eimeria</i> sp. (9)</b>	berneška bělolící	-
<b><i>Eimeria</i> sp. (10)</b>	husa krátkozobá	-
<i>Iso spora gryphoni</i>	čížek žlutý	KC346355
<i>Plasmodium giganteum</i>	agama osadní	EU254577
<i>Toxoplasma gondii</i>	kočka domácí	HM771690
<i>Cryptosporidium parvum</i>	?	AY280716
<i>Chromera velia</i>	útesovník hvězdnatý	KC899110



**Obrázek 29:** Kladogram fylogenetických vztahů mikrosporidií *Enterocytozoon bienersi* získaných v této práci a ostatních genotypů *E. bienersi* z databáze GenBank na základě Internal Transcribed Spacer (ITS) genu rRNA vytvořený metodou Neighbor-Joining v programu Treecon; 1000× bootstrap; znázorněny hodnoty podpory větví větší než 50 %. Sekvence získané v této studii jsou zvýrazněny tučně. Délka spodních větví byla zkrácena 10x.



**Obrázek 30:** Kladogram fylogenetických vztahů kokcií ze Svalbardu na základě analýzy sekvencí pro COI metodou ML. U uzlů jsou uvedeny hodnoty bootstrapů vyšší než 50 %, při větvení zachovaném rovněž v analýzách BI a MP posterior probabilities (PP) vyšší než 0.50, a MP hodnoty bootstrapů vyšší než 50 % (v pořadí ML/BI/MP). Sekvence získané v této studii jsou zvýrazněny tučně. -, větvení v BI nebo MP analýze je jiné než v ML.

## 5. DISKUZE

Špicberky jsou součástí souostroví Svalbard. Souostroví je značně vzdáleno od pevniny a vládne zde arktické podnebí. Diverzita parazitofauny u terestriálních obratlovců je proto v porovnání s ostatními oblastmi v Arktidě nižší. Je to také způsobeno menší diverzitou hostitelů na ostrově a odlišnými potravními návyky a chováním.

V této práci bylo identifikováno devět parazitických skupin infikujících obratlovce na Špicberkách, a to jak jednobuněčných, tak mnohobuněčných. Někteří z těchto parazitů už byli u studovaných hostitelů dříve zaznamenáni (Příloha I - III); nalezeni však byli i paraziti, kteří na Špicberkách dosud nebyli diagnostikováni (*Uncinaria* sp.), a také zde byla poprvé detekována přítomnost DNA mikrosporidií, konkrétně *E. cuniculi* u medvěda ledního a DNA *E. bienersi* u lišky polární, soba polárního a racků tříprstých. Poprvé byl také diagnostikován gastrointestinální parazit u volně žijícího medvěda ledního.

V rámci metodiky se ukazuje, že pro koprologickou analýzu je nejvhodnější flotace dle Sheathera v kombinaci se sedimentací (AMS). Sedimentace je schopna detekovat i jiné spektrum vajíček helmintů, z větší tak záchytnost parazitofauny v koprologickém materiálu.

Sobi polární jsou jedinými velkými, volně žijícími herbivory vyskytujícími se na Svalbardu. V této studii byla v trusu sobů nalezena vajíčka několika skupin helmintů: Trichostrongyloidea, *Capillaria* sp. a *Moniezia* sp. Největší podíl parazitických helmintů tvořila vajíčka Trichostrongyloidea. Tito nematodi jsou běžnými parazity zaživačského traktu přežvýkavců a mohou mít negativní vliv na tělesnou kondici a přežívání divokých kopytníků (Stien et al. 2002). U rodu *Rangifer* není známo, že by jim tyto helminti způsobovali závažnější problémy, byl však zaznamenán negativní vliv infekce na tělesnou kondici, váhu, množství tuku a plodnost samic (Albon 2002, Stien et al. 2002). Byla vyslovena hypotéza, že tyto paraziti mohou regulovat populaci v oblastech, kde se nevyskytují predátoři (Albon 2002). Nejčastěji diagnostikovanými rody u sobů jsou *Ostertagia*, *Marshallagia* a *Teladorsagia* (Halvorsen a Bye 1999). Většina studií, ve kterých byli tyto nematodi popsáni, byla založena na diagnostice a morfologii larev, získaných z ulovených zvířat (Bye et al. 1987b, Dallas et al. 2000, Halvorsen a Bye 1999). Údaje v dostupné literatuře o rozměrech vajíček vyskytujících se u sobů neodpovídají velikosti vajíček nalezených v této studii. Proto je jejich podrobnější diagnostika jen na základě mikroskopie nemožná, a bude zapotřebí použít jiné metody, nejlépe molekulární. U nalezené tasemnice se jedná s největší pravděpodobností o druh *Moniezia benedini*, který byl již dříve na Svalbardu popsán (Bye 1985).

Dalším studovaným druhem hostitele byl *Vulpes lagopus*. Lišky polární jsou na Svalbardu jedním z hlavních predátorů, a proto se předpokládá, že mají velké množství parazitů. V této práci byla u lišek nalezena vajíčka helmintů *Capillaria aerophila*, *Toxascaris leonina*, *Uncinaria stenocephala* a jedno vajíčko blíže nespecifikované motolice. Morfologie vajíčka nejvíce odpovídala tvarově heterofyidní motolici rodu *Cryptocotyle*, ale lišilo se rozměry/velikostí a s vysokou pravděpodobností šlo o pasáž. *Toxascaris leonina* je kosmopolitním parazitem psovíťých a kočkovíťých šelem. Na rozdíl od druhu *Toxocara canis*, který se také vyskytuje u lišek, se zdá být dominantním druhem vyskytujícím se u lišek polárních i v jiných populacích (Aguirre et al. 2000, Eaton a Secord 1979, Elmore et al. 2013, Kapel a Nansen 1996, Skirnisson et al. 1993). Tento parazit má přímý vývojový cyklus, ale bylo prokázáno, že může využívat hlodavce jako paratenického hostitele (Rausch et al. 1990). Se zavlečením hraboše *Microtus levis* do ekosystému Špicberk, i když jen do několika oblastí, by se mohly rozšířit cesty přenosu tohoto parazita, což může mít negativní dopad na reprodukci lišek (Stien et al. 2010, Aguirre et al. 2000, Meijer et al. 2011). Jeden vzorek trusu obsahoval vajíčka měchovce, pravděpodobně druh *Uncinaria stenocephala*. Ten bývá běžně diagnostikován u lišek polárních v Evropě i jinde ve světě, ale dosud nebyl zjištěn na Svalbardu. *Uncinaria stenocephala* má přímý vývoj a saje krev v tenkém střevě psovíťých šelem. Infekce může být asymptomatická, ale také smrtelná, zejména pro mláďata (Aguirre et al. 2000). Larvy hlístic tohoto rodu jsou velmi odolné vůči nízkým teplotám a jsou rezistentnější k přemrznutí než hlístice *Ancylostoma caninum*, se kterou by mohly být zaměněny (Gibbs a Gibbs 1959). *Capillaria* sp. je běžně se vyskytujícím helmintem lišek. Nalezená vajíčka pravděpodobně patří druhu *Capillaria aerophila*. Kokcidie byly nalezeny ve třech vzorcích. Ve všech případech se jednalo pravděpodobně o rod *Eimeria*. Infekce tímto parazitem není u lišek polárních moc známá. Je možné, že v některých případech šlo o pasáž oocyst s pozřenou potravou; například u vzorku 63/2 (Tab. 10) některé kokcidie odpovídaly druhu *E. langeroni*, což je kokcidie popsána z bažantů, a lišky je mohly pozřít s bělokury, kteří jim slouží jako potrava. Obecně mnoho nalezených oocyst kokcidií nemohlo být blíže určeno, jelikož většina se jich nacházela v nevysporulovaném stavu. Dalším problémem je nekompletní popis mnoha druhů/morfotypů, zejména u lišek polárních (Pellérdy 1974, Ryšavý 1954). Oocysty mohly zůstat v nevysporulovaném stavu kvůli pomalejšímu vývoji při nižších teplotách, kterým jsou vystaveny v arktickém podnebí Špicberk.

