

**Univerzita Karlova**  
**Přírodovědecká fakulta**

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Biologie



**Klára Poloprutská**

**Výskyt a diverzita trypanosom obojživelníků**  
Occurrence and diversity of amphibian trypanosomes

Bakalářská práce

Vedoucí práce: doc. RNDr. Jan Votýpka, Ph.D.

Praha, 2020

## **Poděkování**

Ráda bych chtěla poděkovat svému školiteli doc. RNDr. Janu Votýpkovi, Ph.D. za velikou ochotu, pohotovost a vstřícnost, se kterou mi poskytoval cenné rady a za jeho trpělivost při psaní mé bakalářské práce. Dále bych chtěla poděkovat své rodině, příteli a přátelům, kteří mě po celou dobu podporovali.

## **Prohlášení**

Prohlašuji, že jsem závěrečnou práci zpracovala samostatně a že jsem uvedla všechny použité informační zdroje a literaturu. Tato práce ani její podstatná část nebyla předložena k získání jiného nebo stejného akademického titulu.

V Praze, dne                      2020

Podpis:

## Abstrakt

Rod *Trypanosoma* představuje známé bičíkovce z řádu Trypanosomatida a třídy Kinetoplastea, který zahrnuje přes 500 popsaných druhů parazitujících u všech tříd obratlovců. Nejznámějšími a ekonomicky i medicínsky nejvýznamnějšími jsou však savčí trypanosomy, speciálně lidské, které způsobují závažná onemocnění ve světě: spavou nemoc v Africe a Chagasovu chorobu v Latinské Americe. Trypanosomy lze však nalézt také v krvi ptáků, plazů, ryb a obojživelníků. A právě na trypanosomy obojživelníků, jejichž diverzita je překvapivě veliká, je zaměřena tato práce. Mnoho studií se však zaměřuje pouze na morfologický popis, který nemusí být vždy spolehlivý k určení druhu, a tím mohou být zkresleny informace např. o životním cyklu, prevalenci jednotlivých druhů nebo hostitelské specifitě. Tato práce poukazuje na některé nejasnosti, ale i na spolehlivější experimentální nebo v některých případech i molekulární důkazy zabývající se jednotlivými aspekty života trypanosom obojživelníků. Shrnuje také zástupce vodních i terestrických bezobratlých vektorů, z nichž jsou za dominantní považovány pijavice, přenášející trypanosomy ve vodním prostředí. Dále jsou pak známy některé druhy flebotomů, komárů a rodu *Corethrella*, kteří představují přenašeče terestrické.

**Klíčová slova:** *Trypanosoma*, obojživelníci, žáby, diverzita, přenašeči

## **Abstract**

The genus *Trypanosoma* represents well-known flagellates of order Trypanosomatida and class Kinetoplastea, which includes over 500 described species parasitizing on all classes of vertebrates. However, the best known and economically and medically most important are mammalian trypanosomes, especially human ones, which cause serious diseases in the world: sleeping sickness in Africa and Chagas disease in Latin America. But trypanosomes may also be found in blood of birds, reptiles, fish and amphibians. And exactly on trypanosomes of amphibians, whose diversity is surprisingly vast, is this thesis focused. However, many studies concentrate only on morphological description, which may not be the best in order to determine species, which may lead to distortion of information e.g. about species' life cycle, prevalence or host specificity. This thesis points to some ambiguities, but also to some more reliable experimental or in some cases molecular evidence dealing with individual aspects of life of trypanosome of amphibians. It also summarizes representatives of aquatic and terrestrial invertebrate vectors of trypanosomes, among which leeches are considered to be the dominant vector in aquatic environment. Furthermore, some species of phlebotomes, mosquitoes and genus *Corethrella* are known to be terrestrial vectors of trypanosomes.

**Key words:** *Trypanosoma*, amphibians, frogs, diversity, vectors

# Obsah

1 Úvod .....	1
2 Diverzita krevních parazitů obojživelníků .....	2
3 Diverzita trypanosom obojživelníků .....	4
3.1 Morfologická diverzita žabích trypanosom .....	5
3.1.1 Taxonomické obtíže a nejasnosti .....	5
3.1.2 Polymorfismus .....	6
3.1.3 Morfologické formy .....	7
3.1.4 Hostitelská specifita trypanosom .....	9
3.2 Diverzita odvozená na základě molekulárních studií .....	10
4 Přenašeči trypanosom obojživelníků .....	12
4.1 Přenos prostřednictvím pijavic (Hirudinea).....	12
4.2 Přenos prostřednictvím hematofágního hmyzu .....	17
4.2.1 Flebotomové jako přenašeči.....	18
4.2.2 Komáři jako přenašeči.....	19
4.2.3 Rod <i>Corethrella</i> jako přenašeč.....	20
5 Prevalence trypanosom u obojživelníků.....	21
6 Patogenita trypanosom obojživelníků .....	22
7 Závěr.....	23
8 Seznam literatury .....	29

# 1 Úvod

Rod *Trypanosoma* je známou parazitickou skupinou prvoků řádu Trypanosomatida a třídy Kinetoplastea. Spolu s rodem *Leishmania*, který patří do stejné skupiny a který sdílí s trypanosomou typické znaky této skupiny (např. kinetoplast), infikují člověka a způsobují nepříjemná, až závažná onemocnění. Avšak trypanosomy neparazituji pouze u lidí a hospodářských zvířat, ale i u volně žijících zvířat, které můžeme běžně potkat v našem okolí, a to s nečekaně velkou diverzitou. Tento fakt mě samotnou přivedl ke studiu tohoto méně prozkoumaného světa parazitů.

Rod *Trypanosoma* představuje více než 500 popsaných druhů parazitujících u všech tříd obratlovců (Podlipaev, 1990). Avšak nejznámějšími a medicínsky i ekonomicky nejvýznamnějšími druhy jsou právě lidské trypanosomy *Trypanosoma brucei gambiense* a *T. b. rhodesiense* způsobující v Africe vážné a smrtelné onemocnění nazývané se spavá nemoc, a dále pak *T. cruzi*, která zneprůjemňuje život infikovaných lidí v Jižní a Střední Americe, u nichž způsobuje Chagasovu chorobu. Dalšími důležitými trypanosomami, na které je zaměřena širší pozornost, jsou trypanosomy napadající hospodářská zvířata, u kterých působí onemocnění a tím i ekonomické škody (např. *T. vivax*, *T. congolense*, *T. brucei evansi*, *T. b. equiperdum*). Ostatní trypanosomy, které nejsou ekonomicky nebo zdravotnický důležité, jsou v jisté míře zanedbávány a opomíjeny. To platí i pro trypanosomy napadající obojživelníky, a to i přesto, že se v žabách po celém světě tyto cizopasnici běžně vyskytují. Opomíjení této skupiny se může zdát neoprávněné už kvůli tomu, že úplně první trypanosoma, která byla kdy popsána, byla nalezena právě v krvi skokana zeleného (*Pelophylax esculentus*<sup>1</sup>) v 1. polovině 19. století. Důvody, které mohou vysvětlovat fakt, že se jedná o velmi málo prozkoumanou skupinu trypanosom, mohou být vysoká morfologická diverzita, pleomorfismus, nejasný polymorfismus v rámci jednoho druhu a vysoká míra směsných infekcí v infikovaných jedincích. Tyto důvody ztěžují výzkum celé této skupiny.

Další zajímavostí a důvodem, proč studovat a zaměřit se na tuto skupinu, je skutečnost, že většina studií zabývajících se trypanosomami obojživelníků pochází z Nového světa. V Evropě, i přesto, že první trypanosoma byla popsána právě na tomto kontinentě,

---

<sup>1</sup> Dříve označovaný jako *Rana esculenta*

jich bylo provedeno opravdu málo a existuje pouze jedna novější studie z Evropy, která se zabývá molekulární fylogenetikou. Trypanosomy obojživelníků jsou také důležité z evolučního hlediska, a to díky obojživelnému způsobu života těchto hostitelů, kvůli kterému mají jak suchozemské vektory, typické pro vyšší obratlovce, tak vodní vektory, typické pro ryby, a jsou tak jakousi spojkou mezi vodními a terestrickými trypanosomami. Další studie by tak mohly přispět ke studiu původu celého rodu *Trypanosoma*.

## 2 Diverzita krevních parazitů obojživelníků

Obojživelníci jsou taxonomicky členěni na tři hlavní skupiny: červory (Gymnophiona), ocasaté (Caudata) a nejvíce zastoupené bezocasé obojživelníky, kam patří žáby (Anura) (Wake & Koo, 2018). Většina druhů obojživelníků žije převážně ve vodním prostředí, ve sladkých vodách (nikoli však ve slaných). A i druhy stromových či zemních žab a mloků, které se vyskytují po většinu svého života na souši, potřebují vodní prostředí pro své rozmnožování. Proto jsou obojživelníci vystaveni široké paletě vodních, ale i terestrických krevních vektorů, kteří přenášejí množství intra- či extracelulárních krevních parazitů včetně virů, bakterií, prvoků a filárií.

Například malé tmavé inkluze nacházející se v erythrocytech některých druhů žab (např. *Lithobates catesbeianus*<sup>2</sup>) byly dříve zaměňovány za parazitické prvoky, později se však diskutovalo o tom, že by to mohly být virové infekce (Johnston, 1975). Obojživelníky mohou napadat například viry patřící do skupiny ICDV virů (icosahedral cytoplasmic deoxyribovirus) přenášené pijavicemi (*Desserobdella picta*<sup>3</sup>) i krevsajícím hmyzem (*Culex territans*, *Culicoides* sp.) (Barta & Desser, 1984a). V krvi obojživelníků se mohou také nacházet viry FEV (frog erythrocytic virus), napadající červené krvinky, a FLV (frog leukocytic virus), napadající bílé krvinky, nalezené ve skokanovi Vaillantově (*Lithobates vaillanti*<sup>4</sup>) (Desser, 2001). Viry skupiny FEV jsou pravděpodobně přenášené krevsajícím hmyzem *Forcipomyia (Lasiohelia) fairfaxensis* a *Culex territans* (Gruia-Gray & Desser, 1992). V červených krvinkách tohoto druhu skokana (*Lithobates vaillanti*) se nacházely také gramnegativní bakterie, mimo jiné i *Aegyptianella* sp. z řádu Rickettsiales přenášené pijavicí *Desserobdella picta* (Barta & Desser, 1984a, 1984b; Desser, 2001).

---

<sup>2</sup> Dříve označovaný jako *Rana catesbeiana*

<sup>3</sup> Dříve označovaná jako *Batrachobdella picta*

<sup>4</sup> Dříve označovaný jako *Rana vaillanti*

V krvi obojživelníků se také nachází několik druhů jednobuněčných parazitujících prvoků patřících do kmene Apicomplexa. Několik druhů rodu *Haemogregarina* bylo nalezeno a popsáno v obojživelnících z různých částí světa. Nicméně podle Dessera *et al.* (1995), kteří zkoumali krevní parazity ve skokanovi volském (*Lithobates catesbeianus*), je možné, že druhy ze skokanů původně označované jako *Haemogregarina* byly špatně identifikovány a jednalo se ve skutečnosti o druhy *Hepatozoon* spp. Po celém světě je kolem 45 rozpoznávaných druhů rodu *Hepatozoon* parazitujících v žabích erythrocytech (Smith, 1996; Netherlands *et al.*, 2018). O vektorech těchto parazitů není mnoho známo, ale ví se, že jsou přenášeni prostřednictvím vodních i suchozemských vektorů. *H. catesbiana* napadající skokana volského přenáší komár *Culex territans* (Desser *et al.*, 1995) a *H. leptodactyli* vyskytující se v žabách rodu *Leptodactylus* přenáší pravděpodobně vodní pijavice *Haementeria lutzi* (Costa *et al.*, 1973). Jejich životní cyklus je složitý a prochází třemi fázemi rozmnožování: merogonií, gamogonií a sporogonií, které jsou charakteristické pro celý kmen Apicomplexa. Další paraziti patřící do kmene Apicomplexa vyskytující se také v červených krvinkách obojživelníků jsou *Lankestellia* spp. (Barta & Desser, 1984b; Desser, 2001) a *Babesiosoma stableri* (Barta & Desser, 1984b, 1986) pravděpodobně přenášené pijavicí *Desserobdella picta* (Barta & Desser, 1984b; Tse *et al.*, 1986). Častými protozoálními parazity jsou také trypanosomy, na které se zaměřuje tato práce (viz dále).

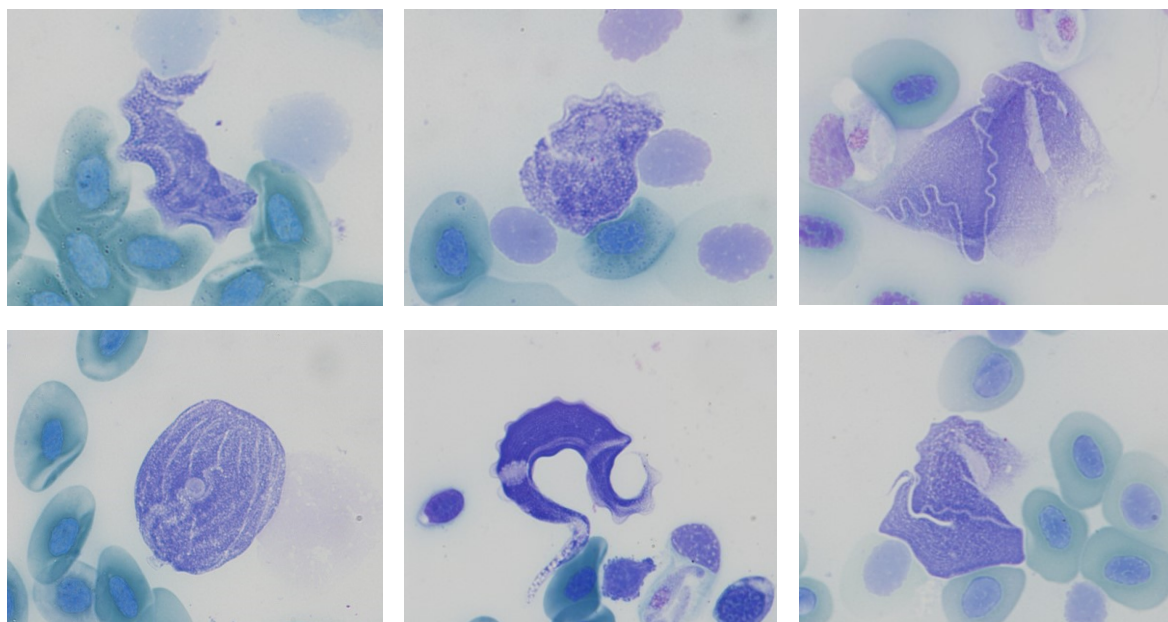
Zástupci filárií vyskytující se v krvi žab jsou kosmopolitní (Barta & Desser, 1984b; Werner & Kirwin, 1993; Desser, 2001; Readell & Goldberg, 2010). Např. ve skokanovi černoskvrnném (*Pelophylax nigromaculatus*<sup>5</sup>) v Číně, ale také v evropských skokanech (*Pelophylax esculentus* a *Pelophylax lessonae*) byla nalezena *Icosiella neglecta* (Werner & Kirwin, 1993; Okulewicz *et al.*, 2014). V několika druzích skokanů a ropuch ze Severní a Střední Ameriky se vyskytovaly druhy *Foleyella* sp. a *Ochotenerella* (Barta & Desser, 1984b; Desser, 2001). Tyto hlístice, patřící do třídy Secernentea, jsou biohelminti mající infekční 3. larvální stádium vyvíjející se ve střevě hmyzu (jejich vektora), které se dostává ze střední části střeva k ústnímu ústrojí a při sání nakazí svého definitivního hostitele – žábu (Benach & Crans, 1973). Diverzita jejich přenašečů je veliká. Druhy *Foleyella* pravděpodobně přenáší komáři *Aedes aegypti* a *Culex pipiens* (Causey, 1939; Benach & Crans, 1973), zatímco *Forcipomyia velox* a *Sycorax silacea* jsou vektoři u *I. neglecta* (Okulewicz *et al.*, 2014).