Lední medvědi jsou obligátní karnivoři, kteří se specializují na mořské savce. V porovnání s nimi však mají medvědi překvapivě málo parazitů, přestože se živí i mršinami

a jsou vázáni na mořské prostředí již od konce čtvrtohor (Hoberg et al. 2012, Hoberg a Kutz 2013). Tento fakt může být zapříčiněn jejich způsobem konzumace potravy, kdy medvědi často žerou pouze tukovou vrstvu ze své kořisti (Sale 2006), a tím se vyhnou pozření parazitů z vnitřních orgánů. Dalším důvodem může být jejich migrační styl života na ledu. S tím, jak jsou stále více vysídlováni z ledu, dochází ke změně jejich stravovacích návyků, a proto lze očekávat, že to povede k vystavení širokému spektru pro ně netypických parazitů, například motolic (Laidre et al. 2008). Hlavní důvod nedostatku záznamů o gastrointestinálních parazitech ledních medvědů však spočívá především v tom, že nebyli nikdy studováni na přítomnost těchto parazitů, s výjimkou několika jedinců držených v zajetí (Příloha III). Ve vzorcích vyšetřených v této práci byl mikroskopicky pozitivní pouze jeden jedinec, a to na přítomnost vajíček askaridních hlístic, pravděpodobně druhu *Baylisascaris transfuga*. Jedná se o první záznam gastrointestinálního parazita nalezeného u volně žijících medvědů ledních. Zástupci tohoto druhu jsou běžnými parazity medvědů a byli nalezeni u většiny druhů medvědů na celém světě (Příloha III) (Rogers a Rogers 1974, Testini et al. 2011). Vysoká nákaza tímto parazitem může vést až k úhynu medvěda (Testini et al. 2011).

Parazitologicky byl vyšetřen také jeden vzorek trusu od tuleně kroužkovaného. Tento vzorek obsahoval velké množství vajíček tasemnice rodu *Diphyllobothrium* sp. Na základě studia dospělců byla tato tasemnice určena jako *D. lanceolatum* (Kuchta, osobní sdělení, Hilliard 1960).

Ze vzorků trusu získaných od ptáků byly mikroskopicky vyšetřeny pouze vzorky od hus (*Anser brachyrhynchus*), bernešek (*Branta leucopsis*) a papuchalků (*Fratercula arctica*). U ostatních ptáků byly provedeny pouze molekulární analýzy z důvodu malého množství vzorků trusu. V případě papuchalků byly všechny vzorky negativní. Vzorky hus a bernešek obsahovaly oocysty kokciidií, z nichž se většina nacházela v nevysporulovaném stavu. Tyto dva druhy se živí převážně vegetací a jsou to migrující ptáci. Proto je zde také možnost pasáže oocyst s pozřenou potravou či vodou.

Z celkového počtu 254 vzorků trusu byla jen z několika získána DNA jednobuněčných parazitů. Většina záznamů o jednobuněčných parazitech v severských oblastech (s výjimkou kokciidií) se týká imunologické diagnostiky kryptosporidií a giardií (Elmore et al. 2013, Hamnes et al. 2006, Robertson et al. 2007, Siefker et al. 2002). Jediný záznam o mikrosporidiích je z Islandu, kde byl imunologicky prokázán *E. cuniculi* u lišek polárních na místní farmě (Hersteinsson et al. 1993). Mikrosporidie patří mezi jednu z nejrozšířenějších skupin intracelulárních parazitů většiny živočišných druhů. V této práci byla prokázána přítomnost DNA *E. cuniculi* genotypu II u psů (husky), chovaných ve správné



osadě Longyearbyenu a u medvěda ledního. Zdroj infekce je neznámý, jelikož genotypy *E. cuniculi* jsou hostitelsky nespecifické a vyskytují se u různých druhů savčích i ptačích hostitelů (Canning and Hollister 1987, Kašičková et al. 2009). Dovoz zvířat na Svalbard je striktně omezen. V minulosti zde byl neúspěšný pokus o introdukci pižmoňů (*Ovibos moschatus*), ale jinak je zde povolen pouze chov několika kusů dobytka v ruské osadě Barentsburg a chov poníků a tažných psů v Longyearbyenu. Jak je patrné z nálezů *E. cuniculi* u psů, ani velmi striktní veterinární kontrola není schopna zaznamenat výskyt jednobuděčných parazitů.

Dále byla prokázána přítomnost DNA *E. bieneusi* u lišky polární, soba polárního, husy krátkozobé a tří racků tříprstých. Všechny sekvence patří do skupiny 1 dle standardizované nomenklatury (Thellier a Breton 2008). Skupina 1 je největší ze skupin a obsahuje genotypy izolované celosvětově z široké škály hostitelů, včetně lidí, prasat, skotu, psů a ptáků (Buckholt et al. 2002, Lobo et al. 2006, Müller et al. 2008, Santín et al. 2005, Sulaiman et al. 2003b). Zdroj této infekce je rovněž neznámý. Pět ze šesti vzorků bylo sesbíráno v oblasti hornické osady Pyramiden, kde se nachází početná kolonie racků tříprstých. Jeden vzorek (sob) je z opačné strany zátoky, ale toto místo je častým útočištěm racků tříprstých pravděpodobně i z Pyramiden. U žádného ze vzorků nebyla prokázána přítomnost DNA giardií ani kryptosporidií, i když kryptosporidie již byly na Špicberkách zaznamenány, a to u soba, husy a bernešky (Honsová 2012).

Sekvence genu pro COI eimerie vzorku č. 63 z trusu lišky polární kladu do skupiny se sekvencemi eimerií získaných z krocanů. U tohoto vzorku byly mikroskopicky diagnostikovány kokcidie morfotypu *Eimeria langeroni* (popsané z bažantů), pravděpodobně se tedy jedná o pasáž. Sekvence kokcidií vzorků č. 153 (3A) z lišky polární, č. 51 (9B) od bernešky a č. 60 (10FH) z husy kladu se sekvencemi naprosto nepříbuzných druhů. To je s největší pravděpodobností způsobeno nedostatkem příbuzných sekvencí genu pro COI z těchto hostitelských druhů.

Parazitofauna u volně žijících zvířat může být v této práci značně podhodnocena oproti jiným studiím z této oblasti, jelikož se pracovalo pouze s koprologickým materiálem. Hlavní problém spočívá v tom, že tak mohou být diagnostikovány pouze stádia parazitů (dospělci, vajíčka, oocysty, cysty), která jsou vylučována v danou dobu (Meijer et al. 2011). Tento způsob studie byl zvolen proto, že mikroskopické vyšetření trusu je neinvazivní metodou, a je tedy vhodné pro zjišťování parazitofauny u volně žijících zvířat bez jejich usmrcení. Vyššího záchytu parazitů a jejich přesnější identifikace se však dá docílit doplněním o molekulární metody, pomocí kterých lze identifikovat například jednobuněčné

parazity, obtížně diagnostikovatelné ať už morfologicky (kokcidie, kryptosporidie) nebo celkově mikroskopicky (mikrosporidie). Molekulární metody jsou rovněž vhodné pro přesnější určení helmintů, jejichž vajíčka jsou si morfologicky velmi podobná (*Trichostrongyloidea*, *Baylisascaris* sp.). Tyto metody nám dovolují neinvazivní vzorkování a přesnější identifikaci, a mohou tak zvýšit množství informací o diverzitě a epidemiologii parazitů v severském ekosystému s větší rychlostí a ve větším měřítku, což může pomoci předpovědět zdravotní stav a možné nebezpečí pro volně žijící zvířata i pro lidi žijící v Arktidě.

## 6. ZÁVĚR

- V trusu ledního medvěda byla nalezena vajíčka druhu *Baylisascaris transfuga*. Tito gastrointestinální helminti nebyli nikdy nalezeni u volně žijících ledních medvědů. Ve vzorku trusu medvěda byla také poprvé prokázána DNA *Encephalitozoon cuniculi*.
- U lišek polárních na Svalbardu byly zaznamenány kokcidie a dva druhy helmintů *Uncinaria stenocephala* a *Capillari aerophila*. Na přítomnost DNA *Enterocytozoon bieneusi* byli pozitivní rackové tříprstí a liška polární. Toto je první záznam u těchto hostitelů.
- Molekulárními metodami se podařilo prokázat přítomnost DNA *Encephalitozoon cuniculi* genotyp II u medvěda ledního a psů chovaných v Longyearbyenu. Dále se podařilo prokázat přítomnost DNA *Enterocytozoon bieneusi* u lišky polární, soba polárního, husy krátkozobé a tří racků tříprstých.
- Pro sekvence genu pro cytochrom oxydázou I (COI) z eimerií, nejsou zatím známe žádné příbuzné sekvence z podobných hostitelů.

## 7. LITERATURA

- Anonymous. 2013. SVALBARD NATURA DOMINATUR. *About Svalbard* [online dostupné z [www.svalbard.net /en/About-Svalbard](http://www.svalbard.net/en/About-Svalbard)].
- Aguirre, A. A., A. Angerbjörn, M. Tannerfeldt a T. Mörner. 2000. Health evaluation of retic fox (*Alopex lagopus*) cubs in Sweden. *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **31**: 36-40.
- Åkerstedt, J., A. Lillehaug, I. Larsen, N. E. Eide, J. M. Arnemo a K. Handeland. 2010. Serosurvey for canine distemper virus, canine adenovirus, *Leptospira interrogans*, and *Toxoplasma gondii* in free-ganging canids in Scandinavia and Svalbard. *Journal of Wildlife Diseases* **46**: 474-480.
- Albon, S. D., A. Stien, R. J. Irvine, R. Langvatn, E. Ropstad a O. Halvorsen. 2002. The role of parasites in the dynamics of a reindeer population. *Proceedings of the Royal Society of London B* **269**: 1625-1632.
- Angliss, R. P. a B. M. Allen. 2009. Alaska marine mammal stock assessments. U.S. Dep. Commer.: NOAA Tech. Memo NMFS AFSC **193**: 223-228 pp.
- Åsbakk, K., J. Aars, A. E. Derocher, Ø. Wiig, A. Oksanen, E. W. Born, R. Dietz, C. Sonne, J. Godfroid a C. M. O. Kapel. 2010. Sero survey for *Trichinella* in polar bears (*Ursus maritimus*) from Svalbard and the Barents Sea. *Veterinary Parasitology* **172**: 256-263.
- Bromlei, F. 1965. Bears of the south far-eastern USSR (přeloženo z ruštiny). US Department of Commerce, Springfield, VA In Rogers, L. L., a S. M. Rogers. 1974. Parasites of bears: a review. *International Conference on Bear Research and Management* **3**: 411-430.
- Buckholt, M. A., J. H. Lee, a S. Tzipori. 2002. Prevalence of *Enterocytozoon bieneusi* in swine: an 18-month survey at a slaughterhouse in Massachusetts. *Applied and Environmental Microbiology* **68**: 2595-2599.
- Bye, K. a O. Halvorsen. 1983. Abomasal nematodes of the Svalbard reindeer (*Rangifer tarandu platyrhynchus* Vrolik). *Journal of Parasitology* **19**: 101-105.
- Bye, K. 1985. Cestodes of reindeer (*Rangifer tarandus platyrhynchus* Vrolik) on the Arctic islands of Svalbard. *Canadian Journal of Zoology* **63**: 2885–2887.
- Bye, K. 1987a. Abomasal nematodes from three Norwegian wild reindeer populations. *Canadian Journal of Zoology* **65**: 677-680.

- Bye, K., O. Halvorsen a K. Nilssen. 1987b. Immigration and regional distribution of abomasal nematodes of Svalbard reindeer. *Journal of Biogeography* **14**: 451-458.
- Callaghan, T. V., L. O. Björn, Y. Chernov, T. Chapin, T. R. Christensen, B. Huntley, R. A. Ims, M. Johansson, D. Jolly, S. Jonasson et al. 2004. Effects on the structure of Arctic ecosystems in the short- and long-term perspectives. *Ambio* **33**: 436-447.
- Canavan, W. 1929. Nematode parasites of vertebrates in the Philadelphia Zoological Garden and vicinity. *Parasitology* **21**: 63-102.
- Canning, E.U. a W.S. Hollister. 1987. Microsporidia of mammals – widespread pathogens or opportunistic curiosities? *Parasitology Today* **3**: 267–273.
- Carlsson, A. J., R. J. Irvine, K. Wilson, S. B. Pierney, O. Halvorsen, S. J. Coulson, A. Stien a S. D. Albon. 2012. Disease transmission in an extreme environment: Nematode parasites infect reindeer during the Arctic winter. *International Journal for Parasitology* **42**: 789-795.
- Dahlgren, S.S. a B. Gjerde. 2007. Genetic characterisation of six *Sarcocystis* species from reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*) in Norway based on the small subunit rRNA gene. *Veterinary Parasitology* **146**: 204-213.
- Dalén, L., E. Fuglei, P. Hersteinsson, C. M. O. Kapel, J. D. Roth, G. Samelius, M. Tannerfeldt a A. Angerbjörn. 2005. Population history and genetic structure of a circumpolar species: the arctic fox. *Biological Journal of the Linnean Society* **84**: 79-89.
- Dallas, J. F., R. J. Irvine a O. Halvorsen. 2000. DNA evidence that *Ostertagia gruehneri* and *Ostertagia arctica* (Nematoda: Ostertagiinae) in reindeer from Norway and Svalbard are conspecific. *International Journal for Parasitology* **30**: 655-658.
- Didier, E. S., C. R. Vossbrinck, M. D. Baker, L. B. Rogers, D. C. Bertucci, a J. A. Shaddock. 1995. Identification and characterization of three *Encephalitozoon cuniculi* strains. *Parasitology* **111**: 411-421.
- Dobson, A., K. D. Lafferty, A. M. Kuris, R. F. Hechinger a W. Jetz. 2008. Homage to Linnaeus: How many parasites? How many hosts? *PNAS* **105**: 11482-11489.
- Dolnik, O. V., B. J. Metzger a M. J. J. E. Loonen. 2011. Keeping the clock set under the midnight sun: diurnal periodicity and synchrony of avian *Isospora* parasites cycle in the High Arctic. *Parasitology* **138**: 1077-1081.

- Drent, R., C. Both, M. Green, J. Madsen a T. Piersma. 2003. Pay-offs and penalties of competing migratory schedules. *Oikos* **103**: 274-292.
- Dujardin, F. 1845. Histoire naturelle des helminthes ou vers intestinaux. Paris, France. In Rogers, L. L., a S. M. Rogers. 1974. Parasites of bears: a review. International Conference on Bear Research and Management **3**: 411-430.
- Duncan, R. B., D. Claudel, D. S. Lindsay a H. D. Moll. 1999. Cryptosporidiosis in a black bear in Virginia. *Journal of Wildlife Diseases* **35**: 381-383.
- Dyck, M. G. a E. Kebreab. 2009. Estimating the energetic contribution of polar bear (*Ursus maritimus*) summer diets to the total energy budget. *Journal of Mammalogy* **90**: 585-593.
- Eaton, R. D. P. a D. C. Secord. 1979. Some intestinal parasites of arctic fox, Banks Island, N. W. T. *Canadian Journal of Comparative Medicine* **43**: 229-230.
- Elmore, S. A., L. F. Lalonde, G. Samelius, R. T. Alisauskas, A. A. Gajadhar a E. J. Jenkins. 2013. Endoparasites in the feces of arctic foxes in a terrestrial ecosystem in Canada. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* **2**: 90-96.
- Farr, M. M. 1953. Three new species of coccidia from the Canada goose, *Branta canadensis* (Linne, 1758). *Journal of the Washington Academy of Sciences* **43**: 336-340.
- Filimonova, L. V., 1966. Distribution of nanophytosis in the territory of the Soviet Far East. *Trudy Gel'mintol. Lab. Akad. Nauk, USSR* In. Rogers, L. L., a S. M. Rogers. 1974. Parasites of bears: a review. International Conference on Bear Research and Management **3**: 411-430.
- Fruetel, M. a M. W. Lankester. 1989. Gastrointestinal helminths of woodland and barren ground caribou (*Rangifer tarandus*) in Canada, with keys to species. *Canadian Journal of Zoology* **67**: 2253-2269.
- Galli-Valerio, B. 1929. Notes de parasitologie. *Zentralblatt für Bakteriologie und Parasitenkunde, I. Abteilung Originale* **112**: 54-59.
- Gau, R. J., S. Kutz, a B. T. Elkin. 1999. Parasites in grizzly bear from the central Canadian Arctic. *Journal of Wildlife Diseases* **35**: 618-621.