---

<sup>5</sup> Dříve označovaný jako *Rana nigromaculata*

### 3 Diverzita trypanosom obojživelníků

Trypanosomy obojživelníků byly první popsané trypanosomy vůbec, a to hlavně kvůli větší velikosti a tím i lepší viditelnosti pod světelným mikroskopem (Bardsley & Harmsen, 1973). Rod trypanosoma byl objeven a pozorován v roce 1842, a to v krvi evropského skokana zeleného (*Pelophylax esculentus*), ale nejdříve byl zaměňován s měňavkami a klasifikován jako *Amoeba rotatoria* (Mayer, 1843; cit. dle Spodarevy *et al.*, 2018). Záměna s měňavkou není až tak nepochopitelná, vzhledem k velmi atypickému tvaru řady žabích trypanosom (viz Obrázek 1). O rok později byl tento druh označen jako *Trypanosoma rotatorium*, kterým tak byl vytvořen rod *Trypanosoma* (Gruby, 1843; cit. dle Ferreiry *et al.*, 2007). Další dvě trypanosomy (*T. loricatedum* a *T. ranarum*), které byly popsány následovně, byly považovány za nálevníky, což je opět pochopitelné vzhledem k jejich morfologii (viz Obrázek 1). *T. ranarum* byla pojmenovaná jako *Undulina ranarum* podle přítomnosti undulující membrány (Lankester, 1871) a *T. loricatedum* jako *Paramecium loricatedum* (Mayer, 1843; cit. dle Spodarevy *et al.*, 2018). Trypanosomy vyskytující se v krvi obojživelníků byly zaznamenány u obojživelníků z celého světa: z Asie, z Evropy, z Afriky, ze Severní Ameriky, ze Střední Ameriky, z Jižní Ameriky a z Austrálie (viz Tabulka 1, str. 25).



Obrázek 1: Vysoká variabilita různých tvarů trypanosom, v tomto případě pozorovaná v krvi skokanů (*Peophylax* spp.), je velmi typická pro trypanosomy obojživelníků (Originál)

### 3.1 Morfologická diverzita žabích trypanosom

Trypanosomy obojživelníků vykazují vysokou morfologickou variabilitu a jsou mnohem více polymorfní než savčí trypanosomy (Bardsley & Harmsen, 1973). Mohou být kulaté, oválné, vějířovité, spirálovité, vřetenovité, mohou mít i nepravidelné tvary s viditelným nebo bez viditelného bičíku (Lehmann, 1958b; Bardsley & Harmsen, 1973; Werner & Walewski, 1976; Werner & Kirwin, 1993; Spodareva *et al.*, 2018). Tato vysoká variabilita představuje důvod, proč byly trypanosomy zprvu zaměňovány za měňavky a nálevníky. Nejen polymorfismus (proměnlivost v rámci jednoho druhu), ale také přítomnost směsných infekcí (v jednom jedinci obojživelníka se vyskytuje více druhů trypanosom), či pleomorfismus (morfologické změny během životního cyklu) jsou důvody, které ztěžují nejen morfologický výzkum této skupiny. Proto se v některých aspektech jedná o relativně málo prozkoumanou skupinu trypanosom.

#### 3.1.1 Taxonomické obtíže a nejasnosti

Z různých koutů celého světa bylo morfologicky popsáno přes 70 druhů trypanosom z obojživelníků (viz Tabulka 1, str. 25). Ovšem ani po příchodu molekulárních studií se tento počet výrazně neměnil. Kvůli jejich polymorfismu, směsným infekcím a pleomorfismu se mnoho autorů vyhýbalo popisu nových druhů trypanosom (např. Desser, 2001). Někteří autoři přiřazovali názvy druhům trypanosom pouze na základě jednoduchých morfologických znaků i přes to, že trypanosomy byly izolovány z nepříbuzných druhů jedinců žab a vzdálených geografických míst. Například jméno *T. chattoni* se používá pro žabí trypanosomy na různých kontinentech: v Asii v ropuše čínské (*Bufo gargarizans*) (Werner & Kirwin, 1993), v Severní Americe ve skokanovi levhartím (*Lithobates pipiens*<sup>6</sup>) (Jones & Woo, 1987) a také v Jižní Americe ve hvízdalce hnědé (*Leptodactylus fuscus*) (Lemos *et al.*, 2008). Lze přitom pochybovat o takto širokém hostitelském i geografickém rozšíření a mnohem pravděpodobněji se jedná o několik odlišných druhů. Ještě častěji se však pro žabí trypanosomy po celém světě používá jméno *T. rotatorium*, tedy jméno druhu, které bylo použito pro úplně první popsanou trypanosomu, a to v Evropě v roce 1843. Bohužel nelze s jistotou říci, co autor skutečně pozoroval a zda se nejednalo o smíšenou infekci několika druhů (Bardsley & Harmsen, 1973). Navíc původní práce neobsahuje všechny potřebné údaje a například charakteristika jádra a další podrobnější morfologické

---

<sup>6</sup> Dříve označovaný jako *Rana pipiens*

informace tohoto prvního popisu nebyly zaznamenány (Werner & Walewski, 1976). Nyní je tato trypanosoma (*T. rotatorium*) popisována asi v 60 druzích žab po celém světě (Bardsley & Harmsen, 1973; Werner & Walewski, 1976; Barta & Desser, 1984b; Werner & Kirwin, 1993; Spodareva *et al.*, 2018). To může být interpretováno buď velmi nízkou hostitelskou specifitou a kosmopolitním rozšířením, anebo nesprávným přiřazením druhu trypanosomy. Někteří autoři však diskutují správnost označení *T. rotatorium* u některých severoamerických druhů žab (Werner & Walewski, 1976). Například v Austrálii, kde vzali v úvahu velikou geografickou vzdálenost od původního evropského druhu, zjistili, že původně uváděný druh *T. rotatorium* je ve skutečnosti novým druhem následně pojmenovaným jako *T. clelandi* (Cleland & Johnston, 1910; cit. dle Mackerras & Mackerras, 1960).

Sestavit přesný seznam platných druhů trypanosom, které napadají obojživelníky, je takřka nemožné, protože popisy většiny druhů byly založeny pouze na stádiích trypomastigotů nalézajících se v krevním oběhu hostitele. Dalším problémem při popisování nových druhů mohou být různé fáze vývoje parazita. Infekční metacyklické formy trypanosom nalézající se v pijavicích (vektorech trypanosom) jsou morfologicky odlišné a menší oproti větším trypomastigotům nacházejících se v krevním řečišti obratlovce, přičemž se pochopitelně jedná o jeden a tentýž druh (Martin & Desser, 1991a). Proto je pravděpodobné, že některé formy pozorovaných trypanosom v hostiteli či ve vektoru, ačkoli se jednalo o jeden druh, mohly být považovány za odlišné druhy a došlo k nesprávnému pojmenování (Desser, 2001). Desser (2001) diskutující tuto problematiku navrhoval, aby popis nového druhu trypanosom nebyl zakládán pouze na morfologických znacích trypanosomy v obratlovčím hostiteli, popisu hostitele a jeho lokality, ale také na popisu jeho stádií ve vektoru a v kultuře. To může být spolehlivější než popisování nových druhů pouze na morfologických znacích v jednom hostiteli, ale také velmi složité a v některých případech jen obtížně proveditelné. Navíc je v současné době nejspolehlivější určování druhů molekulárními metodami, a tak práce zaměřené pouze na morfologii nejsou pro popis druhu dostačující.

### **3.1.2 Polymorfismus**

Výraz polymorfismus může představovat různý význam v odlišných disciplínách. Nicméně polymorfismus u trypanosom je chápán jako fenotypová exprese jednoho genotypu (Bardsley & Harmsen, 1973) a také schopnost vytvářet morfologicky a fyziologicky odlišná

stádia (morfy), které se liší např. délkou bičíku, polohou kinetoplastu a jádra a přítomností undulující membrány. Několik druhů trypanosom je považováno za vysoce polymorfní organismy a přetrvávají pochybnosti o tom, zda jsou obojživelníci napadáni mnoha morfologicky rozdílnými druhy nebo jen jedním vysoce polymorfním druhem. Desser (2001) pozoroval směsnou infekci u skokana Vaillantova (*Lithobates vaillanti*) ve Střední Americe, ve kterém popsal až 5 různých druhů trypanosom. Někteří autoři však značí díky těmto nejasnostem například *T. rotatorium* jako *T. rotatorium* komplex, který může vykazovat různé morfologické typy (morfotypy) (Bardsley & Harmsen, 1969; Žičkus, 2002). Žičkus (2002) zaznamenal 4 různé morfologické typy trypanosom, které taxonomicky zařadil pod označení *T. rotatorium* komplex. Nicméně existují pochybnosti o tom, zda se jedná o fenotypovou expresi jednoho genotypu nebo o směsné infekce více druhů (taxony). Některé druhy žabích trypanosom jsou popsány jako polymorfní (např. *T. rotatorium*, *T. ranarum*, *T. granulosa*, *T. ambystomae*) a některé naopak jako monomorfní (např. *T. chattoni*, *T. hosei*, *T. andersoni*, *T. grylli*, *T. pipientis*) (Lehmann, 1954, 1959b; Bardsley & Harmsen, 1969; Woo & Bogart, 1984; Miyata & Yong, 1991; Lemos *et al.*, 2008). Ale při nedodržování určitých pravidel při popisování polymorfismu či monomorfismu (pozorování zralých forem trypanosom ve stejných podmínkách), může být toto označení zavádějící (Bardsley & Harmsen, 1973).

### 3.1.3 Morfologické formy

Pozorování morfologických typů pomocí světelné mikroskopie odhalilo velikou rozmanitost forem trypanosom. Mnoho prací se zaměřuje pouze na popis morfologických stádií v krvi hostitelů a popis nových druhů se opírá pouze o tento parametr. Trypanosomy obojživelníků vykazují vysokou míru pleomorfismu. Avšak nelze vyloučit, že u některých pozorování se jednalo o směsné infekce, a tedy různé druhy. Pleomorfismus byl ale potvrzen např. u *T. fallisi*. U této trypanosomy probíhaly sezónní cykly se dvěma odlišnými stádii trypomastigotů. Zkraje jara a během léta v krvi obojživelníka převažovala „tlustá“ forma trypanosomy naznačující pravděpodobně počáteční infekci, naopak na podzim (nejspíše i v zimě, vzorky ale nebyly v tuto dobu sbírány) byla pozorována pouze „štíhlá“ forma (Hýsek & Žižka, 1988; Martin & Desser, 1990). Vliv teploty byl také zkoumán u *T. andersoni* a *T. grylli*. Vývoj trypanosom související s jejich dělením a morfologickými změnami (větší variabilita délky trypanosomy a větší frekvence dělení) v obratlovčím

hostiteli byl zrychlen s nástupem vyšších teplot, naopak při ochlazování byl vývoj zpomalen (Reilly & Woo, 1982c).

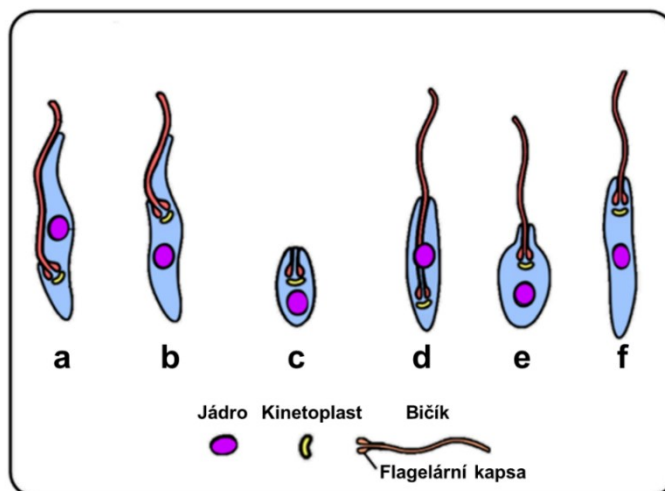
Obecný a jasný vzorec, jak vypadá životní cyklus trypanosom obojživelníků, neexistuje. V průběhu infekce lze nalézt v krvi obratlovce několik různých morfologických typů trypanosomy: trypomastigoty, epimastigoty, amastigoty a sféromastigoty (viz Obrázek 2). Nicméně podle Tylera & Engmana (2001) je sféromastigot spíše mezistádiem mezi charakteristickými stádii, nežli samostatnou fází životního cyklu. Jedním z nejlépe studovaných životních cyklů, popsáných na základě experimentálních infekcí, vykazuje *T. fallisi* z ropuchy americké (*Anaxyrus americanus*<sup>7</sup>) (Martin & Desser, 1990, 1991a). Prvním typem nacházejícím se v krvi ropuchy jsou metacykličtí trypomastigoti (infekční stádium), kteří se postupně dělí na trypomastigoty s dobře vyvinutou undulující membránou, kteří se následně během několika týdnů přeměňují na štíhlejší formy. U *T. andersoni* byli pozorováni navíc i sféromastigoti a epimastigoti. Dělení probíhalo extracelulárně hlavně v játrech, kde se trypomastigoti dělili na sféromastigoty, kteří dali vznik epimastigotům a následně znovu trypomastigotům. Podobný proces byl pozorován také u *T. grylli* s rozdílem místa dělení. Tato trypanosoma se rozmnožovala hlavně v periferní krvi (Reilly & Woo, 1982c). Amastigotní stádia byla pozorována u *T. chattoni* v krvi skokana Vaillantova (*Lithobates vaillanti*) (Desser, 2001). Obecný vzorec místa dělení se u žabích trypanosom také nevyskytuje. Mimo *T. grylli* dělící se v periferní krvi a *T. andersoni* dělící se v játrech, se např. *T. inopinatum* dělí v buňkách sleziny a kostní dřeni (Buttner & Bourcart, 1955), *T. gaumontis* v srdci (Woo, 1969b) a *T. chattoni* v ledvinách (Jones & Woo, 1987).