- Gibbs, H. C. a K. E. Gibbs. 1959. The effects of temperature on the development of the free-living stages of *Dochmoides stenocephala* (Railliet, 1884) (Ancylostomatidae: Nematoda). *Canadian Journal of Zoology* **37**: 247-257.
- Grafner, G., a H.-D. Graubmann. 1964. *Eimeria kotlani* n. sp., eine neue pathogene Kokzidienart bei Gansen. *Monatshafte fur Veterinarmedizin, Zeitschrift der Wissenschaftlichen Gesellschaft fur Veterinarmedizin in der Deutschen Demokratischen Republik* **19**: 819-821.
- Gudmundsdottir, B. a K. Skirnisson. 2005. Description of a new *Eimeria* species and redescription of *Eimeria mayeri* (Protizoa: Eimeridaea) from wild reindeer *Rangifer tarandus* in Iceland. *Journal of Parasitology* **91**: 165-169.
- Gudmundsdottir, B. a K. Skirnisson. 2006. The third newly discovered *Eimeria* species (Protozoa: Eimeriidae) described from wild reindeer, *Rangifer tarandus*, in Iceland. *Parasitology Research* **99**: 659-662.
- Guindon, S. a O. Gascuel. 2003. A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Syst Biol* **52**: 696–704.
- Hair, J., a J. Mahrt. 1970. *Eimeria albertensis* n. sp. and *E. borealis* n. sp. (Sporozoa: Eimeridae) in black bears *Ursus Americanus* from Alberta. *Journal of Protozoology* **17**: 663-664.
- Hall, T. A. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* **41**: 95–98.
- Halvorsen, O. 1986. Epidemiology of reindeer parasites. *Parasitology Today* **2**: 334-339.
- Halvorsen, O a K. Bye. 1999. Parasites, biodiversity, and population dynamics in an ecosystem in the high arctic. *Veterinary Parasitology* **84**: 205-227.
- Hammes, I. S., B. Gjerde, L. Robertson, T. Vikøren a K. Handeland. 2006. Prevalence of *Cryptosporidium* and *Giardia* in free-ranging wild cervids in Norway. *Veterinary Parasitology* **141**: 30-41.
- Hanson, H.C., N. D. Levine a V. Ivens. 1957. *Coccidia* (Protozoa: Eimeriidae) of North American wild geese and swans. *Canadian Journal of Zoology* **35**: 715-733.

- Henttonen, H., E. Fuglei, C. N. Gower, V. Haukialmi, R. A. Ims, J. Niemimaa a N. G. Yoccoz. 2001. *Echinococcus multilocularis* on Svalbard: introduction of an intermediate host has enabled the local life-cycle. *Parasitology* **123**: 547-552.
- Hersteinsson, P., E. Gunnarsson, S. Hjartardóttir a K. Skírnisson. 1993. Prevalence of *Encephalitozoon cuniculi* antibodies in terrestrial mammals in Iceland, 1986 to 1989. *Journal of Wildlife Diseases* **29**: 341-4.
- Hilliard, D. K. 1960. Studies on the helminth fauna of Alaska. XXXVIII. The taxonomic significance of eggs and coracidia of some diphylobothriid cestodes. *Journal of Parasitology* **46**: 703–715.
- Hoar, M. H., K. Ruckstuhl a S. Kutz. 2012. Development and availability of the free-living stages of *Ostertagia gruehneri*, an abomasal parasite of barren-ground caribou (*Rangifer tarandus groenlandicus*), on the Canadian tundra. *Parasitology* **139**: 1093-1100.
- Hoberg, E. P., S. J. Kutz, K. E. Galbreath a J. Cook. 2003. Arctic biodiversity: from discovery to faunal baselines-Revealing the history of a dynamic ecosystem. *Journal of Parasitology* **89**: supplement S84-S89.
- Hoberg, E. P., L. Polley, E. J. Jenkins, S. J. Kutz, A. M. Veitch a B. T. Elkin. 2008. Integrated approaches and empirical models for investigation of parasitic diseases in northern wildlife. *Emerging Infectious Diseases* **14**: 10-17.
- Hoberg, E. P., K. E. Galbreath, J. A. Cook, S. J. Kutz a L. Polley. 2012. Northern host-parasite assemblages: history and biogeography on the borderlands of episodic climate and environmental transition. *Advances in Parasitology* **79**: 1-97.
- Hoberg E. P. a S. J. Kutz. 2013. Chapter 15: Parasites In Meltofte, H. (ed) Arctic biodiversity assessment. Status and trends in Arctic biodiversity. *Conservation of Arctic fauna and Flora*. Akureyri. Narayana Press: 528-557.
- Hobson, K. A. 1993. Trophic relationships among high Arctic seabirds: insights from tissue-dependent stable-isotope models. *Marine Ecology Progress Series* **95**: 7-18.
- Honsová, L. 2012. Výskyt potenciálních původců parazitárních zoonóz na Svalbardu. České Budějovice. 77s. Bakalářská práce. Jihočeská Univerzita v Českých Budějovicích.



- Hrabok, J. T., A. Oksanen, M. Nieminen a P. J. Waller. 2006. Population dynamics of nematode parasites of reindeer in the sub-arctic. *Veterinary Parasitology* **142**: 301-311.
- Huelsenbeck, J. P. a F. Ronquist. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* **17**: 754–755.
- Choquette, L., G. Gibson, a A. Pearson. 1969. Helminths of the grizzly bear, *Ursus arctos* L., in northern Canada. *Canadian Journal of Zoology* **47**: 167-170.
- Jenkins, E. J., J. M. Schurer a K. M. Gesy. 2011. Old problems on a new playing field: Helminth zoonoses transmitted among dogs, wildlife, and people in a changing northern climate. *Veterinary parasitology* **182**: 54-69.
- Jensen, S. K., J. Aars, C. Lydersen, K. M. Kovacs a K. Åsbakk. 2010. The prevalence of *Toxoplasma gondii* in polar bears and their marine mammal prey: evidence for a marine transmission pathway?. *Polar Biology* **33**: 599-606.
- Jiang, J., K. A. Alderisio, a L. Xiao. 2005. Distribution of *Cryptosporidium* genotypes in storm event water samples from three watersheds in New York. *Applied and Environmental Microbiology* **71**: 4446-4454.
- Josefsen, T. D., K. K. Sørensen, T. Mørk, S. D. Mathiesen a K. A. Ryeng. 2007. Fatal inanition in reindeer (*Rangifer tarandus tarandus*): Pathological findings in completely emaciated carcasses. *Acta Veterinaria Scandinavica* **49**: 27.
- Kapel, C. M. O. a P. Nansen. 1996. Gastrointestinal helminths of arctic foxes (*Alopex lagopus*) from different bioclimatological regions in Greenland. *Journal of Parasitology* **82**: 17-24.
- Kašičková, D., B. Sak, M. Kváč a O. Ditrich. 2009. Sources of potentially infectious human microsporidia: molecular characterisation of microsporidia isolates from exotic birds in the Czech Republic prevalence study and importance of birds in epidemiology of the human microsporidial infections. *Veterinary Parasitology* **165**: 125–130.
- Katoh, K., K. Misawa, K. Kuma, T. Miyata. 2002. MAFFT: a novel method for rapid multiple sequence alignment based on fast Fourier transform. *Nucleic Acids Research* **30**: 3059–3066.
- Katoh, K., K. Kuma, H. Toh, T. Miyata. 2005. MAFFT version 5: improvement in accuracy of multiple sequence alignment. *Nucleic Acids Research* **33**: 511–518.

- Katzwinkel-Wladarsch, S., M. Lieb, W. Helse, T. Löscher, a H. Rinder. 1996. Direct amplification and species determination of microsporidian DNA from stool specimens. *Tropical Medicine and International Health* **1**: 373-378.
- Kimura, M. 1980. A simple method for estimating evolutionary rates of base substitutions through comparative studies of nucleotide sequence. *Journal of Molecular Evolution* **16**: 111-120.
- Kirk, C. M., S. Amstrup, R. Swor, D. Holcomb a T. M. O'Hara. 2010. Morbillivirus and *Toxoplasma* exposure and association with hematological parameters for southern Beaufort Sea polar bears: potential response to infectious agents in a sentinel species. *EcoHealth* **7**: 321-331.
- Klimeš, B. 1963. Coccidia of the domestic goose (*Anser anser* dom.). *Zentralblatt für Veterinaermedizin, Reiche B* **10**: 427-448.
- Kotlan, A. 1933. Zur Kenntnis der Kokzidiose des Wassergeflugels. Die Kokzidiose der Hausgans. *Zentralblatt für Bakteriologie, Parasitenkunde und Infektionskrankheiten und Hygiene. Abteilung I. Originale* **129**: 11-21.
- Kovacs, K., J. Gjertz a C. Lydersen. 2004. *Marine mammals of Svalbard*. Oslo. Norwegian Polar Institut: 64 pp.
- Kovacs, K. M. a C. Lydersen. 2006. *Birds and mammals of Svalbard*. Tromsø. Norwegian Polar Institut: 203 pp.
- Kutz, S. J., E. P. Hoberg, J. Nagy, L. Polley a B. Elkin. 2004. "Emerging" parasitic infections in Arctic ungulates. *Integrative and Comparative Biology* **44**: 109-118.
- Kutz, S. J., E. J. Jenkins, A. M. Veitch, J. Ducrocq, L. Polley, B. Elkin a S. Lair. 2009. The arctic as a model for anticipating, preventing, and mitigating climate change impacts on host-parasite interactions. *Veterinary Parasitology* **163**: 217-228.
- Kutz, S. J., J. Ducrocq, G. G. Verocai, B. M. Hoar, D. D. Colwell, K. B. Beckmen, L. Polley, B. T. Elkin a E. P. Hoberg. 2012. Parasites in ungulates of Arctic North America and Greenland: a view of contemporary diversity, ecology, and impact in a world under change. *Advances in Parasitology* **79**: 99-252.

- Laidre, K. L., I. Stirling, L. F. Lowry, Ø Wiig, M. P. Heide-Jørgensen, a S. H. Ferguson. 2008. Quantifying the sensitivity of Arctic marine mammals to climate-induced habitat change. *Ecological Applications* **18**: S97-S125.
- Levine, N. D. 1953. A review of the coccidia from the avian orders Galliformes, Anseriformes and Charadriiformes, with descriptions of three new species. *American Midland Naturalist* **49**: 696-719.
- Lobo, M.L., L. Xiao, V. Cama, T. Stevens, F. Antunes a O. Matos. 2006. Genotypes of *Enterocytozoon bieneusi* in mammals in Portugal. *Journal of Eukaryotic Microbiology* **53**: 61–64.
- McOrist, S., F. Tseng, R. Jakowski, J. Keating, a C. Pearson. 2002. Cerebral arteriosclerosis in an aged captive polar bear (*Ursus maritimus*). *Journal of Zoo and Wildlife Medicine* **33**: 381-385.
- Meijer, T., R. Mattson, A. Angerbjörn, E. Osterman-Lind, X. Fernández-Aguilar a D. Gavier-Widén. 2011. Endoparasites in the endangered Fennoscandian population of arctic foxes (*Vulpes lagopus*). *European Journal of Wildlife Research* **57**: 923-927.
- Molnár, P. K., S. J. Kutz, B. M. Hoar a A. P. Dobson. 2013. Metabolic approaches to understanding climate change impacts on seasonal host-macroparasite dynamics. *Ecology Letters* **16**: 9-12.
- Müller, M.G., J. Kinne, R. K. Schuster, J. Walochnik. 2008. Outbreak of microsporidiosis caused by *Enterocytozoon bieneusi* in falcons. *Veterinary Parasitology* **152**: 67–78.
- Naidenko, S. V., E. A. Ivanov, I. N. Mordvintsev, N. G. Platonov, R. V. Ershov a V. V. Rozhnov. 2013. Seropositivity for different pathogens in polar bears (*Ursus maritimus*) from Barents Sea islands. *Biology Bulletin* **40**: 779-782.
- Nieschulz. O. 1925. Zur Verbreitung von Isospora-infektonen bei Hunden und Katzen in den Niederlanden. *Zentralblatt fur Bakteriologie. I. Originale* **94**: 137-141.
- Oksanen, A., K. Åsbakk , K. W. Prestrud , J. Aars , A. E. Derocher , M. Tryland , Ø. Wiig , J. P. Dubey , C. Sonne , R. Dietz et al. 2009. Prevalence of antibodies against *Toxoplasma gondii* in polar bears (*Ursus maritimus*) from Svalbard and East Greenland. *Journal of Parasitology* **95**: 89-94.

- Olsen, O. W. 1968. *Uncinaria rauschi* (Strongyloidea: Nematoda), a new species of hookworms from Alaskan bears. *Canadian Journal of Zoology* **46**: 1113-1117.
- Page, R. D. M. 1996. TREEVIEW: an application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences* **12**: 357–358.
- Parkinson, A. J. a J. C. Butler. 2005. Potential impacts of climate change on infectious diseases in the Arctic. *International Journal of Circumpolar Health* **64**: 478-486.
- Pellérdy, L. P. 1974. *Coccidia and coccidiosis*. Budapest: Akadémiai Kiado: 958 pp.
- Philippa, J. D., F. A. Leighton, P. Y. Daoust, O. Nielsen, M. Pagliarulo, H. Schwantje, T. Shury, R. Van Herwijnen, B. E. Martina a T. Kuiken. 2004. Antibodies to selected pathogens in free-ranging terrestrial carnivores and marine mammals in Canada. *Veterinary Record* **31**: 135-140.
- Polley, L. a R. C. A. Thompson. 2009. Parasite zoonoses and climate change: molecular tools for tracking shifting boundaries. *Trends in Parasitology* **25**: 285-291.
- Prestrud, P., G. Stuve a G. Holt. 1993. The prevalence of *Trichinella* sp. in Arctic foxes (*Alopex lagopus*) in Svalbard. *Journal of Wildlife diseases* **29**: 337-340.
- Prestrud, K. W., K. Åsbakk, E. Fuglei, T. Mørk, A. Stien, E. Ropstad, M. Tryland, G. W. Gabrielsen, C. Lydersen, K. M. Kovacs, et al. 2007. Serosurvey for *Toxoplasma gondii* in arctic foxes and possible sources of infection in the high Arctic of Svalbard. *Veterinary Parasitology* **150**: 6-12.
- Raillet, A., a A. Lucet. 1891. Note sur quelques especes de coccidies encore peu etudiees. *Bulletin de la Societe Zoologique de France* **16**: 246-250.
- Rastegaieff, E. F. 1929. *Eimeria mesnili* n. sp. chez *Canis lagopus*. *Bulletin de la Societe de Pathologie Exotique* **22**: 640.
- Rausch, R. 1954. Studies on the helminth fauna of Alaska XXI: taxonomy, morphological variation, and ecology of *Diphyllobothrium ursi* n. sp. provis. on Kodiak Island. *Journal of Parasitol.* **40**: 540-563.
- Rausch, R. L., H. Fay a F. S. L. Williamson. 1990. The ecology of *Echinococcus multilocularis* (Cestoda: Taeniidae) on St. Lawrence Island, Alaska. II. – Helminth populations in the definitive host. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée* **65**: 131-140.