Množení trypanosom zahrnuje buď binární dělení, při němž se jedna mateřská buňka rozdělí na dvě stejně velké dceřiné buňky, anebo „vícenásobné“ dělení, při němž se mateřská buňka rozdělí na několik dceřiných buněk. Sféromastigotické stádium, které vzniká v krvi, se dělí nerovnoměrným binárním dělením produkujícím dvě nestejná stádia: epimastigoty a trypomastigoty (Woo & Bogart, 1986). Různorodost epimastigotních forem *T. grylli* pravděpodobně ukazuje zase výsledek nerovnoměrného „vícenásobného“ dělení (Reilly & Woo, 1982c). Binární i „vícenásobné“ dělení, ať už pravidelné či nikoli, se však spolu nevyskytovalo u všech pozorovaných trypanosom. Např. u *T. andersoni* nebo u *T. chattoni*

---

<sup>7</sup> Původně označovaná jako *Bufo americanus*

bylo pozorováno pouze binární dělení, „vícenásobné“ dělení pozorováno nebylo (Reilly & Woo, 1982c; Jones & Woo, 1987).



Obrázek 2: Morfologická stádia trypanosom: a – trypomastigot, b – epimastigot, c – amastigot, d – opisthomastigot, e – choanomastigot, f – promastigot (podle Kaufer *et al.*, 2017, upraveno)

### 3.1.4 Hostitelská specifita trypanosom

Až na některé výjimky jsou trypanosomy obojživelníků popisovány jako málo specifické pro své obratlovčí hostitele. Například *T. rotatorium* nebo *T. ranarum* byly identifikovány hned u několika nepříbuzných druhů žab: ve skokanech, ropuchách či některých druhů rosniček a dalších zástupců žab (Woo, 1969b; Ramos & Urdaneta-Morales, 1977; Barta & Dessler, 1984b; Gupta *et al.*, 2012). Nicméně je zase nutné poukázat na to, že není zcela jasné, jestli jsou tyto dva druhy opravdu tak nespecifické, anebo došlo k nesprávnému určení a pojmenování. Je možné, že tyto druhy nejsou zdaleka tak rozšířené. Hostitelskou nespecifičnost však potvrdily některé experimentální infekce, kde *T. ambystomae* infikuje axolotla hnědého (*Ambystoma gracile*) stejně dobře jako „mloka“ tarichu zrnitou (*Taricha granulosa*) (Lehmann, 1957). Určitou míru hostitelské specifity naopak vykazuje například *T. fallisi*, která byla poprvé popsána z ropuchy americké (*Anaxyrus americanus*) v Kanadě (Martin & Dessler, 1990). Při experimentálních infekcích se ukázala schopnost této trypanosomy infikovat některé druhy ropuch a jim příbuzné druhy z čeledi rosničkovitých (Hylidae), nikoli však skokany (Martin & Dessler, 1991b). Je pravděpodobné, že *T. fallisi* se přizpůsobila ropuchám a v současné době není schopná infikovat skokany, kteří jsou evolučně vzdálenější a se kterými již trypanosoma ztratila fyziologickou kompatibilitu (Martin & Dessler, 1991b; Martin *et al.*, 2002). Další míru specifity vykazují druhy *T. andersoni* a *T. grylli*, které při experimentální studii infikovaly pouze druhy z čeledi

rosničkovitých (Hylidae) (Reilly & Woo, 1982b). Dále pak *T. barbari*, která infikovala prostřednictvím inokulace pouze jednoho z osmi testovaných druhů, a to tarichu kalifornskou (*Taricha torosa*). Dva příbuzné druhy (*Taricha granulosa*, *Notophthalmus viridescens*<sup>8</sup>), patřící společně s *T. torosa* do čeledi Salamandridae, nevykazovali žádnou infekci trypanosomou *T. barbari* (Lehmann, 1952, 1958a). Také *T. bocagei* a *T. bufophlebotomi* jsou specifické pro ropuchy, protože všechny pokusy infikovat skokany a rosničky byly neúspěšné (Anderson & Ayala, 1968).

Trypanosomy obojživelníků pravděpodobně vykazují také nízkou specifitu u svých bezobratlých vektorů. Nicméně o specifitě přenašečů je známo velmi málo. Například nízkou specifitu v rámci vektorů vykazuje druh *T. rotatorium*, u kterého byl popsán podrobný vývoj jak u pijavic (Bardsley & Harmsen, 1973), tak také u dvou druhů komárů: *Culex territans* a *Aedes aegypti* (Bailey, 1962; Dessler *et al.*, 1973). Nicméně je znovu nutné poukázat na nejasnosti ohledně pojmenování druhu *T. rotatorium*, kde se mohlo jednat o více druhů (viz výše). Trypanosomy, které jsou přenášeny prostřednictvím flebotoma *Lutzomyia vexator*, jsou podle Andersona & Ayaly (1968) považovány za vektorově specifické, a to díky úspěšnosti flebotoma infikovat ropuchy při sání. Také zmiňují nepřímé důkazy, a to takové, že pravděpodobnost těchto vektorů být jedinými přenašeči je dána nočním způsobem života obou skupin a sdílení stejných nor.

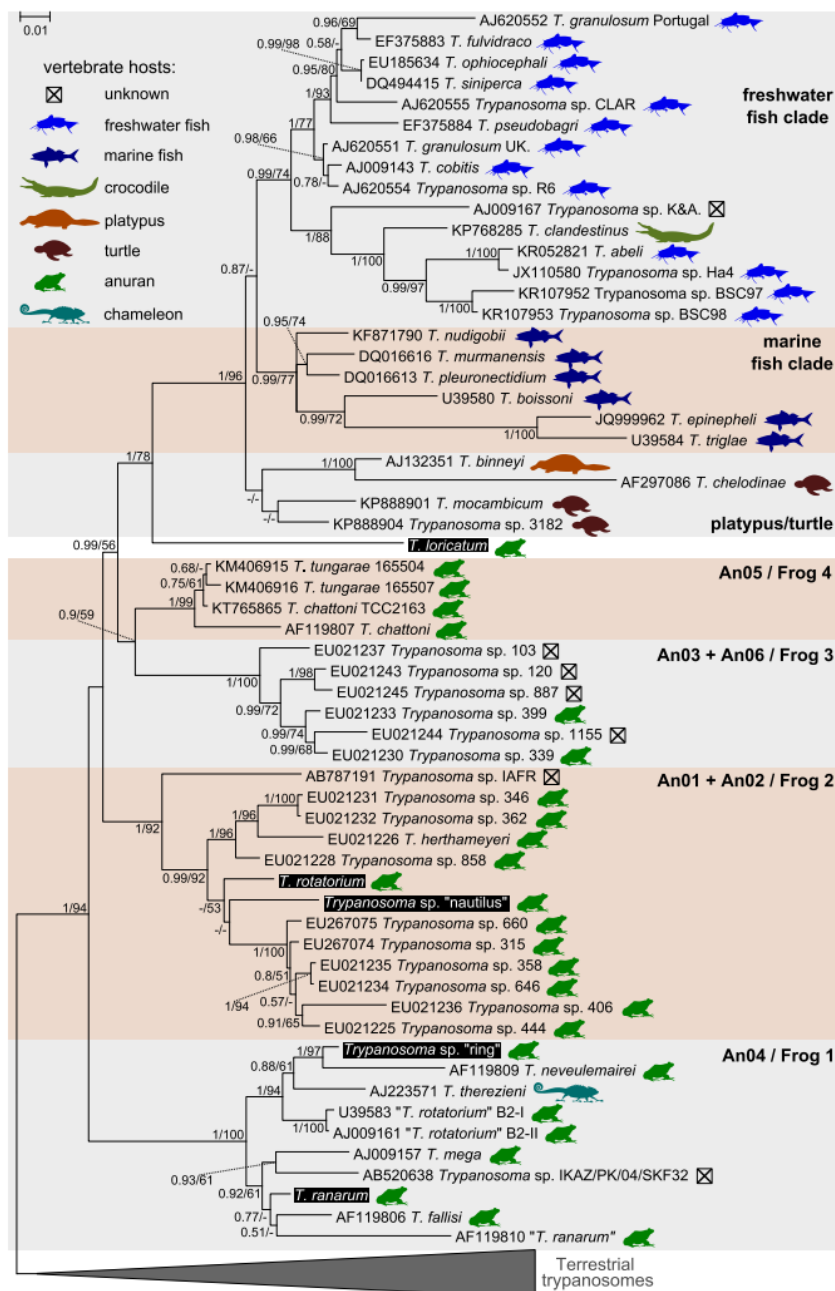
### 3.2 Diverzita odvozená na základě molekulárních studií

Data, zahrnující pouze morfologický popis trypanosom, nejsou vhodným nástrojem k určování druhů a stanovení taxonomické příbuznosti. Většina druhů, až na pár výjimek, však byla v minulosti popsána právě pouze na základě morfologie. V současné době se s přístupem moderních technologií a molekulárních metod některé otázky nejen ohledně příbuznosti těchto trypanosom vyjasnily. Například stále panují nejasnosti ohledně druhu *T. rotatorium*, který byl poprvé morfologicky popsán v Evropě, a jménem kterého byly později označeny mimo jiné i druhy žabích trypanosom v Severní Americe. Z DNA izolátů evropského a kanadského vzorku je však jasné, že se jedná o jiný druh. Podobná situace platí i pro druh *T. ranarum* (Spodareva *et al.*, 2018).

---

<sup>8</sup> Původně označovaný jako *Diemyctylus viridescens*

Podle nejnovějšího fylogenetického stromu trypanosom obojživelníků je patrné, že se jedná o parafyletickou skupinu (viz Obrázek 3) (Spodareva *et al.*, 2018). Trypanosomy z žab jsou příbuzné trypanosomám z ryb, želv a *T. binneyi* z ptakopyska a spadají společně do tzv. „Aquatic clade“. Za příbuznost některých těchto skupin je zřejmě zodpovědný stejný typ přenašeče, a tím jsou pijavice. Sekvence byla doposud získána u cca 30 druhů trypanosom obojživelníků, avšak pouze u 9 z nich bylo přiřazeno taxonomické pojmenování, a to: *T. tungarae*, *T. chattoni*, *T. mega*, *T. herthameyeri*, *T. rotatorium*, *T. neveulemairei*, *T. ranarum*, *T. fallisi* a *T. loricatorum* (Martin *et al.*, 2002; Attias *et al.*,



Obrázek 3: Fylogenetický strom trypanosom z tzv. Aquatic clade (Spodareva *et al.*, 2018)

2016; Bernal & Pinto, 2016; Spodareva *et al.*, 2018). Tyto druhy jsou podle příbuznosti členěny do monofyletických skupin značených jako An01 – An06. Pozice *T. loricatum*, která nenáleží ani do jedné z těchto skupin, a naopak tvoří sesterskou skupinu k ostatním trypanosomám z „Aquatic clade“ (viz Obrázek 3), poukazuje na její zajímavé evoluční postavení. Autoři tohoto zjištění tím vysvětlují příbuznost mezi jednotlivými skupinami trypanosom z této evoluční větve, a to že trypanosomy obojživelníků jsou evolučně původnější než druhy ostatních trypanosom z „Aquatic clade“, tj. jsou jejich předci. V evoluci se pravděpodobně některé trypanosomy původně přenášené pouze hmyzem přizpůsobily k přenosu prostřednictvím pijavic. Výjimečně tak došlo i k přeskoku mezi hostiteli, a právě díky tomu můžeme nalézt trypanosomy z této skupiny také u ryb, želv a ptakopyska (Spodareva *et al.*, 2018).

## **4 Přenašeči trypanosom obojživelníků**

Trypanosomy jsou ve většině případů z hostitele na hostitele přenášeny pomocí bezobratlých vektorů, ve kterých dochází k množení a diferenciaci parazita na stádia schopná nakazit obratlovčího hostitele. Trypanosomy se množí ve svých vektorech nejčastěji v prostorách trávicí trubice. Obojživelníci, na které se zaměřuje tato práce, žijí jak vodním, tak terestrickým způsobem života, a mají proto širokou škálu prostředí, kde se mohou vyskytovat, a tedy i příležitostí přijít do kontaktu s různými vektory. Trypanosomy obojživelníků proto přenášejí jak vodní pijavice, tak i někteří zástupci suchozemského hematofágního dvoukřídlého hmyzu.

### **4.1 Přenos prostřednictvím pijavic (Hirudinea)**

Obojživelníci tráví poměrně podstatnou část svého života ve vodním prostředí, protože se ve vodním prostředí vyskytují ve svých raných vývojových stádiích, a poté minimálně jako dospělci v době rozmnožování. Tím se zvyšuje riziko jejich napadení pijavicemi (Hirudinea), které jsou považovány za jedny z nejčastějších hematofágních ektoparazitů této skupiny obratlovců. Mnoho druhů těchto kroužkovců saje přednostně na poikilotermních obratlovcích jako například někteří zástupci z čeledi Glossiphoniidae parazitující na rybách, plazech a obojživelnících (Mann, 1962). Lze proto předpokládat, že jsou to i důležité vektorů přenášející mezi obratlovčími hostiteli mj. i trypanosomy. Prvním autorem, který přišel na

souvislost mezi trypanosomami obojživelníků a pijavicemi, byl Billet (1904; cit. dle Bardsley & Harmsen, 1973), který publikoval studii, že chobotnatka *Batracobdella algira* je přirozeným vektorem *T. inopinatum* vyskytující se ve skokanovi zeleném (*Pelophylax esculentus*).

Podtřída pijavice (Hirudinea) je blíže příbuzná máloštětinatcům (Oligochaeta) patřící společně do třídy opaskovců (Clitellata) a kmene kroužkovců (Annelida) (Sawyer & Fitzgerald, 1981; Govedich *et al.*, 2004). Podtřída Hirudinea je monofyletickou skupinou, která je rozdělena na Acanthobdellida a „pravé pijavice“ Euhirudinea, která zahrnuje dva hlavní řády: Rhynchobdellida se svalnatým vychlípitelným chobotem označovaným také jako proboscis (zahrnující například čeledi sladkovodních Glossiphoniidae a ektoparazitických Piscicolidae) a Arhynchobdellida s čelistmi obsahující zuby zahrnující čeledi vodní (např. Hirudinidae) i terestrické (např. Haemadipsidae) (Govedich *et al.*, 2001). Zástupci pijavic se vyskytují po celém světě a obývají širokou škálu různého prostředí, jako jsou terestrické ekosystémy, slané i sladké vody, kde se běžně nalézají v rybnících, jezerech, potocích a řekách, a to jako součást bentických a příležitostně i pelagických společenstev (Govedich *et al.*, 2001).

Způsoby získávání potravy u různých druhů pijavic mohou být rozdílné. Některé druhy jsou dravci a živí se jinými druhy bezobratlých živočichů, ale mnoho z nich jsou hematofágní parazité sající krev na velké škále obratlovců. U některých zástupců nemají pouze roli parazita, ale mohou zaujímat funkci vektorů a přenášet řadu patogenů. Dokonce bylo prokázáno, že několik druhů virů (např. virus HIV, viry hepatitidy) a bakterií je schopno dlouhodobě žít v těle pijavic, nicméně k případnému přenosu nedochází prostřednictvím slinných žláz, ale při přímém kontaktu obsahu střeva pijavice a krve napadeného člověka způsobeného např. stlačením pijavice při snaze o oddělení pijavice od kůže (Nehili *et al.*, 1994). Mořské pijavice rodu *Ozobranchus* jsou mechanickým vektorem viru FPTHV (fibropapilloma-associated turtle herpesvirus) způsobujícího onemocnění želv (Greenblatt *et al.*, 2004). Pijavice mohou dále přenášet řadu parazitů, jako například krevní parazitické prvky *Haemohormidium beckeri* vyvíjející se ve střevě pijavic *Platybdella olriki* a *Johanssonia artica* (Khan, 1980) a *Haemogregarina myoxocephali* nacházející se v pijavici *Malmiana scorpii* (Siddall & Desser, 1993). Oba jmenovaní prvoci parazitují na rybách a patří do kmene Apicomplexa.

Dalším krevním prvokem, který je přenášen pijavicemi a parazituje na rybách, je rod *Trypanoplasma*<sup>9</sup>, zástupce bodonidů příbuzný rodu *Trypanosoma* a společně patří do třídy Kinetoplastea. Pravděpodobně všechny druhy trypanoplasem přenášejí parazitické pijavice (Cranney & Heckmann, 1996). Trypanoplasmy se mohou vyskytovat jak v mořských, tak sladkovodních zástupcích ryb a pijavic. *Trypanoplasma bullocki* se vyskytuje u mořských ryb v okolí Mexického zálivu a za jejího vektora se považuje pijavice *Calliobdella vivida* (Burreson, 1982). U sladkovodních ryb se vyskytuje *Trypanoplasma borreli*, která parazituje na evropských druzích kaprovitých ryb jako je kapr obecný (*Cyprinus carpio*) a lín obecný (*Tinca tinca*) a způsobují u nich „spavou nemoc“. Přenášejí je pijavice chobotnatka pestrá (*Hemiclepsis marginata*) a chobotnatka rybí (*Piscicola geometra*) (Lom & Dykova, 1992; cit. dle Steinhagena *et al.*, 2000). Dalšími zástupci parazitující na sladkovodních rybách jsou například *Trypanoplasma salmositica* (Becker & Katz, 1965) a *Trypanoplasma atraria* (Cranney & Heckmann, 1996) přenášené pijavicí *Piscicola salmositica* na západě Severní Ameriky.

Dalšími přenášenými parazity prostřednictvím pijavic jsou trypanosomy, které kolují u různých skupin hostitelů jako jsou ryby (Hayes *et al.*, 2014), želvy (Siddall & Desser, 1992) a obojživelníci (Bardsley & Harmsen, 1973). Pijavice přenášející trypanosomy u ryb byly identifikovány jak u sladkovodních, tak u mořských zástupců (Overath *et al.*, 1999; Hayes *et al.*, 2014). Trypanosomy u mořských ryb zastupuje například *T. murmanensis* infikující tresku obecnou (*Gadus morhua*), kterou přenáší pijavice *Johanssonia* sp. (Khan, 1976). Tato trypanosoma (*T. murmanensis*) se vyskytuje minimálně u sedmi dalších zástupců mořských ryb, u kterých se geografický výskyt překrývá také s výskytem pijavice *Johanssonia* sp. (Khan, 1977). Dalším zástupcem trypanosomy infikující mořské ryby je *T. nudigobii* přenášená pijavicí *Zeylanicobdella arugamensis*, která na základě morfologických studií vykazovala vysoký pleomorfismus (Hayes *et al.*, 2014). U sladkovodních ryb je to například *T. carassii* s vektorem chobotnatky pestré (*Hemiclepsis marginata*) (Overath *et al.*, 1999). *T. chrysemydis* se naopak vyskytuje u želv (Siddall & Desser, 1992).

Pijavice lze dokonce považovat i za vektora *T. binneyi* vyskytující se u ptakopyska (*Ornithorhynchus anatinus*) (Mackerras, 1960). Tento druh trypanosomy je fylogeneticky

---

<sup>9</sup> Někdy označovaný jako podrod *Cryptobia* v rámci rodu *Trypanoplasma*

blízce příbuzný trypanosomám z želv, ryb a obojživelníků, pravděpodobně díky společné evoluci i podobnému způsobu přenosu (Jakes *et al.*, 2001).

Přenosu trypanosom se účastní nejenom vodní pijavice, ale existuje také několik druhů suchozemských pijavic z čeledi Haemadipsidae. Ty jsou převážně hematofágní a žijí ve vlhkých deštných lesích v tropických a subtropických ekosystémech v okolí Indického a Tichého oceánu. Tyto pijavice se považují například za vektory trypanosom u klokanů v Austrálii (Noyes *et al.*, 1999). Hamilton *et al.* (2005) předpokládají, že *T. cyclops* a jí příbuzné druhy trypanosom jsou přenášeny právě terestrickými pijavicemi nejen na klokany a makaky, ze kterých byla tato trypanosoma izolována, ale také na žáby. Trypanosoma *T. cyclops* byla totiž nalezena v paropuše Fleayově (*Mixophyes fleayi*), což je primárně terestrický druh žáby (Hamilton *et al.*, 2005).

Druhy pijavic sající na obojživelnících a přenášející trypanosomy patří do čtyř čeledí: Piscicolidae, Hirudinidae, Haemodipsidae a nejčastěji Glossiphoniidae. Do této čeledi patří například jedna z nejvíce prozkoumaných pijavic sajících na obojživelnících, *Desserobdella picta* ze Severní Ameriky (Sawyer & Fitzgerald, 1981). Živí se výhradně na obojživelnících, a to hlavně na jaře v období rozmnožování od května do července. Pijavice jsou dočasní ektoparazité, kteří sáním krve tráví relativně krátký čas a po většinu svého života žijí volně v bentosu. *Desserobdella picta* přenáší *T. rotatorium* v rámci čeledi skokanovitých (Ranidae) (Bardsley & Harmsen, 1973). Tato pijavice však přenáší i *T. ogawai* u mloků (Woo & Bogart, 1986) a *T. diemyctyli* u čolků (Barrow, 1953). U mloků se také vyskytuje *T. granulosa* a *T. ambystomae*, která je přenášena pijavicí *Erpobdella* sp. (Lehmann, 1958b). Guseinov (2011) popsal *T. neveulemairei*, krevního parazita skokana skřehotavého (*Pelophylax ridibundus*) z evropského druhu chobotnatky pestré (*Hemiclepsis marginata*), která obvykle saje na rybách, ale příležitostně se může živit krví pulců (Sawyer & Fitzgerald, 1981).

Trypanosomy se nepřenáší prostřednictvím pijavic pouze na dospělé žáby, ale také na nedospělá stádia žab, neboť pijavice sají již na pulcích. Jejich morfologie se však liší od morfologie běžně se vyskytující u dospělých žab (Bardsley & Harmsen, 1973). Autoři přičítají morfologický rozdíl jinému prostředí výskytu dospělého jedince a pulce, přičemž změna morfologie parazita probíhá v průběhu metamorfózy hostitele. Nezmiňují však, zda by se mohlo jednat o směsnou infekci.

Při oslabení jedince může u pijavic docházet ke kanibalismu ostatními dospělými či mladými pijavicemi. Pokud se jedna pijavice krmí druhou, která je nakažená, dochází také k infekci a přenosu trypanosom. Nejen, že trypanosomy přenos z jedné pijavice do druhé přežijí, ale dokážou následně i nakazit obratlovčího hostitele. Další přenos je obdobný přenosu různých patogenů prostřednictvím co-feeding u klíšťat. Pokud dospělí jedinci sají zároveň se svými potomky (např. na čolкови, na kterém to v tomto případě bylo zkoumáno), mohou nakazit mláďata (nebo obecně jiné pijavice) během tohoto společného sání. Dosud neinfikovaný jedinec pijavice se v průběhu sání nakazí trypanosomou, která byla do obratlovčího hostitele uvolněna z infikované pijavice (Barrow, 1953).

Vektoři trypanosom nejsou jen mechanickými přenašeči, ale probíhá v nich podstatná část životního cyklu parazitů, kdy dochází k dělení, transportu a diferenciaci vývojových stádií. Vývoj trypanosom v pijavicích je u všech popsaných zástupců podobný. Celý cyklus probíhá ve střevě, slepých postranních střevních výběžcích nebo žaludku pijavic, kde se vyskytují dělicí se stádia trypanosom (Barrow, 1953). Proces následuje v některých případech přechodem metacyklických forem, tedy stádií schopných infikovat hostitele, do proboscis (Martin & Desser, 1991a). Existují ale i případy, kdy metacyklické formy trypanosom do proboscis nepřechází, přestože byly nalezeny v přední části trávicí trubice (ve voleti). V tomto případě však při laboratorních pokusech nedošlo k infekci žab, tudíž migrace infekčních forem do proboscis je patrně předpokladem pro úspěšný přenos (Reilly & Woo, 1982a).

Ve střevě pijavic jsou nejdříve patrní trypomastigoti společně se sféromastigoty a později po několika hodinách i s epimastigoty (Reilly & Woo, 1982a). Podle Reillyho & Woo (1982a) při pozorování vývoje *T. andersoni* v pijavici *Desserobdella picta* již po 4 až 8 dnech nebyli pozorováni žádní trypomastigoti, přičemž se ve střevě vyskytovali formy sféromastigotů a epimastigotů. Metacyklická stádia byla nalezena až po 24 dnech po infekci. Martin & Desser (1991a) pozorovali vývoj *T. fallisi* v pijavici *Desserobdella picta*. Podle nich se doba vývoje do metacyklického stádia trypanosom liší na základě velikosti a stáří pijavice. U menších pijavic probíhal vývoj podstatně rychleji než u větších dospělých jedinců, u kterých zůstávali paraziti ve střevě po dobu až 6 měsíců ve formě štíhlých nebo tlustých forem epimastigotů. Naopak podle Barrowa (1953) se metacyklická stádia *T. diemyctyli* v pijavici *Desserobdella picta* objevují již po 16 dnech. Metacyklická stádia jsou tvořena pouze za určitých ekologických okolností. Důležité faktory jsou teplota, kdy při nízkých teplotách dochází k zastavení množení a tvorbě metacyklických forem (Bardsley

& Harmsen, 1973), a množství potravy, kdy při menším obsahu potravy ve střevě a střevních výběžcích naopak dochází k dřívější tvorbě infekčních stádií (Barrow, 1953). To vede k předpokladu, že metacyklické formy trypanosom se tvoří jen po úplném strávení potravy a v závislosti na chování pijavic před jejich dalším sáním (Barrow, 1953; Bardsley & Harmsen, 1973). Většina žabích trypanosom tvoří pouze jeden typ metacyklických forem v pijavicích, na rozdíl od *T. andersoni* a *T. pipientis* tvořících dva morfologické typy, u kterých však není známo, zda jsou oba infekční (Reilly & Woo, 1982a). Autoři však nezmiňují možnost směsné infekce, takže je možné, že tyto dvě morfologická stádia metacyklických forem náležejí odlišným druhům trypanosom.

Dělení u trypanosom nacházející se v pijavicích zahrnuje jak binární dělení, tak „vícenásobné dělení“. Nejčastěji však na začátku dochází k nerovnoměrnému binárnímu dělení následovanému vícenásobným. V důsledku toho je populace trypanosom značně morfologicky rozmanitá a obsahuje mimo jiné také stádia amastigotů a přechodných stádií (Diamond, 1958; cit. dle Bardsley & Harmsen, 1973).

Někteří autoři (Woo, 1969a; Reilly & Woo, 1982a) popisují výskyt žlutých granulí v zadní části buňky v blízkosti jádra v některých buňkách epimastigotů, sféromastigotů nebo přechodných stádií u *T. andersoni* a *T. canadensis*. K jejich zániku pak dochází při přeměně na metacyklická stádia. Martin & Desser (1991a) popisují zlatohnědou látku ve vakuolách trypanosom *T. fallisi* u pijavic *Desserobdella picta* a spekulují nad možností, že by to mohl být rezervozóm, který uskladňuje zásobní látky typu proteinů a lipidů pro budoucí využití. Tyto žluté granule byly také nalezeny ve stádiích některých jedinců *T. murmanensis* ve střevě pijavice *Johanssonia* sp. napadající mořské ryby. Autor zde předpokládá, že by to mohly být deriváty katabolické reakce hemoglobinu (Khan, 1976). Tato žlutá granula však nebyla nalezena pouze u trypanosom pijavic, ale také u netopýří trypanosomy *T. (Schizotrypanum) hedricki* vyvíjející se ve štěnici *Cimex brevis* (Bower & Woo, 1981).

## 4.2 Přenos prostřednictvím hematofágního hmyzu

I přesto, že jsou pijavice považovány za hlavního a možná nejdůležitějšího přenašeče trypanosom u obojživelníků, nejsou jedinou skupinou organismů, kteří mohou trypanosomy přenášet. U suchozemských druhů nebo u druhů, které žijí většinu svého života na souši (např. ropuchy) nebo na keřích či stromech (např. rosničky), je větší šance styku s hematofágním hmyzem jako vektorem trypanosom. Naproti tomu např. u zelených

skokanů, kteří se vyskytují především ve vodním prostředí, jsou hlavním vektorem pijavice (Ferreira *et al.*, 2008).

Podle experimentů se skokanem volským (*Lithobates catesbeianus*) jsou trypanosomy ovlivňovány teplotou v rámci denního cyklu. Při vyšších teplotách obratlovce (nad 26 °C) a jeho vyšší aktivitě mají paraziti tendenci migrovat z vnitřních orgánů (jater, srdce a ledvin) do periferní krve, a tím pravděpodobně zvýšit šanci na přenos do vektora. To autory vedlo k podezření, že vektor *T. rotatorium* vyskytující se v těchto skokanech nemusí být vodní, protože vyšší teploty získávají žáby hlavně na jaře vyhříváním se na slunci mimo vodní prostředí, kde se pijavice vyskytují minimálně a mají omezený kontakt s obojživelníky (Bardsley & Harmsen, 1969). Tento denní cyklus periferní infekce koreluje také se světlem. Ve tmě se paraziti ukrývají ve vnitřních orgánech a se světlem se dostávají do periferní krevní cirkulace, a to i při pokusech obrácené fotoperiody. Při udržování několika jedinců skokanů křiklavých (*Lithobates clamitans*<sup>10</sup>), na kterých byl výzkum proveden, v naprosté tmě, vykazovali skokani minimální infekci v periferní krvi po celou dobu pokusu (Southworth *et al.*, 1968).

Hmyz sající krev a přenášející trypanosomy je typickým vektorem pro savčí trypanosomy. Také nejznámější lidské patogenní trypanosomy působící závažná onemocnění, *T. cruzi* nebo *T. brucei* komplex, jsou přenášeny hmyzem. Hmyz přenáší trypanosomy také u ptáků (Votýpka *et al.*, 2002), u plazů (Minter-Goedbloed *et al.*, 1993) a jak již bylo řečeno, také u obojživelníků (Ramos & Urdaneta-Morales, 1977). Za možné vektory trypanosom jsou považováni především zástupci z řádu dvoukřídlí (Diptera), jako jsou některé druhy flebotomů (Phlebotominae), komárů (Culicidae) a dále pak rod *Corethrella*.