- Robertson, L. J., T. Forberg, L. Hermansen, I. S. Hammes a B. Gjerde. 2007. *Giardia duodenalis* cysts isolated from wild moose and reindeer in Norway: genetic characterisation by PCR-RFLP and sequence analysis at two genes. *Journal of Wildlife Diseases* **43**: 576-585.
- Rogers, L. L., a S. M. Rogers. 1974. Parasites of bears: a review. *International Conference on Bear Research and Management* **3**: 411-430.
- Ryšavý, B. 1954. Příspěvek k poznání kokcií našich i dovezených obratlovců. *Československá Parasitologie* **1**: 131-174.
- Sale, R. 2006. A complete guide to Arctic wildlife. Buffalo. Firefly Books: 464 pp.
- Santín, M., J. M. Trout, a R. Fayer. 2005. *Enterocytozoon bieneusi* genotypes in dairy cattle in the eastern United States. *Parasitology Research* **97**: 535–538.
- Schaul, J. C. 2006. *Baylisascaris transfuga* in captive and free-ranging populations of bears (family: Ursidae). Columbus OH. 205 s. Dissertation. The Ohio State University.
- Schurer, J., T. Shury, F. Leighton, E. Jenkins. 2013. Surveillance for *Echinococcus canadensis* genotypes in Canadian ungulates. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* **2**: 97-101.
- Siatou, N. a M. Nei. 1987. The Neighbor-joining Method: A New Method for Reconstructing Phylogenetic Trees **4**: 406-425.
- Siefker, C., L. G. Rickard, G. T. Pharr, J. S. Simmons a T. M. O'Hara. 2002. Molecular characterization of *Cryptosporidium* sp. isolated from northern Alaskan caribou (*Rangifer tarandus*). *Journal of Parasitology* **88**: 213-216.
- Skirnisson, K., M. Eydal, E. Gunnarsson, a P. Hersteinsson. 1993. Parasites of the arctic fox (*Alopex lagopus*) in Iceland. *Journal of Wildlife Diseases* **29**: 440-446.
- Sprent, J. F. A. 1950. Observations on the life history of *Ascaris columnaris*. *Journal of Parasitology* **36**: 29.
- Stange, R. 2012. Spitsbergen – Svalbard. A complete guide around the arctic archipelago. Stange: 512 pp.
- Steele, J., K. Orsel, C. Cuyler, E. P. Hoberg, N. M. Schmidt, S. J. Kutz. 2013. Divergence parasite faunas in adjacent populations of west Greenland caribou: Natural and antropogenic influences on diversity. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* **2**: 197-202.

- Stien, A., R. J. Irvine, E. Ropstad, O. Halvorsen, R. Langvatn a S. D. Albon. 2002. The impact of gastrointestinal nematodes on wild reindeer: experimental and cross-sectional studies. *Journal of Animal Ecology* **71**: 937-945.
- Stien, A., L. Voutilainen, V. Haukisalmi, E. Fuglei, T. Mørk, N. G. Yoccoz, R. A. Ims, H. Henttonen. 2010. Intestinal parasites of the Arctic fox in relation to the abundance and distribution of intermediate hosts. *Parasitology* **137**: 149-157.
- Sulaiman, I. M., R. Fayer, C. Bern, R. H. Gilman, J. M. Trout, P. M. Schantz, P. Das, A. A. Lal, a L. Xiao. 2003a. Triphosphate isomerase gene characterization and potential zoonotic transmission of *Giardia duodenalis*. *Emerging Infectious Diseases* **9**: 1444-1452.
- Sulaiman, I.F., R. Fayer, A.A. Lal, J.M. Trout, F.W. Schaefer 3rd a L. Xiao. 2003b. Molecular characterization of microsporidia indicates that wild mammals harbour host-adapted *Enterocytozoon* spp as well as human-pathogenic *Enterocytozoon bieneusi*. *Applied and environmental microbiology* **69**: 4495-4501.
- Swofford, D. L. 2002. *Phylogenetic Analysis Using Parsimony (\*and Other Methods)*, Version 4. Sinauer Associates, Sunderland, Massachusetts, USA..
- Tannerfeldt, M., B. Elmhagen a A. Angerbjörn. 2002. Exclusion by interference competition? The relationship between red and arctic foxes. *Oecologia* **132**: 213-220.
- Testini, G., R. Papini, R. P. Lia, A. Parisi, F. Dantas-Torres, D. Traversa a D. Otranto. 2011. New insights into the morphology, molecular characterization and identification of *Baylisascaris transfuga* (Ascaridida, Ascarididae). *Veterinary Parasitology* **175**: 97-102.
- Thellier, M. a J. Breton. 2008. *Enterocytozoon bieneusi* in human and animals. focus on laboratory identification and molecular epidemiology. *Parasite* **15**: 349-358.
- Thompson, J. D., T. J. Gibson, F. Plewniak, F. Jeanmougin a D. G. Higgins. 1997. The CLUSTAL\_X windows interface: flexible strategies for multiple sequence alignment aided by quality analysis tools. *Nucleic Acids Research* **25**: 4876-4882.
- Van de Peer, Y., Y. De Wachter. 1994. TREECON for Windows: a software package for the construction and drawing of evolutionary trees for the Microsoft Windows environment. *Computer Applications in the Biosciences* **10**: 569-70.
- van der Wal, R., J. Irvine, A. Stien, N. Shepherd a S. D. Albon. 2000. Faecal avoidance and the risk of infection by nematodes in a natural population of reindeer. *Oecologia* **124**: 19-25.

- Wenyon, C. M. 1923. Coccidiosis of cats and dogs and the status of the *Isospora* of man. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology* **17**: 231-288.
- Yakimoff, W. L. 1933. Zur Frage der Eimeriose der Katzen. *Archiv für Protistenkunde* **80**: 172-176.
- Yakimoff, W. a S. Matschoulsky. 1935. As coccidioses dos ursos, lobos e caes selvagens. *Arch Inst. Biol.* In Rogers, L. L., a S. M. Rogers. 1974. Parasites of bears: a review. *International Conference on Bear Research and Management* **3**: 411-430.
- Yakimoff, W. L. a I. I. Sokoloff. 1935. *Eimeria polaris* n. sp., Kokzidie der Rentiere. *Berliner Tierärztliche Wochenschrift* **51**: 308-310.
- Yakimoff, W. L. a W. F. Gousseff. 1936. Zur frage der Kokzidien der Fuchse. *Wiener Tierärztliche Monatsschrift* **23**: 359-361.
- Yakimoff, W. L., I. I. Sokoloff a S. N. Matschoulsky. 1936. Über die Kokzidien des Rentieres. *Berliner Tierärztliche Wochenschrift* **52**: 535-538.
- Yakimoff, W. L., S. N. Matschoulsky a O. A. Spartansky. 1937. Weitere Untersuchungen über Kokzidiose bei den Rentieren. *Berliner Tierärztliche Wochenschrift* **53**: 322.
- Yakimoff, W. L., S. N. Matschoulsky a O. A. Spartansky. 1939. On a new coccidium from reindeer, *Eimeria arctica* n. sp. *Journal of the Royal Microscopical Society* **59**: 30-31.
- Yakimoff, W., a S. Matschoulsky. 1940. Koktsikii zhivotnykn zoologicheskogo sada Tashkent. *Yarazimologeski Sbornik Zen AN SSSR* 13. In Rogers, L. L. a S. M. Rogers. 1974. Parasites of bears: a review. *International Conference on Bear Research and Management* **3**: 411-430.

# PŘÍLOHA I – Paraziti soba polárního

	Svalbard	Grónsko	Norsko	Island	Severní Amerika	Finsko
<b>Protista</b>						
<i>Cryptosporidium</i> sp.	X				X	
<i>Eimeria</i> sp.			X	X	X	X
<i>Giardia</i> sp.			X		X	
<i>Sarcocystis grueneri</i>			X			
<i>Sarcocystis handangeri</i>			X			
<i>Sarcocystis rangi</i>			X			
<i>Sarcocystis rangiferi</i>			X			
<i>Sarcocystis tarandi</i>			X			
<i>Sarcocystis tarandivulpis</i>			X			
<i>Sarcocystis</i> sp.	X					
<b>Nematoda</b>						
<i>Capillaria</i> sp.			X		X	X
<i>Elaphostrongylus rangiferi</i>	X		X			
<i>Marshallagia marshalli</i>	X	X			X	
<i>Nematodirella alcidis</i>					X	
<i>Nematodirella longispiculata</i>					X	X
<i>Nematodirella longissimespiculata</i>					X	
<i>Nematodirus helvetianus</i>					X	
<i>Nematodirus odocoilei</i>					X	
<i>Nematodirus</i> sp.			X		X	
<i>Nematodirus tarandi</i>	X				X	X
<i>Oesophagostomum venulosum</i>					X	
<i>Ostertagia gruehneri/arctica</i>	X	X	X		X	X
<i>Ostertagia occidentalis/leptospicularis</i>	X					
<i>Ostertagia</i> sp.					X	
<i>Ostertagia trifurcata</i>	X					
<i>Skrjabinagia lyrata</i>	X					
<i>Skrjabinema tarandi</i>					X	
<i>Teladorsagia boreoarcticus</i>		X			X	
<i>Teladorsagia circumcincta</i>	X				X	
Trichostrongylida			X		X	
<i>Trichuris</i> sp.					X	
<b>Cestoda</b>						
<i>Echinococcus canadensis</i>					X	
<i>Moniezia</i> sp. ( <i>M. benedini</i> )	X		X		X	X
<i>Taenia ovis krabbei</i>	X					