#### 4.2.1 Flebotomové jako přenašeči

Flebotomové (podčeleď Phlebotominae), patřící do řádu dvoukřídlí (Diptera) a čeledi koutulovití (Psychodidae), jsou známí vektorů přenášející na savce a také na plazy prvoky příbuzné trypanosomám, rod *Leishmania* (s.l.) a *Endotrypanum* (Arias *et al.*, 1985). Trypanosomy, které flebotomové také přenáší, jsou v případě obojživelníků známé pouze u ropuch. Příčinou může být noční aktivita u obou skupin a sdílení stejných nor a dalších prostor při denním odpočinku (Ferreira *et al.*, 2008). Flebotomové jako přenašeči

---

<sup>10</sup> Původně označovaný jako *Rana clamitans*

trypanosom u obojživelníků byli poprvé popsáni v roce 1940, a to u *T. bocagei* vyskytující se v ropuše čínské (*Bufo gargarizans*). Přenos byl zprostředkován druhem *Sergentomyia squamirostris*<sup>11</sup> (Feng & Chung, 1940; cit. dle Bernal & Pinto, 2016). V Americe druh flebotoma *Lutzomyia vexator* přenáší také u ropuch druh *T. bufophlebotomi*, který je morfologicky podobný již zmíněné *T. bocagei* (Anderson & Ayala, 1968). Trypanosomy byly také nalezeny v druhu *Phlebotomus kazeruni* v Pákistánu a fylogenetické studie ukazují, že z flebotoma izolovaný druh trypanosomy je příbuzný ostatním trypanosomám obojživelníků (Kato *et al.*, 2010).

Trypanosomy se nacházejí ve střevě samic flebotomů ve formě amastigotů, promastigotů, sféromastigotů a epimastigotů (Ayala, 1971; Ferreira *et al.*, 2008). Na rozdíl od pijavic, u většiny krevsajících hmyzu přenášejícího trypanosomy obojživelníků nebyly pozorovány metacyklické formy trypomastigotů, a za infekční formu se proto ve většině případů považují epimastigoti (Desser *et al.*, 1973; Ramos & Urdaneta-Morales, 1977). Bailey (1962) však popsal metacyklická stádia *T. rotatorium* u *Aedes aegypti*. Rozdíl v přítomnosti metacyklických stádií mezi pijavicemi a hmyzem může souviset s tím, že u hmyzu může dojít k infekci obratlovce nejen při sání, ale také pozřením bezobratlého vektora. Vývoj jednotlivých stádií trypanosom byl pozorován nejdříve ve střední části střeva flebotomů v mesenteronu s amastigotními stádií, které po 48 hodinách přecházely do promastigotních stádií. V pokročilejší fázi byla infekce patrná hlavně v zadní části střeva, v proktodeu (Anderson & Ayala, 1968; Ayala, 1971). Z flebotomů fosilizovaných v jantaru bylo zjištěno, že tento hmyz přenášel zástupce z řádu Trypanosomatida na obratlovce již před 100 miliony let, tudíž lze tento vzájemný vztah považovat za velmi starý (Poinar, 2007).

#### 4.2.2 Komáři jako přenašeči

Za potenciální přenašeče u suchozemských zástupců obojživelníků lze považovat i některé druhy komárů (Culicidae). Vývojová stádia *T. rotatorium* byla popsána při experimentálních studiích ve druzích *Culex territans*, *Culex pipiens* a *Aedes aegypti* (Bailey, 1962; Desser *et al.*, 1973; Ramos & Urdaneta-Morales, 1977). Zatímco samice *C. pipiens* a *A. aegypti* se živí primárně na teplokrevných obratlovcích a na žabách sají pouze příležitostně (Causey, 1939), samice *C. territans* dávají přednost obojživelníkům před plazy, ptáky a savci. Na žabách parazitují běžně, dokonce sají i na metamorfujících pulcích (Desser *et al.*, 1973), což

---

<sup>11</sup> Dříve označovaný jako *Phlebotomus squamirostris*

posiluje předpoklad, že mohou být přirozeným vektorem trypanosom (Crans, 1970). Ve střevě *C. territans*, *C. pipiens* a *A. aegypti* byl také při experimentálních infekcích pozorován i vývoj hlístice *Foleyella flexicauda*, a lze proto předpokládat, že ji společně s trypanosomami přenáší. (Causey, 1939; Benach & Crans, 1973).

Ve střevě *C. territans* byla pozorována tři morfologicky odlišná stádia trypanosomy *T. rotatorium*. Amastigotní stádium, které se dělilo v průběhu 72 hodin ve střední části střeva, sféromastigotní stádium, které se následně vyskytovalo v zadní části střeva společně s epimastigotním stádiem, které je považováno za infekční, jelikož metacyklická stádia nebyla pozorována (Desser *et al.*, 1973). Trypanosomy se nevyskytovaly ani ve slinných žlázách komárů, ani v malpighických trubcích (Bailey, 1962; Ramos & Urdaneta-Morales, 1977). To vede k úvaze, že se žáby infikují trypanosomami z hmyzu (komárů i flebotomů) tak, že vektora pozrou, narozdíl od nákazy prostřednictvím pijavic, kde dochází k přenosu metacyklických stádií trypanosom z přední části trávicí trubice prostřednictvím slin při sání (Ramos & Urdaneta-Morales, 1977).

#### 4.2.3 Rod *Corethrella* jako přenašeč

Rod *Corethrella* patří do samostatné čeledi Corethrellidae (případně do čeledi Chaoboridae). Tito zástupci jsou specializovaní na sání krve hlavně u žab. Jako všechny samice nematocerního krevsajícího hmyzu potřebují krev pro vývoj vajíček. Zatímco ostatní krevsající hmyz je přitahován především prostřednictvím CO<sub>2</sub>, který obratlovci uvolňují během dýchání, samice rodu *Corethrella* vyhledávají své hostitele na základě hlasových projevů, a jsou tak lákány vokalizací samců žab v období rozmnožování (Bernal *et al.*, 2006; Borkent, 2008). Ve střevě *C. wirthi* byla nalezena stádia nepopsaného druhu trypanosomy, která byla přenášena na rosničky bělopruhé (*Dryophytes cinereus*<sup>12</sup>) na Floridě (Johnson *et al.*, 1993). Přítomnost trypanosom byla pozorována dominantně u samců žab (Johnson *et al.*, 1993) a pouze u velmi malého procenta samic (Bernal & Pinto, 2016), což souvisí se způsobem vyhledávání hostitele – tedy vokalizujícího samce (Bernal *et al.*, 2006). To, že mohou být nakažené i některé samice, je způsobeno tím, že samice se samcem při páření vytvářejí tzv. amplexus a sající hmyz přítomen na samci žáby (který sice už nevokalizuje, ale v jeho přítomnosti se mohou vyskytovat jedinci hmyzu) se dostane i do blízkosti samice (Bernal & Pinto, 2016). Trypanosomy u samců rosničky bělopruhé (*Dryophytes cinereus*)

---

<sup>12</sup> Dříve označovaná jako *Hyla cinerea*

byly přítomny ve velkém počtu v periferní krvi pouze v noci (Johnson *et al.*, 1993), což naznačuje koordinaci mezi výskytem trypanosom v krvi žab a chováním jejich vektora, protože *C. wirthi* saje pouze v noci (Borkent, 2008).

Trypanosomy různých vývojových stádií byly u vektorů pozorovány hlavně ve střední a zadní části střeva. Ve slinných žlázách se paraziti nevyskytovali (Johnson *et al.*, 1993). Není však jisté, jak se trypanosomy přenášejí z hmyzu na obratlovce. U jiných druhů hmyzu je pozorován přenos přes slinné žlázy prostřednictvím defekace hmyzu, anebo pozřením jedince přímo obratlovčím hostitelem. (Borkent, 2008).

Druhy *Corethrella* se vyskytují hlavně v tropických a subtropických oblastech (Borkent, 2008). Podle Bernala *et al.* (2006) a Bernala & Pinty (2016) je *Corethrella* spp. pravděpodobným vektorem trypanosom *T. tungarae* u hvízdalky pěnodějně (*Engystomops pustulosus*), ve kterých byly trypanosomy nalezeny (Bernal & Pinto, 2016). Avšak ne všechny druhy rodu *Corethrella* trypanosomy přenáší. Například samice *C. brakeleyi* nebyla infikována i přesto, že sála krev infikované žáby (Johnson *et al.*, 1993).

## 5 Prevalence trypanosom u obojživelníků

Prevalence v epidemiologii udává procentuální množství nakažených jedinců. V tomto případě počet jedinců obojživelníků, u kterých byla detekována trypanosoma, ku počtu všech zkoumaných jedinců v rámci populace. Rozdíl v prevalenci u různých studií je značně veliký. Liší se zhruba od 2% prevalence zaznamenané u *T. bisalpurensis* v ropuše jihoasijské (*Duttaphrynus melanostictus*<sup>13</sup>) v Indii (Gupta *et al.*, 2012) až po zhruba 74% prevalenci u *T. fallisi* v ropuše americké (*Anaxyrus americanus*) v Kanadě (Martin & Dessler, 1990). Několik autorů pozorovalo vyšší prevalenci u druhů žab vyskytujících se převážně ve vodním prostředí (u skokanů), než u ropuch, mloků a pozemních či stromových žab, které do blízkosti vody přicházejí jen zřídka. Tento jev může naznačovat roli vodních pijavic jako hlavních vektorů těchto trypanosom (Barta & Dessler, 1984b; Žičkus, 2002). Zvýšený výskyt trypanosom v krvi obojživelníků byl zaznamenán také v souvislosti s rostoucím věkem obratlovčího jedince (*Lithobates clamitans*, *Lithobates catesbeianus*), což naznačuje delší expozici vodnímu prostředí, vodním vektorům, a tím pádem i parazitům (Barta & Dessler, 1984b).

---

<sup>13</sup> Původně označovaná jako *Bufo melanostictus*

Nicméně není zcela jasné, proč existují v některých případech tak velké rozdíly v prevalenci mezi různými populacemi stejného hostitelského druhu. Příčinou, kterou autoři ve svých článcích nezmiňují, může být v některých případech malé množství trypanosom v krvi, které může mít za následek nesprávnou detekci, a tím i označení pozitivního vzorku za negativní. Menší množství parazitů v krvi může být mimo jiné způsobeno poškozením buněk chemickým znečištěním (Silva, *et al.*, 2005). Čistota prostředí je jeden z příkladů, který může ovlivňovat prevalenci některých druhů. Větší znečištění může mít obecně za následek úbytek parazitárních infekcí (Mackenzie, 1999). S čistotou prostředí může ale také souviset hustota vyskytujících se vektorů v dané lokalitě (Žičkus, 2002; Leal *et al.*, 2009). Woo (1983) spekuloval, že rozdíl může být částečně způsoben také používanými technikami pro detekci trypanosom v krvi. Toto potvrdili i Woo & Bogart (1984), kteří zkoumali několik let prevalenci *Trypanosoma* spp. u několika druhů rosníček. Jejich prevalence byla víceméně podobná se studií Reillyho & Woo (1982b) u stejných druhů žab, při které byla použita stejná technika pro detekci trypanosom.

## 6 Patogenita trypanosom obojživelníků

Paraziti stejně jako predátoři mohou způsobit svému hostiteli i smrt. Nicméně ve většině případů mají na svého hostitele méně letální účinky. Mohou ho ale ovlivňovat v několika dalších faktorech. Mají vliv například na růst jedince, na snížení reprodukční aktivity, na změnu chování hostitele aj. (Minchella & Scott, 1991). Obojživelníci jsou jedni z nejohroženějších obratlovců na světě a různá infekční onemocnění jsou jedním z faktorů vyvolávající dramatický pokles populace i vymírání druhů (Hoffmann *et al.*, 2010). Nejznámějším příkladem je chytridiomykóza způsobená patogenem *Batrachochytrium dendrobatidis*. Toto globálně rozšířené infekční houbové onemocnění má na svědomí masové vymírání obojživelníků po celém světě (Berger *et al.*, 2016).

Uvádí se, že trypanosomy obojživelníků jsou v drtivé většině případů pro své obratlovčí hostitele nepatogenní. I přes to, že je tato problematika tak málo zkoumána, existují i výjimky. Za patogenní se v jistých případech považuje *T. inopinatum* (Bardsley & Harmsen, 1973). Brumpt (1906; cit. dle Bardsley & Harmsen, 1973) uvádí, že alžírský kmen *T. inopinatum*, který není patogenní pro skokana zeleného (*Pelophylax esculentus*) v Alžírsku, je patogenní a smrtelný pro evropské druhy skokanů, skokana zeleného (*Pelophylax esculentus*) a skokana hnědého (*Rana temporaria*), ať již po inokulaci infekční

krve nebo po sání nakažených pijavic. Po pitvě skokanů byly nalezené trypanosomy v srdci. Akutní fáze *T. inopinatum*, která je téměř vždy fatální, souvisí s intenzivním a neustálým množением mladých krevních forem parazita (Buttner & Bourcart, 1955). Zdá se ale, že za přirozených podmínek není tato trypanosoma příliš patogenní. Podobný případ je u trypanosom ze skokanů východoamerických (*Lithobates sphenoccephalus*<sup>14</sup>) z Floridy, které jsou smrtelné pro skokany levhartí (*Lithobates pipiens*) z Minnesoty (Bardsley & Harmsen, 1973). Oproti tomu např. u *T. rotatorium* není znám žádný patologický účinek u skokanů, ve kterých se tyto trypanosomy přirozeně vyskytují. Avšak jedna studie ukazuje letální účinky této trypanosomy u laboratorních bílých myší, do kterých byla infekční stádia trypanosom inokulována. Myším při zvýšeném počtu parazitů v krvi se mimo jiné snižovala chuť k jídlu a ztráceli na váze. Umírali následně po 2 až 5 dnech od nakažení (Hýsek & Žižka, 1976).

U velemloků amerických (*Cryptobranchus alleganiensis alleganiensis*) nakažených trypanosomami, které přenáší pijavice, bylo zjištěno, že vykazovali rozdíl v koncentracích leukocytů a plazmatických proteinů v krvi, který byl způsoben jejich imunitní odpovědí na nákazu. Je sice zřejmé, že endoparaziti či ektoparaziti ovlivňují fyziologické odezvy svých hostitelů, ale není jasné, zda ovlivňují i jejich fitness (Hopkins *et al.*, 2016).

## 7 Závěr

Cílem mé bakalářské práce bylo shrnout dosavadní znalosti o diverzitě a výskytu trypanosom obojživelníků. Tyto trypanosomy se běžně vyskytují jak v našich obojživelnících, tak i v zástupcích obývajících tropické a subtropické oblasti. Navíc trypanosomy obojživelníků vykazují vysokou druhovou diverzitu. Dosavadní studie potvrzují výskyt trypanosom na všech kontinentech, na kterých se obojživelníci vyskytují. Avšak v Evropě bylo provedeno jen velmi omezené množství výzkumů zabývajících se tímto tématem.

Většina prací, které se zaměřují na tyto trypanosomy, je staršího data a používají jako hlavní determinační znak druhů pouze morfologii. Morfologická diverzita trypanosom je ale vysoce proměnlivá a některé druhy nebo stádia mohou vykazovat i tvary, které nejsou podobné typickému tvaru trypanosom, známému např. u savčích zástupců. Věrohodné

---

<sup>14</sup> Dříve označovaný jako *Rana sphenoccephala*

a spolehlivé jsou molekulární studie, které vyjasňují několik nejasností ohledně příbuznosti nebo neúmyslné záměně druhů či nesprávného pojmenování. Vzhledem k malému počtu těchto důvěryhodných dat je však dříve uváděná nízká hostitelská specifita trypanosom značně diskutabilní.

Přenašečů, které trypanosomy obojživelníků využívají, je díky obojživelnému způsobu života těchto obratlovců hned několik skupin. Vektoři zastupují jak suchozemské, tak vodní zástupce bezobratlých živočichů. Za hlavní a nejdůležitější přenašeče se považují pijavice, které trypanosomy přenášejí hlavně u vodních druhů žab, ale i u suchozemských druhů, a to zejména v období rozmnožování, kdy se dospělci stahují na vodní stanoviště. Terestrickými vektory jsou různé druhy krevsajícího hmyzu: flebotomové, komáři či rod *Corethrella*, jehož zástupci jsou lákáni vokalizací samců při vábení samic v době rozmnožování.

Prevalence trypanosom u různých druhů značně kolísá a uvádí se, že trypanosomy obojživelníků jsou pro své hostitele ve větší míře nepatogenní.

Vzhledem k řadě nejasnostem, které skrývají tyto bičíkovci, bych se chtěla tomuto tématu věnovat i v rámci navazující diplomové práce.

Tabulka 1: Přehled trypanosom obojživelníků (\* druhy popsány na základě molekulárních dat; šedě podbarvené buňky značí hostitele ze skupiny ocasatých obojživelníků)

jméno	rok popisu	hostitel	lokality	přenašeč	citace
<i>T. ambystomae</i>	1954	<i>Ambystoma spp.</i> , <i>Taricha granulosa</i>	USA, Kanada	<i>Erpobdella</i> sp.	Lehmann, 1954; Podlipaev, 1990
<i>T. andersoni</i>	1982	<i>Dryophytes versicolor</i> , <i>Pseudacris crucifer</i>	Kanada	<i>Desserobdella picta</i>	Reilly & Woo, 1982b
<i>T. arcei</i>	1927	<i>Leptodactylus bolivianus</i>	Brazílie		Podlipaev, 1990
<i>T. aurorae</i>		<i>Rana aurora</i>			Podlipaev, 1990
<i>T. barbari</i>	1952	<i>Taricha torosa</i>	USA	<i>Actinobdella</i> sp.	Lehmann, 1952
<i>T. belli</i>	1907	<i>Rana temporaria</i>	Čína		Žičkus, 2002
<i>T. bisalpurensis</i>	2012	<i>Duttaphrynus melanostictus</i>	Indie		Gupta <i>et al.</i> , 2012
<i>T. boccegei</i>	1911	<i>Bufo gargarizans</i> , <i>Bufo melanostictus</i> , <i>Bufo regularis</i> , <i>Sclerophrys mauritanica</i>	Čína, Afrika	<i>Sergentomyia squamirostris</i>	Bardsley & Harmsen, 1973; Podlipaev, 1990
<i>T. borelli</i>	1907	<i>Scinax ruber</i> , <i>Hoplobatrachus tigerinus</i>	Brazílie		Bardsley & Harmsen, 1973; Podlipaev, 1990
<i>T. boylii</i>	1959	<i>Rana boylei</i>	USA		Lehmann, 1959a
<i>T. bufophlebotomi</i>	1970	<i>Anaxyrus boreas</i> , <i>Anaxyrus americanus</i>	USA	<i>Lutzomyia vexator</i>	Ayala, 1970
<i>T. canadensis</i>	1969	<i>Rana pipiens</i> , <i>Lithobates pipiens</i>	Kanada	<i>Placobdella</i> sp.	Woo, 1969b; Podlipaev, 1990
<i>T. celestinoi</i>	1936	<i>Leptodactylus bolivianus</i>	Severní Amerika		Bardsley & Harmsen, 1973
<i>T. clamatae</i>	1907	<i>Lithobates clamitans</i>	USA		Stebbins, 1907
<i>T. clelandi</i>	1916	<i>Platyplectrum ornatum</i> , <i>Limnodynastes tasmaniensis</i> , <i>Platyplectrum ornatum</i>	Austrálie		Mackerras & Mackerras, 1960; Podlipaev, 1990
<i>T. costatum</i>	1906	<i>Pelophylax esculentus</i>	Evropa	<i>Batrachobdella algira</i>	Žičkus, 2002
<i>T. cryptobranchi</i>	1937	<i>Cryptobranchus alleghaniensis</i>	USA		Roudabush & Coatney, 1937
<i>T. diamondi</i>	1969	<i>Lithobates pipiens</i>	Severní Amerika		Reilly & Woo, 1982b
<i>T. diemyctyli</i>	1906	<i>Notophthalmus viridescens</i>	východ USA	<i>Desserobdella picta</i>	Barrow, 1953
<i>T. elegans</i>	1906	<i>Pelophylax esculentus</i> , <i>Hylarana guentheri</i> , <i>Fejervarya limnocharis</i>	Evropa, Vietnam		Podlipaev, 1990; Žičkus, 2002
<i>T. fallisi*</i>	1990	<i>Anaxyrus americanus</i>	Kanada	<i>Desserobdella picta</i>	Martin & Desser, 1990; Martin <i>et al.</i> , 2002
<i>T. galba</i>	1968	<i>Lithobates montezumae</i> , <i>Lithobates pustulosus</i> , <i>Rana palmieres</i>	Mexiko	<i>Culex quinquefasciatus</i>	Ramos & Urdaneta- Morales, 1977; Podlipaev, 1990
<i>T. gaumontis</i>	1942	<i>Anaxyrus americanus</i> , <i>Lithobates pipiens</i>	Kanada		Fantham <i>et al.</i> , 1942; Woo, 1969b
<i>T. grandis</i>	1969	<i>Lithobates pipiens</i>	Mexiko		Bardsley & Harmsen, 1973

jméno	rok popisu	hostitel	lokalita	přenašeč	citace
<i>T. granulosae</i>	1959	<i>Taricha granulosa</i>	USA	<i>Actinobdella</i> sp.	Lehmann, 1959b
<i>T. grylli</i>	1945	<i>Dryophytes versicolor</i> , <i>Acris gryllus</i>	Kanada	<i>Desserobdella picta</i>	Reilly & Woo, 1982b
<i>T. helsprutiense</i>		<i>Amietia angolensis</i>			Podlipaev, 1990
<i>T. hendersoni</i>		<i>Euphlyctis hexadactylus</i> , <i>Hoplobatrachus tigerinus</i>			Podlipaev, 1990
<i>T. herthameyeri*</i>	2016	<i>Leptodactylus chaquensis</i> , <i>Leptodactylus latrans</i> , <i>Leptodactylus fuscus</i>	Brazílie		Attias <i>et al.</i> , 2016
<i>T. hosei</i>	1991	<i>Odorrana hosii</i>	Malajsie		Miyata & Yong, 1991
<i>T. hylae</i>	1908	<i>Hyla arborea</i>	Evropa		Žičkus, 2002
<i>T. chattoni*</i>	1911	<i>Leptodactylus fuscus</i> , <i>Lithobates pipiens</i> , <i>Lithobates pipiens</i> , <i>Bufo gargarizans</i> , <i>Lithobates vaillanti</i> , <i>Eleutherodactylus fitzingeri</i> , <i>Duttaphrynus melanostictus</i> , <i>Babina holsti</i> , <i>Odorrana narina</i>	Brazílie, Kanada, USA, Čína, Kostarika		Jones & Woo, 1987; Podlipaev, 1990; Werner & Kirwin, 1993; Desser, 2001; Martin <i>et al.</i> , 2002; Lemos <i>et al.</i> , 2008
<i>T. ibragimovi</i>	1988	<i>Pelophylax ridibundus</i>	Ázerbájdžán		Žičkus, 2002
<i>T. inopinatum</i>	1904	<i>Pelophylax esculentus</i> , <i>Lithobates catesbeianus</i> , <i>Lithobates pipiens</i> , <i>Discoglossus pictus</i> , <i>Rana temporaria</i>	Evropa, Kanada	<i>Batrachobdella algira</i>	Fantham <i>et al.</i> , 1942; Podlipaev, 1990; Žičkus, 2002
<i>T. ishigakiense</i>	1978	<i>Fejervarya limnocharis</i>	Japonsko		Gupta <i>et al.</i> , 2012
<i>T. karyozeukton</i>	1903	<i>Sclerophrys regularis</i> , <i>Acris gryllus</i>	Afrika, Indie		Podlipaev, 1990; Gupta <i>et al.</i> , 2012
<i>T. lavalia</i>	1942	<i>Anaxyrus americanus</i>	Kanada		Fantham <i>et al.</i> , 1942
<i>T. leptodactyli</i>	1910	<i>Leptodactylus bolivianus</i>	Brazílie	<i>Placobdella brasiliensis</i>	Reilly & Woo, 1982b
<i>T. loricaum*</i>	1843	<i>Pelophylax ridibundus</i> , <i>Pelophylax esculentus</i> , <i>Lithobates vaillanti</i> , <i>Pelophylax nigromaculatus</i> , <i>Hylarana galamensis</i> , <i>Babina holsti</i> , <i>Ptychadena mascareniensis</i> , <i>Odorrana narina</i> , <i>Lithobates pipiens</i>	Ukrajina, Česká republika, Kostarika, Čína		Podlipaev, 1990; Werner & Kirwin, 1993; Desser, 2001; Spodareva <i>et al.</i> , 2018
<i>T. malabarika</i>	1983	<i>Hylarana malabarica</i>	Indie		Gupta <i>et al.</i> , 2012
<i>T. mega*</i>	1997	<i>Bufo viridis</i> , <i>Sclerophrys regularis</i> , <i>Tomopterna tuberculosa</i> , <i>Rana venulosa</i>	Egypt, Kongo		Podlipaev, 1990; Martin <i>et al.</i> , 2002; Ferreira <i>et al.</i> , 2008; Gupta <i>et al.</i> , 2012
<i>T. microhylis</i>	1995	<i>Microhyla ornata</i>	Indie		Gupta <i>et al.</i> , 2012
<i>T. mikailovi</i>	1989	<i>Pelophylax ridibundus</i>	Ázerbájdžán		Žičkus, 2002

jméno	rok popisu	hostitel	lokalita	přenašeč	citace
<i>T. miyagii</i>	1978	<i>Limnonectes namiyei</i> , <i>Odorrana narina</i> , <i>Babina holsti</i> , <i>Rana namigei</i> , <i>Odorrana narina</i>	Japonsko		Podlipaev, 1990; Gupta <i>et al.</i> , 2012
<i>T. montezumae</i>	1960	<i>Lithobates montezumae</i> , <i>Lithobates pustulosus</i> , <i>Rana palmieres</i>	Mexiko		Reilly & Woo, 1982d; Podlipaev, 1990
<i>T. montrealis</i>	1942	<i>Anaxyrus americanus</i>	Kanada		Fantham <i>et al.</i> , 1942
<i>T. nagasakiensis</i>	1978	<i>Dryophytes japonicus</i>	Japonsko		Gupta <i>et al.</i> , 2012
<i>T. nelspruitense</i>	1904	<i>Amietia angolensis</i> , <i>Lithobates taylori</i>	Afrika		Podlipaev, 1990
<i>T. neveulemairei*</i>	1928	<i>Pelophylax esculentus</i> , <i>Pelophylax ridibundus</i>	Ázerbájdžán, Evropa (Jugoslávie)	<i>Hemiclepsis marginata</i>	Martin <i>et al.</i> , 2002; Ferreira <i>et al.</i> , 2008; Guseinov, 2011
<i>T. nigrelli</i>		<i>Necturus maculosus</i>			Podlipaev, 1990
<i>T. ocellati</i>		<i>Leptodactylus bolivianus</i>			Podlipaev, 1990
<i>T. ogawai</i>	1977	<i>Cynops pyrrhogaster</i> , <i>Ambystoma maculatum</i> , <i>Amystoma laterale</i> , <i>Ambystoma jeffersonianum</i>	Japonsko, Kanada		Woo & Bogart, 1986; Miyata, 1977; Podlipaev, 1990
<i>T. parroti</i>	1923	<i>Discoglossus pictus</i>	Alžírsko		Reilly & Woo, 1982b
<i>T. parvum</i>	1922	<i>Lithobates clamitans</i>	USA		Kudo, 1922
<i>T. pipientis</i>	1950	<i>Lithobates pipiens</i> , <i>Lithobates septentrionalis</i> , <i>Lithobates sylvaticus</i>	USA, Kanada	<i>Placobdella phalera</i>	Barta & Desser, 1984b; Podlipaev, 1990
<i>T. pseudomiyagii</i>	1989	<i>Pelophylax ridibundus</i>	Irák		Molan <i>et al.</i> , 1989
<i>T. pseudopodium</i>	1976	<i>Anaxyrus americanus</i>	USA		Werner & Walewski, 1976
<i>T. ranarum*</i>	1871	<i>Dryophytes versicolor</i> , <i>Anaxyrus americanus</i> , <i>Lithobates sylvaticus</i> , <i>Lithobates catesbeianus</i> , <i>Lithobates clamitans</i> , <i>Duttaphrynus stomaticus</i> , <i>Lithobates pipiens</i> , <i>Pelophylax esculentus</i> , <i>Lithobates septentrionalis</i> , <i>Lithobates sylvaticus</i>	Kanada, Indie, Brazílie, Evropa		Barta & Desser, 1984b; Woo & Bogart, 1984; Podlipaev, 1990; Martin & Desser, 1991b; Martin <i>et al.</i> , 1992; Martin <i>et al.</i> , 2002; Ferreira <i>et al.</i> , 2008; Gupta <i>et al.</i> , 2012
<i>T. rifae</i>	1986	<i>Sclerophrys regularis</i>	Egypt		Molan <i>et al.</i> , 1989
<i>T. rotatorium*</i>	1843	<i>Lithobates clamitans</i> , <i>Leptodactylus insularum</i> , <i>Lithobates pipiens</i> , <i>Lithobates clamitans</i> , <i>Duttaphrynus stomaticus</i> , <i>Rana temporaria</i> , <i>Bufo bufo</i> , <i>Pelophylax esculentus</i> atd.	Kanada, Venezuela, USA, Kanada, Indie, Litva	<i>Culex territans</i> , <i>Culex pipiens</i> , <i>Aedes aegypti</i> , <i>Desserobdella picta</i> atd.	Bailey, 1962; Desser <i>et al.</i> , 1973; Desser, 1976; Ramos & Urdaneta- Morales, 1977; Žičkus, 2002; Gupta <i>et al.</i> , 2012

jméno	rok popisu	hostitel	lokalita	přenašeč	citace
<i>T. rugosae</i>	1978	<i>Glandirana rugosa</i>	Japonsko		Gupta <i>et al.</i> , 2012
<i>T. sanguinis</i>		<i>Bufo viridis</i> , <i>Bufo vulgaris</i> , <i>Hyla arborea</i> , <i>Pelophylax esculentus</i> , <i>Rana temporaria</i> , <i>Ptychadena trinodis</i>			Podlipaev, 1990
<i>T. sergenti</i>	1923	<i>Discoglossus pictus</i>	Alžírsko		Reilly & Woo, 1982b
<i>T. schmidti</i>	1965	<i>Lithobates sphenoccephalus</i> , <i>Anaxyrus americanus</i> , <i>Ptychadena stenocephala</i>	USA		Woo, 1969b; Podlipaev, 1990
<i>T. somalense</i>	1906	<i>Sclerophrys regularis</i>	Súdán		Bardsley & Harmsen, 1973
<i>T. striatum</i>		<i>Pelophylax esculentus</i>			Podlipaev, 1990
<i>T. systoma</i>	1983	<i>Uperodon systoma</i>	Indie		Gupta <i>et al.</i> , 2012
<i>T. taprobanica</i>	1984	<i>Kaloula taprobanica</i>	Indie		Gupta <i>et al.</i> , 2012
<i>T. tritonis</i>	1913	<i>Cynops pyrrhogaster</i>	Japonsko		Lehmann, 1954
<i>T. tsukamotoi</i>	1978	<i>Limnonectes namiyei</i>	Japonsko		Gupta <i>et al.</i> , 2012
<i>T. tsunedomiyatai</i>	1978	<i>Glandirana rugosa</i> , <i>Fejervarya limnocharis</i>	Japonsko		Gupta <i>et al.</i> , 2012
<i>T. tumida</i>	1916	<i>Amietia nutti</i>	Afrika		Reilly & Woo, 1982b
<i>T. tungarae*</i>	2016	<i>Engystomops pustulosus</i>	Panama	<i>Corethrella</i> spp.	Bernal & Pinto, 2016
<i>T. undulans</i>		<i>Pelophylax esculentus</i>			Podlipaev, 1990