**Kanada a USA-** Fruetel a Lankester 1988, Kutz et al. 2012, Schurer et al. 2013

**Grónsko a Finsko-** Hrabok et al. 2006, Steele et al. 2013

**Svalbard-Norsko-** Bye a Halvorsen 1983, Bye 1985, Bye et al. 1987b, Dahlgren a Gjerde 2007, Dallas et al. 2000, Halvorsen a Bye 1999, Halvorsen 1986, Hammes et al. 2006, Honsová 2012, Josefsen et al. 2007, Robertson et al. 2007, Siefker et al. 2002



## PŘÍLOHA II – Paraziti lišky polární

	Kanada	Norsko	Švédsko	Island	Grónsko	Svalbard
<b>Protista</b>						
<i>Balantidium</i> sp.			X			
<i>Cryptosporidium</i> sp.	X					
<i>Cystoisospora canis</i>			X			
<i>Cystoisospora ohioensis</i>			X			
<i>Eimeria</i> sp.	X		X	X		
<i>Encephalitozoon cuniculi</i>				X		
<i>Giardia</i> sp.	X					
<i>Isospora</i> sp.	X		X	X		
<i>Sarcocystis grueneri</i>		X				
<i>Sarcocystis rangi</i>		X				
<i>Sarcocystis tarandivulpes</i>		X				
<i>Sarcocystis</i> sp.	X		X			
<i>Toxoplasma gondii</i>		X				X
<b>Nematoda</b>						
<i>Capillaria aerophila</i>			X	X		
<i>Capillaria</i> sp.	X		X			
<i>Crenosoma vulpis</i>			X			
<i>Spiruroidae</i> -like			X			
<i>Stegophorus stercorarii</i> ( <i>Fulmarus</i> )				X		
<i>Strongyloides stercoralis</i>					X	
<i>Toxocara canis</i>			X	X		
<i>Toxascaris leonina</i>	X		X	X	X	X
<i>Trichinella nativa</i>	X				X	X
<i>Trichuris</i> sp.			X			
<i>Uncinaria stenocephala</i>			X	X	X	
<b>Cestoda</b>						
<i>Echinococcus multilocularis</i>	X				X	X
<i>Diphyllobothrium dendriticum</i>				X	X	
<i>Mesocestoides canislagopodis</i>			X	X		
<i>Mesocestoides lineatus</i>					X	
<i>Schistocephalus solidus</i>				X		
<i>Taenia crassiceps</i>	X					X
<i>Taenia ovis krabbei</i>					X	X
<i>Taenia polycantha</i>						X
<i>Taenia</i> sp.			X		X	
<b>Trematoda</b>						
<i>Brachylaemus</i> sp.				X		
<i>Cryptocotyle lingua</i>				X	X	
<i>Plagiorchis elegans</i>				X	X	
<i>Spelotrema</i> sp.				X		
<i>Tristriata</i> sp.				X		

**Acanthocephala***Corynosoma hadweni*

X

X

*Polymorphus mayeri*

X

*Polymorphus* sp.

X

---

**Island-** Hersteinsson et al. 1993, Skirnisson et al. 1993**Finsko-** Aguirre et al. 2000, Meijer et al. 2011**Grónsko-** Kapel a Nansen 1996**Kanada-** Eaton a Secord 1978, Elmore et al. 2013**Svalbard-** Åkerstedt et al. 2010, Henttonen et al. 2001, Prestrud et al. 1993, Prestrud et al. 2007, Stien et al. 2010

## PŘÍLOHA III – Paraziti medvědů

Přehled parazitů popsanych u medvědů (zejména u druhu *Ursus maritimus*).

Organismus	Hostitel	Lokalita	Autor popisu
<b>Protista</b>			
<i>Cryptosporidium parvum</i>	<i>Ursus americanus</i>	USA (Virginia)	Duncan et al. 1999
<i>Eimeria albertensis</i>			Hair a Marth 1970
<i>Eimeria borealis</i>	<i>Ursus americanus</i>	Kanada (Alberta)	Hair a Marth 1970
<i>Eimeria ursi</i>	<i>Ursus arctos</i>	Rusko	Yakimoff a Matschoulsky 1935; 1940
<i>Sarcocystis</i> sp.	<i>Ursus maritimus</i> (v zajetí)	USA (Aljaška - Anchorage)	
<i>Toxoplasma gondii</i>	<i>Ursus arctos horribilis</i> <i>Ursus americanus</i> <i>Ursus maritimus</i>	Aljaška Země F. Josefa Svalbard	Phillippa et al. 2004 Kirk et al. 2010, Naidenko et al. 2013 Jensen et al. 2010
<b>Nematoda</b>			
<i>Baylisascaris transfuga</i>	<i>Ursus arctos</i> <i>Ursus arctos horribilis</i> <i>Ursus americanus</i> <i>Ursus maritimus</i> (v zajetí)	Bajkal, Čukotka, SZ Kanada, Ontario, USA (Aljaška, <i>Massachusetts</i> )	Choquette et al. 1968, Sprent 1950, Bromlei 1965, McOrist et al. 2002 Gau et al. 1999
<i>Haemonchus contortus</i>	<i>Ursus maritimus</i> (v zajetí)	USA (Philadelphia)	Canavan 1929
<i>Uncinaria rauschii</i>	<i>Ursus arctos</i> <i>Ursus americanus</i>	USA (Aljaška)	Olsen 1968
<i>Uncinaria ursi</i> (= <i>Dochmius ursi</i> )	<i>Ursus maritimus</i>		Dujardin 1845
<i>Uncinaria yukonensis</i>	<i>Ursus americanus</i> <i>Ursus arctos horribilis</i>	USA (Aljaška – Yukon)	Choquette et al. 1969

<i>Trichinella nativa</i>	<i>Ursus maritimus</i>	Svalbard	Åsbakk et al. 2010
<i>Trichinella spiralis</i>	<i>Ursus maritimus</i>	Země F. Josefa	Naidenko et al. 2013
<b>Cestoda</b>			
<i>Diphyllobothrium latum</i>	<i>Ursus arctos</i> <i>Ursus arctos horribilis</i>	Rusko Kanada	Bromlei 1965 Gau et al. 1999
<i>Taenia hydatigena</i>	<i>Ursus americanus</i> (v zajetí)	USA (Aljaška)	Rausch 1954
<i>Taenia ovis krabbei</i>	<i>Ursus americanus</i> (v zajetí) <i>Ursus arctos horribilis</i>	USA (Aljaška) SZ Kanada	Rausch 1954, Choquette et al. 1969
<b>Trematoda</b>			
<i>Nanophyetus salmonicola</i>	<i>Ursus arctos</i>	V Sibiř	Filimonova 1966

## PŘÍLOHA IV – Kokcidie soba polárního

Přehled kokcidií popsaných ze sobů (*Rangifer tarandus*)