## 8 Seznam literatury

- Anderson, J. R., & Ayala, S. C. (1968). Trypanosome transmitted by *Phlebotomus*: First report from the Americas. *Science*, *161*, 1023–1025.
- Arias, J. R., Miles, M. A., Naiff, R. D., Povoá, M. M., de Freitas, R. A., Biancardi, C. B., & Castellon, E. G. (1985). Flagellate infections of Brazilian sand flies (Diptera: Psychodidae): Isolation in vitro and biochemical identification of *Endotrypanum* and *Leishmania*. *The American Journal of Tropical Medicine and Hygiene*, *34*, 1098–1108.
- Attias, M., Sato, L. H., Ferreira, R. C., Takata, C. S. A., Campaner, M., Camargo, E. P., Teixeira, M. M. G., de Souza, W. (2016). Developmental and ultrastructural characterization and phylogenetic analysis of *Trypanosoma herthameyeri* n. sp. of Brazilian Leptodactilydae frogs. *The Journal of Eukaryotic Microbiology*, *63*, 610–622.
- Ayala, S. C. (1970). Two new trypanosomes from California toads and lizards. *The Journal of Protozoology*, *17*, 370–373.
- Ayala, S. C. (1971). Trypanosomes in wild California sandflies, and extrinsic stages of *Trypanosoma bufophlebotomi*. *The Journal of Protozoology*, *18*, 433–436.
- Bailey, J. K. (1962). *Aedes aegypti* as a possible new invertebrate host for frog trypanosomes. *Experimental Parasitology*, *12*, 155–163.
- Bardsley, J. E., & Harmsen, R. (1969). The trypanosomes of Ranidae. I. The effects of temperature and diurnal periodicity on the peripheral parasitaemia in the bullfrog (*Rana catesbeiana* Shaw). *Canadian Journal of Zoology*, *47*, 283–288.
- Bardsley, J. E., & Harmsen, R. (1973). The trypanosomes of anura. *Advances in Parasitology*, *11*, 1–73.
- Barrow, J. H. (1953). The biology of *Trypanosoma diemyctyli* (Tobey). I. *Trypanosoma diemyctyli* in the leech, *Batrachobdella picta* (Verrill). *Transactions of the American Microscopical Society*, *72*, 197–216.
- Barta, J. R., & Desser, S. S. (1984a). An intraerythrocytic virus and rickettsia of frogs from Algonquin Park, Ontario. *Canadian Journal of Zoology*, 1521–1524.
- Barta, J. R., & Desser, S. S. (1984b). Blood parasites of amphibians from Algonquin Park, Ontario. *Journal of Wildlife Diseases*, *20*, 180–189.
- Barta, J. R., & Desser, S. S. (1986). Light and electron microscopic observations on the intraerythrocytic development of *Babesiosoma stableri* (Apicomplexa, Dactylosomatidae) in frogs from Algonquin Park, Ontario. *The Journal of Protozoology*, *33*, 359–368.
- Becker, D., & Katz, M. (1965). Infections of the hemoflagellate, *Cryptobia salmositica* Katz, 1951, in freshwater teleosts of the Pacific coast. *Transactions of the American Fisheries Society*, *94*, 327–333.
- Benach, J. L., & Crans, W. J. (1973). Larval development and transmission of *Foleyella flexicauda* Schacher and Crans, 1973 (Nematoda: Filarioidea) in *Culex territans*. *The Journal of Parasitology*, *59*, 797–800.
- Berger, L., Roberts, A. A., Voyles, J., Longcore, J. E., Murray, K. A., & Skerratt, L. F.

- (2016). History and recent progress on chytridiomycosis in amphibians. *Fungal Ecology*, 19, 89–99.
- Bernal, X. E., & Pinto, C. M.** (2016). Sexual differences in prevalence of a new species of trypanosome infecting túngara frogs. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 5, 40–47.
- Bernal, X. E., Rand, A. S., & Ryan, M. J.** (2006). Acoustic preferences and localization performance of blood-sucking flies (*Corethrella* Coquillett) to túngara frog calls. *Behavioral Ecology*, 17, 709–715.
- Borkent, A.** (2008). The frog-biting midges of the world (corethrellidae: Diptera). *Zootaxa*, 1804, 1–456.
- Bower, S. M., & Woo, P. T. K.** (1981). Development of *Trypanosoma* (*Schizotrypanum*) *hedricki* in *Cimex brevis* (Hemiptera: Cimicidae). *Canadian Journal of Zoology*, 59, 546–554.
- Burreson, E. M.** (1982). The life cycle of *Trypanoplasma bullocki* (Zoomastigophorea: Kinetoplastida). *The Journal of Protozoology*, 29, 72–77.
- Buttner, A., & Bourcart, N.** (1955). Sur certaines particularités biologiques d'un trypanosome de la grenouille verte *Trypanosoma inopinatum* Sergent, 1904. *Annales de Parasitologie Humaine et Comparée*, 30, 431–445.
- Causey, O. R.** (1939). *Aedes* and *Culex* mosquitoes as intermediate hosts of frog filaria, *Foleyella* sp. *American Journal of Epidemiology*, 29, 79–81.
- Costa, S. C. G. da, Pessoa, S. B., Pereira, N. de M., & Colombo, T.** (1973). The life history of *Hepatozoon leptodactyli* (Lesage, 1908) Pessoa, 1970: a parasite of the common laboratory animal: the frog of the genus *Leptodactylus*. *Memórias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 71, 1–8.
- Cranney, J. S., & Heckmann, R. A.** (1996). *Trypanoplasma atraria* sp. n. (Kinetoplastida: Bodonidae) in fishes from the Sevier River drainage, Utah. *The Great Basin Naturalist*, 56, 142–149.
- Crans, W. J.** (1970). The blood feeding habits of *Culex territans* Walker. *Mosquito News*, 30, 445–447.
- Desser, S. S.** (1976). The ultrastructure of the epimastigote stages of *Trypanosoma rotatorium* in the leech *Batrachobdella picta*. *Canadian Journal of Zoology*, 54, 1712–1723.
- Desser, S. S.** (2001). The blood parasites of anurans from Costa Rica with reflections on the taxonomy of their trypanosomes. *The Journal of Parasitology*, 87, 152–160.
- Desser, S. S., Hong, H., & Martin, D. S.** (1995). The life history, ultrastructure, and experimental transmission of *Hepatozoon catesbiana* n. comb., an Apicomplexan parasite of the bullfrog, *Rana catesbeiana* and the mosquito, *Culex territans* in Algonquin Park, Ontario. *The Journal of Parasitology*, 81, 212–222.
- Desser, S. S., McIver, S. B., & Ryckman, A.** (1973). *Culex territans* as a potential vector of *Trypanosoma rotatorium*. I. Development of the flagellate in the mosquito. *The Journal of Parasitology*, 59, 353–358.

- Fantham, H. B., Porter, A., Richardson, L. R., Porter, A., & Richardson, L. R.** (1942). Some Haematozoa observed in vertebrates in eastern Canada. *Parasitology*, *34*, 199–226.
- Ferreira, R. C., Campaner, M., Viola, L. B., Takata, C. S. A., Takeda, G. F., & Teixeira, M. M. G.** (2007). Morphological and molecular diversity and phylogenetic relationships among anuran trypanosomes from the Amazonia, Atlantic Forest and Pantanal biomes in Brazil. *Parasitology*, *134*, 1623–1638.
- Ferreira, R. C., De Souza, A. A., Freitas, R. A., Campaner, M., Takata, C. S. A., Barrett, T. V., Shaw, J. J., Teixeira, M. M. G.** (2008). A phylogenetic lineage of closely related trypanosomes (Trypanosomatidae, Kinetoplastida) of anurans and sand flies (Psychodidae, Diptera) sharing the same ecotopes in Brazilian Amazonia. *Journal of Eukaryotic Microbiology*, *55*, 427–435.
- Govedich, F. R., Moser, W. E., & Davies, R. W.** (2004). Annelida: Clitellata, Hirudinea, Euhirudinea. In: *Freshwater Invertebrates of the Malaysian Region* (1 ed., pp. 175–190). Kuala Lumpur Malaysia: Academy of Sciences Malaysia.
- Greenblatt, R. J., Work, T. M., Balazs, G. H., Sutton, C. A., Casey, R. N., & Casey, J. W.** (2004). The *Ozobranchus* leech is a candidate mechanical vector for the fibropapilloma-associated turtle herpesvirus found latently infecting skin tumors on Hawaiian green turtles (*Chelonia mydas*). *Virology*, *321*, 101–110.
- Gruia-Gray, J., & Desser, S. S.** (1992). Cytopathological observations and epizootiology of frog erythrocytic virus in bullfrogs (*Rana Catesbeiana*). *Journal of Wildlife Diseases*, *28*, 34–41.
- Gupta, D. K., Gupta, N., & Gangwar, R.** (2012). Infectivity of *Bufo melanostictus* (Amphibia: Bufonidae) to two new species of haematozoan parasites from Rohilkhand, India. *Proceedings of the Zoological Society*, *65*, 22–32.
- Guseinov, M. A.** (2011). A study of the life cycle of *Trypanosoma neveulemaire*, a blood parasite of the marsh frog *Pelophylax ridibundus*, in the organism of the leech *Hemiclepsis marginata*. *Boletim Da Universidade Nacional de Kharkiv*, *14*, 103–111.
- Hamilton, P. B., Stevens, J. R., Gidley, J., Holz, P., & Gibson, W. C.** (2005). A new lineage of trypanosomes from Australian vertebrates and terrestrial bloodsucking leeches (Haemadipsidae). *International Journal for Parasitology*, *35*, 431–443.
- Hayes, P. M., Lawton, S. P., Smit, N. J., Gibson, W. C., & Davies, A. J.** (2014). Morphological and molecular characterization of a marine fish trypanosome from South Africa, including its development in a leech vector. *Parasites and Vectors*, *7*:50.
- Hoffmann, M. et al.** (2010). The impact of conservation on the status of the world's vertebrates. *Science*, *330*, 1503–1509.
- Hopkins, W. A., Fallon, J. A., Beck, M. L., Coe, B. H., & Jachowski, C. M. B.** (2016). Haematological and immunological characteristics of eastern hellbenders (*Cryptobranchus alleganiensis alleganiensis*) infected and co-infected with endo- and ectoparasites. *Conservation Physiology*, *4*, 1–16.
- Hýsek, J., & Žižka, Z.** (1976). Transmission of *Trypanosoma rotatorium* from frogs to white mice. *Nature*, *260*, 608–609.
- Hýsek, J., & Žižka, Z.** (1988). Changes in the morphology of *Trypanosoma* sp. in the frog

- blood during a year. *Archiv Fur Protistenkunde*, 136, 39–44.
- Jakes, K. A., O'Donoghue, P. J., & Adlard, R. D.** (2001). Phylogenetic relationships of *Trypanosoma chelodina* and *Trypanosoma binneyi* from Australian tortoises and platypuses inferred from small subunit rRNA analyses. *Parasitology*, 123, 483–487.
- Johnson, R. N., Young, D. G., & Butler, J. F.** (1993). Trypanosome transmission by *Corethrella wirthi* (Diptera: Chaoboridae) to the green treefrog, *Hyla cinerea* (Anura: Hylidae). *Journal of Medical Entomology*, 30, 918–921.
- Johnston, M. R. L.** (1975). Distribution of *Pirhemocytion* Chatton & Blanc and other, possibly related, infections of poikilotherms. *The Journal of Protozoology*, 22, 529–535.
- Jones, S. R. M., & Woo, P. T. K.** (1987). *Trypanosoma chattoni* Mathis & Leger, 1911 in *Rana pipiens* of southern Ontario: morphometrics and a description of the division process. *Systematic Parasitology*, 9, 57–62.
- Kato, H., Uezato, H., Sato, H., Bhutto, A. M., Soomro, F. R., Baloch, J. H., Iwata, H., Hashiguchi, Y.** (2010). Natural infection of the sand fly *Phlebotomus kazeruni* by *Trypanosoma* species in Pakistan. *Parasites and Vectors*, 3:10.
- Kaufer, A., Ellis, J., Stark, D., & Barratt, J.** (2017). The evolution of trypanosomatid taxonomy. *Parasites and Vectors*, 10:287.
- Khan, R. A.** (1976). The life cycle of *Trypanosoma murmanensis* Nikitin. *Canadian Journal of Zoology*, 54, 1840–1849.
- Khan, R. A.** (1977). Susceptibility of marine fish to trypanosomes. *Canadian Journal of Zoology*, 55, 1235–1241.
- Khan, R. A.** (1980). The leech as a vector of a fish piroplasm. *Canadian Journal of Zoology*, 58, 1631–1637.
- Kudo, A. R.** (1922). On the protozoa parasitic frogs. *Transactions of the American Microscopical Society*, 41, 59–76.
- Lankester, E. R.** (1871). On *Undulina*, the type of a new group of Infusoria. *Journal of Cell Science*, 2, 387–389.
- Leal, D. D. M., O'Dwyer, L. H., Ribeiro, V. C., Silva, R. J., Ferreira, V. L., & Rodrigues, R. B.** (2009). Hemoparasites of the genus *Trypanosoma* (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) and hemogregarines in anurans of the São Paulo and Mato Grosso do Sul States - Brazil. *Anais Da Academia Brasileira de Ciencias*, 81, 199–206.
- Lehmann, D. L.** (1952). Notes on the life cycle and infectivity of *Trypanosoma barbari*. *The Journal of Parasitology*, 38, 550–553.
- Lehmann, D. L.** (1954). A new species of trypanosome from the salamander *Ambystoma gracile*, with notes on a collection of amphibian blood smears. *The Journal of Parasitology*, 40, 656–659.
- Lehmann, D. L.** (1957). Cross inoculations of *Trypanosoma ambystomae*. *The Journal of Parasitology*, 43, 75.
- Lehmann, D. L.** (1958a). Host specificity of *Trypanosoma barbari*. *The Journal of Parasitology*, 44, 386.