Kokcidie	Hostitel	Velikost oocysty [μm]	Mikropyle	Tvar a znaky oocysty	Velikost [μm] a znaky sporocysty
<i>Eimeria arctica</i> Yakimoff et al. 1939	<i>Rangifer tarandus</i>	32-38 x 26-30	+	vejčitý; žlutá stěna	12-14 x 7-9; bez Stiedova tělíska (x <i>E. mühlensi</i> )
<i>Eimeria mayeri</i> Yakimoff et al. 1936, Gudmundsdottir 2005	<i>Rangifer tarandus</i>	9,0-21,0 x 9,0-15,5	+ někdy nezřetelné	elipsoidní; modro-zelená barva stěny	ovoidní; 8,0-11,0 x 4,0-6,0; Stiedovo tělísko, reziduum
<i>Eimeria mühlensi</i> Yakimoff et al. 1936	<i>Rangifer tarandus</i>	30-40 x 26-28	+	vejčito-citrónovitý tvar; stěna 3 vrstvy: žlutá-tmavě hnědá	16,0-20,0 x 8,0-10,0; dlouhé Stiedovo tělísko
<i>Eimeria polaris</i> Yakimoff a Sokoloff 1935	<i>Rangifer tarandus</i>	24,0-34,5 x 15,0-24,0	+	oválný-citrónovitý; žlutá stěna	pouze nevysporulované oocysty (vysporulované nebyly nikdy popsány)
<i>Eimeria rangiferis</i> Gudmundsdottir a Skirnisson 2005	<i>Rangifer tarandus</i>	31,1-38,0 x 25,1-30,0	+ výrazné	vejčitý; nažloutlá až tmavě hnědá	vřetenovitý tvar; 17,0-20,1 x 8,0-10,1; Stiedovo tělísko, granulární reziduum
<i>Isospora rangiferis</i> Yakimoff et al. 1937	<i>Rangifer tarandus</i>	30,0 - 24,0	-	oválný	2 sporocysty; 16,0-19,0 x 8,0- 12,0; Stiedovo tělísko; polární granula
<i>Eimeria rheindyria</i> Gudmundsdottir a Skirnisson 2006	<i>Rangifer tarandus</i>	23,8-35,0 x 18,0-23,0	-	elipsoidní; polární granula	vřetenovitě; 13,0-18,0 x 6,0- 8,0; Stiedovo tělísko; reziduum
<i>Eimeria tarandina</i> Yakimoff et al. 1936	<i>Rangifer tarandus</i>	18-24 x 16-22 (sférická: 18-29)	-	oválný i sférický; nažloutlá	12,0-14,0 x 6,0-8,0; Stiedovo tělísko; reziduum granulární

## PŘÍLOHA V – kokcidie lišky polární

Přehled kokcidií rodu *Eimeria* popsanych ze psovitých a kočkovitých šelem (Canidae, Felidae)

Kokcidie	Hostitel	Velikost oocysty [μm]	Mikropyle	Tvar a znaky oocysty	Velikost [μm] a znaky sporocysty
<i>Eimeria adleri</i> Yakimoff a Gouseff 1936	<i>Vulpes vulpes</i>	18,4 - 24,5	-	kulovitý; bezbarvá	11,4 x 8,3
<i>Eimeria canis</i> Wenyon 1923	<i>Canis familiaris</i> , <i>Felis catus</i> , <i>Canis dingo</i>	18-45 x 11-28	+ zřetelné	ovoidní-elipsoidní; s hrubou stěnou	
<i>Eimeria cati</i> Yakimoff 1933	<i>Felis catus</i> , <i>Felis chaus</i> , <i>Felis silvestris</i>	21,0-25,3 x 12,6-14,7	-	sférický-podlouhlý; polární granulum	
<i>Eimeria felina</i> Nieschulz 1925	<i>Felis catus</i> , <i>Felis chaus</i> , <i>Panthera leo</i>	21-26 x 13-17	-	elipsoidní; bezbarvá; hladká stěna	oválné, Stiedovo tělísko, reziduum
<i>Eimeria chaus</i> Ryšavý 1954	<i>Felis chaus</i>	18,3-24,4 x 14,3-22,4	-	oválný	granulovaný sporont; sporocysty elipsoidní 9,2-11,2 x 4,1-6,4; reziduum
<i>Eimeria mesnili</i> Rastegaieff 1929	<i>Alopex lagopus</i>	18,0 x 10,8-16,2	+	vejčitý	5,0-6,0 x 3,0-5,5
<i>Eimeria vulpis</i> Galli-Valerio 1929	<i>Vulpes vulpes</i> , <i>Vulpes bengalensis</i>	16-28 x 12-24		oválný	

## PŘÍLOHA VI – kokcidie u hus a bernešek

Přehled kokcidií rodu *Eimeria* popsáných z *Anser*, *Branta*

Druh	Hostitel	Velikost oocysty [µm]	Mikropyle	Tvar a znaky oocysty	Velikost [µm] a znaky sporocysty
<i>Eimeria anseris</i> Kotlán 1933	<i>Anser anser</i> , <i>Anser coerulescens</i> , <i>Branta canadensis</i>	16,0-24,0 x 13,0-19,0	+	protáhlý-hruškovitý; hladká stěna, 1 vrstva	ovoidní - vyplňují téměř celý obsah oocysty; 10,0-12,0 x 7,0-9,0; Stiedovo tělísko
<i>Eimeria brantae</i> Levine 1953	<i>Branta canadensis</i>	23,4 x 17,7	+	vejčitý; 2 bezbarvé vrstvy	
<i>Eimeria clarkei</i> Hanson et al. 1957	<i>Anser coerulescens</i> , <i>Branta canadensis</i>	25,0-30,0 x 18,0-21,0	+ výrazné	hladká, bezbarvá stěna, silná, 1 vrstva	malý sporont
<i>Eimeria farri</i> Hanson et al. 1957	<i>Anser albifrons</i>	22,0-23,0 x 17,0-20,0	-	elipsoidní-vejčitý; asymetrická, hladká stěna, bezbarvá-nažloutlá, 1 vrstva	podlouhlé vejčité; 12,0-13,0 x 6,0; malé Stiedovo tělísko
<i>Eimeria fulva</i> Farr 1953	<i>Anser anser</i> , <i>Anser coerulescens</i> , <i>Branta canadensis</i>	25,6-32,4 x 20,2-25,2	+ výrazné	vejčitý-hruškovitý; 2 vrstvy, vroubkovaný povrch, hnědožlutá- bezbarvá	13,5-14,8 x 8,3-9,7; souměrné, výrazné Stiedovo tělísko
<i>Eimeria hermani</i> Farr 1953	<i>Anser anser</i> , <i>Anser coerulescens</i> , <i>Branta canadensis</i>	24,3-27,6 x 17,5-19,5	+ zřetelné	elipsoidní; bezbarvá, poměrně silná stěna, hladká, 2 vrstvy	13,5-14,1 x 7,6-9,4; nezřetelné Stiedovo tělísko
<i>Eimeria kotlani</i> Grafner a Graubmann 1964	<i>Anser anser</i>	31,0x24,0			
<i>Eimeria magnalabia</i> Levine 1953	<i>Anser albifrons</i> , <i>Anser coerulescens</i> , <i>Branta canadensis</i> , <i>Anser anser</i>	21,7-24,0 x 15,1-17,3	+	vejčitý; červenohnědá stěna, 2 vrstvy, vroubkovaný povrch	12,0 x 8,0; Stiedovo tělísko, na jednom pólu straně širší než na druhém

<i>Eimeria nocens</i> Kotlán 1933	<i>Anser anser</i> , <i>Anser coerulescens</i>	25,0-33,0 x 17,0-24,0	+ pólová čepička	oválný; hladká stěna, 2 vrstvy, nahnědlá-bezbarvá	10,0-14,0 x 8,0-10,0; Stiedovo tělísko; velké reziduum+granula
<i>Eimeria parvula</i> Kotlán 1933	<i>Anser anser</i>	10,0-15,0 x 10,0-14,0	-	sférický-subsférický, bezbarvá stěna	sporont vyplňuje téměř přes celou oocystu
<i>Eimeria stigmosa</i> Klimeš 1963	<i>Anser anser</i>	23,0 x 16,7	+ 1-2 polárními granula	široce oválný; stěna tenčí v oblastech pólů, tmavě hnědá	10,7 x 8,0
<i>Eimeria striata</i> (identická s <i>E.</i> <i>magnalabia</i> ) Farr 1953	<i>Anser anser</i> , <i>Branta canadensis</i>	18,9-23,6 x 13,7-18,0	+ nápadné	silná stěna, 2 vrstvy, žlutavá-bezbarvá, jemně pruhovaná, 1 i více polárních granulí	10,0-12,0 x 7,0-8,0; malé Stiedovo tělísko
<i>Eimeria truncata</i> ( <i>Coccidium truncatum</i> ) Railliet and Lucet 1891	<i>Anser anser</i> , <i>Anser indicus</i> , <i>Branta canadensis</i> , <i>Somateria mollissima</i> , <i>Anas platyrhynchos</i>	20,0-22,0 x 13,0-16,0	+ u některých pólová čepička?	oválný; hladká stěna, silná; sporont centrálně, sporocysty s mikropyle	