- Lehmann, D. L.** (1958b). Notes on the biology of *Trypanosoma ambystomae* II. The life cycle in the invertebrate host. *The Journal of Protozoology*, 5, 96–98.
- Lehmann, D. L.** (1959a). *Trypanosoma boylii* n. sp. from the California yellow-legged frog, *Rana b. boylii*. *Transactions of the American Microscopical Society*, 78, 370–373.
- Lehmann, D. L.** (1959b). *Trypanosoma granulosa* n. sp. from the newt, *Taricha granulosa twittyi*. *The Journal of Protozoology*, 6, 167–169.
- Lemos, M., Morais, D. H., Carvalho, V. T., & D’Agosto, M.** (2008). First record of *Trypanosoma chattoni* in Brazil and occurrence of other trypanosoma species in brazilian frogs (Anura, Leptodactylidae). *Journal of Parasitology*, 94, 148–151.
- Mackenzie, K.** (1999). Parasites as pollution indicators in marine ecosystems: a proposed early warning system. *Marine Pollution Bulletin*, 38, 955–959.
- Mackerras, M. J., & Mackerras, I. M.** (1961). The haematozoa of australian frogs and fish. *Australian Journal of Zoology*, 9, 123–139.
- Mackerras, M. J.** (1959). The haematozoa of australian mammals. *Australian Journal of Zoology*, 9, 61–122.
- Mann, K. H.** (1962). Leeches (Hirudinea): Their structure, physiology, ecology and embryology. *Pergamon Press*, New York, 201 pp.
- Martin, D. S., & Desser, S. S.** (1990). A light and electron microscopic study of *Trypanosoma fallisi* n. sp. in toads (*Bufo americanus*) from Algonquin Park, Ontario. *The Journal of Protozoology*, 37, 199–206.
- Martin, D. S., & Desser, S. S.** (1991a). Development of *Trypanosoma fallisi* in the leech, *Desserobdella picta*, in toads (*Bufo americanus*), and in vitro. *Parasitology Research*, 77, 18–26.
- Martin, D. S., & Desser, S. S.** (1991b). Infectivity of cultured *Trypanosoma fallisi* (Kinetoplastida) to various anuran species and its evolutionary implications. *The Journal of Parasitology*, 77, 498–500.
- Martin, D. S., Desser, S. S., & Hong, H.** (1992). Allozyme comparison of three trypanosoma species (Kinetoplastida: Trypanosomatidae) of toads and frogs by starch-gel electrophoresis. *The Journal of Parasitology*, 78, 317–322.
- Martin, D. S., Wright, A. D. G., Barta, J. R., & Desser, S. S.** (2002). Phylogenetic position of the giant anuran trypanosomes *Trypanosoma chattoni*, *Trypanosoma fallisi*, *Trypanosoma mega*, *Trypanosoma neveulemairei*, and *Trypanosoma ranarum* inferred from 18S rRNA gene sequences. *The Journal of Parasitology*, 88, 566–571.
- Minchella, D. J., & Scott, M. E.** (1991). Parasitism: A cryptic determinant of animal community structure. *Trends in Ecology and Evolution*, 6, 250–254.
- Minter-Goedbloed, E., Leake, C. J., Minter, D. M., McNamara, J., Kimber, C., Bastien, P., Evans, D. A., Le Ray, D.** (1993). *Trypanosoma varani* and *T. grayi*-like trypanosomes: Development in vitro and in insect hosts. *Parasitology Research*, 79, 329–333.
- Miyata, A.** (1977). *Trypanosoma ogawai* n. sp. (Protozoa: Trypanosomatidae) detected from *Triturus pyrrhogaster ensicauda* (Hallowell, 1860) (Amphibia: Salamandridae) in Okinawa Island. *Tropical Medicine*, 19, 113–122.

- Miyata, A., & Yong, H. S.** (1991). A new trypanosome, *Trypanosoma hosei* (Protozoa: Trypanosomatidae), in *Rana hosei* (Amphibia: Anura: Ranidae) from Peninsular Malaysia. *Raffles Bulletin of Zoology*, 39, 131–134.
- Molan, A. L., Saeed, I. S., & Miyata, A.** (1989). Haemoprotozoa detected in *Rana ridibunda* in Iraq. *Japanese Society of Systematic Zoology*, 40, 3–12.
- Nehili, M., Ilk, C., Mehlhorn, H., Ruhnau, K., Dick, W., & Njayou, M.** (1994). Experiments on the possible role of leeches as vectors of animal and human pathogens: a light and electron microscopy study. *Parasitology Research*, 80, 277–290.
- Netherlands, E. C., Cook, C. A., Du Preez, L. H., Vanhove, M. P. M., Brendonck, L., & Smit, N. J.** (2018). Monophyly of the species of *Hepatozoon* (Adeleorina: Hepatozoidae) parasitizing (African) anurans, with the description of three new species from hyperoliid frogs in South Africa. *Parasitology*, 145, 1039–1050.
- Noyes, H. A., Stevens, J. R., Teixeira, M., Phelan, J., & Holz, P.** (1999). A nested PCR for the ssrRNA gene detects *Trypanosoma binneyi* in the platypus and *Trypanosoma* sp. in wombats and kangaroos in Australia. *International Journal for Parasitology*, 29, 331–339.
- Okulewicz, A., Hildebrand, J., Łysowski, R., Buńkowska, K., & Perek-Matysiak, A.** (2014). Helminth communities of green and brown frogs from Poland (Lower Silesia region). *Journal of Herpetology*, 48, 34–37.
- Overath, P., Haag, J., Mameza, M. G., & Lischke, A.** (1999). Freshwater fish trypanosomes: definition of two types, host control by antibodies and lack of antigenic variation. *Parasitology*, 119, 591–601.
- Podlipaev, S. A.** (1990). Catalogue of world fauna of Trypanosomatidae (Protozoa). *Zoologicheskii institut AN SSSR*, Leningrad, 178 pp.
- Poinar, G.** (2007). Early cretaceous trypanosomatids associated with fossil sand fly larvae in Burmese amber. *Memorias Do Instituto Oswaldo Cruz*, 102, 635–637.
- Ramos, B., & Urdaneta-Morales, S.** (1977). Hematophagous insects as vectors for frog trypanosomes. *Revista de Biología Tropical*, 25, 209–217.
- Readel, A. M., & Goldberg, T. L.** (2010). Blood parasites of frogs from an equatorial african Montane Forest in Western Uganda. *Journal of Parasitology*, 96, 448–450.
- Reilly, B. O., & Woo, P. T. K.** (1982a). Susceptibility of the leech *Batracobdella picta* (Verrill) to *Trypanosoma andersoni* Reilly and Woo and *Trypanosoma grylli* Nigrelli (Kinetoplastida). *Canadian Journal of Zoology*, 60, 1441–1445.
- Reilly, B. O., & Woo, P. T. K.** (1982b). The biology of *Trypanosoma andersoni* n. sp. and *Trypanosoma grylli* Nigrelli, 1944 (Kinetoplastida) from *Hyla versicolor* LeConte, 1825 (Anura). *Canadian Journal of Zoology*, 60, 116–123.
- Reilly, B. O., & Woo, P. T. K.** (1982c). The in vivo and in vitro development of *Trypanosoma andersoni* Reilly and Woo, 1982 and *Trypanosoma grylli* Nigrelli, 1944 (Kinetoplastida). *Canadian Journal of Zoology*, 60, 124–133.
- Reilly, B. O., & Woo, P. T. K.** (1982d). The ultrastructure of an anuran trypanosome, *Trypanosoma andersoni* Reilly and Woo, 1982 (Kinetoplastida). *Canadian Journal of Zoology*, 60, 134–138.

- Roudabush, R. L., & Coatney, G. R.** (1937). On some blood Protozoa of reptiles and amphibians. *Transactions of the American Microscopical Society*, 56, 291–297.
- Sawyer, R. T., & Fitzgerald, S. W.** (1981). Leech biology and behaviour. *Oxford University Press*, Oxford, 7–26.
- Siddall, M. E., & Desser, S. S.** (1992). Alternative leech vectors for frog and turtle trypanosomes. *The Journal of Parasitology*, 78, 562–563.
- Siddall, M. E., & Desser, S. S.** (1993). Cytopathological changes induced by *Haemogregarina myoxocephali* in its fish host and leech vector. *The Journal of Parasitology*, 79, 297–301.
- Silva, V., Valenzuela, A., Ruiz, P., & Oyarzún, C.** (2005). *Trypanosoma humboldti* en *Schroederichthys chilensis* (Chondrichthyes, Elasmobranchii, Scyliorhinidae) como indicador no destructivo de contaminación. *Gayana (Concepción)*, 69, 160–165.
- Smith, T. G.** (1996). The genus *Hepatozoon* (Apicomplexa: Adeleina). *The Journal of Parasitology*, 82, 565–585.
- Southworth, G. C., Mason, G., & Seed, J. R.** (1968). Studies on frog trypanosomiasis. I. A 24-hour cycle in the parasitemia level of *Trypanosoma rotatorium* in *Rana clamitans* from Louisiana. *The Journal of Parasitology*, 54, 255–258.
- Spodareva, V. V., Grybchuk-Ieremenko, A., Losev, A., Votýpka, J., Lukeš, J., Yurchenko, V., & Kostygov, A. Y.** (2018). Diversity and evolution of anuran trypanosomes: insights from the study of European species. *Parasites and Vectors*, 11:447.
- Stebbins, J. H.** (1907). On the occurrence of trypanosomes in the blood of *Rana clamata*. *Transactions of the American Microscopical Society*, 27, 25–30.
- Steinhagen, D., Hedderich, W., Skouras, A., Scharsack, J. P., Schuberth, J., Leibold, W., & Körting, W.** (2000). In vitro cultivation of *Trypanoplasma borreli* (Protozoa: Kinetoplastida), a parasite from the blood of common carp *Cyprinus carpio*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 41, 195–201.
- Tse, B., Barta, J. R., & Desser, S. S.** (1986). Comparative ultrastructural features of the sporozoite of *Lankesterella minima* (Apicomplexa) in its anuran host and leech vector. *Canadian Journal of Zoology*, 64, 2344–2347.
- Tyler, K. M., & Engman, D. M.** (2001). The life cycle of *Trypanosoma cruzi* revisited. *International Journal for Parasitology*, 31, 472–481.
- Votýpka, J., Oborník, M., Volf, P., Svobodová, M., & Lukeš, J.** (2002). *Trypanosoma avium* of raptors (Falconiformes): phylogeny and identification of vectors. *Parasitology*, 125, 253–263.
- Wake, D. B., & Koo, M. S.** (2018). Amphibians. *Current Biology*, 28, R1237–1241.
- Werner, J. K., & Kirwin, J.** (1993). Blood parasites of amphibians from Sichuan province, People's Republic of China. *The Journal of Parasitology*, 79, 356–363.
- Werner, J. K., & Walewski, K.** (1976). Amphibian trypanosomes from the McCormick Forest, Michigan. *The Journal of Parasitology*, 62, 20–25.
- Woo, P. T. K.** (1983). Sensitivity of diagnostic techniques in determining the prevalence of

anuran trypanosomes. *Journal of Wildlife Diseases*, 19, 24–26.

**Woo, P. T. K.** (1969a). The development of *Trypanosoma canadensis* of *Rana pipiens* in *Placobdella* sp. *Canadian Journal of Zoology*, 47, 1257–1259.

**Woo, P. T. K.** (1969b). Trypanosomes in amphibians and reptiles in southern Ontario. *Canadian Journal of Zoology*, 47, 981–988.

**Woo, P. T. K., & Bogart, J. P.** (1984). *Trypanosoma* spp. (Protozoa: Kinetoplastida) in Hylidae (Anura) from eastern North America, with notes on their distributions and prevalences. *Canadian Journal of Zoology*, 62, 820–824.

**Woo, P. T. K., & Bogart, J. P.** (1986). Trypanosome infection in salamanders (order: Caudata) from eastern North America with notes on the biology of *Trypanosoma ogawai* in *Ambystoma maculatum*. *Canadian Journal of Zoology*, 64, 121–127.

**Žičkus, T.** (2002). The first data on the fauna and distribution of blood parasites of amphibians in Lithuania. *Acta Zoologica Lituanica*, 12, 197–202.

## Sekundární citace

**Billet, A.** (1904). Sur le *Trypanosoma inopinatum* de la grenouille verte d'Algérie et sa relation possible avec les Drepanidium. *Comptes Rendus de la Société de Biologie*, 57, 161–164, podle **Bardsley, J. E., & Harmsen, R.** (1973). The trypanosomes of anura. *Advances in Parasitology*, 11, 1–73.

**Brumpt, E.** (1906). Role pathogène et mode de transmission du *Trypanosoma inopinatum* Ed. et Et. Sergent. Mode d'inoculation d'autres trypanosomes. *Comptes Rendus de la Société de Biologie*, 61, 167, podle **Bardsley, J. E., & Harmsen, R.** (1973). The trypanosomes of anura. *Advances in Parasitology*, 11, 1–73.

**Cleland, J. B., & Johnston, T. H.** (1910). The haematozoa of Australian batrachians. *Journal and proceedings of the Royal Society of New South Wales*, 44, 252–260, podle **Mackerras, M. J., & Mackerras, I. M.** (1961). The haematozoa of Australian frogs and fish. *Australian Journal of Zoology*, 9, 123–139.

**Diamond, L. S.** (1958). A study of the morphology, biology and taxonomy of the trypanosomes of Anura. *University of Minnesota, USA*, 372 pp., podle **Bardsley, J. E., & Harmsen, R.** (1973). The trypanosomes of anura. *Advances in Parasitology*, 11, 1–73.

**Feng, L. C., & Chung, H. L.** (1940). *Phlebotomus squamirostris* Newstead, transmitter of *Trypanosoma bocagei* França in the toad, *Bufo bufo gargarizans* (Cantor). *Chinese Medical Journal Supplement*, 3, 198–211, podle **Bernal, X. E., & Pinto, C. M.** (2016). Sexual differences in prevalence of a new species of trypanosome infecting túngara frogs. *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife*, 5, 40–47.

**Gruby, Á.** (1843). Recherches et observations sur une nouvelle espèce d'hématozoaire, *Trypanosoma sanguinis*. *Comptes rendus hebdomadaire des séances de l'Académie des Sciences*, 17, 1134–1136, podle **Ferreira, R. C., Campaner, M., Viola, L. B., Takata, C. S. A., Takeda, G. F., & Teixeira, M. M. G.** (2007). Morphological and molecular diversity and phylogenetic relationships among anuran trypanosomes from the Amazonia, Atlantic Forest and Pantanal biomes in Brazil. *Parasitology*, 134, 1623–1638.

- Lom, J., & Dyková, I.** (1992). Protozoan Parasites of Fishes. *Elsevier Science Publishers*, Amsterdam, 315 pp., podle **Steinhagen, D., Hedderich, W., Skouras, A., Scharsack, J. P., Schuberth, J., Leibold, W., & Körting, W.** (2000). In vitro cultivation of *Trypanoplasma borreli* (Protozoa: Kinetoplastida), a parasite from the blood of common carp *Cyprinus carpio*. *Diseases of Aquatic Organisms*, 41, 195–201.
- Mayer, A. F. J. K.** (1843). Spicilegium observationum anatomicarum de organo electrico in raiis anelectricis et de haematozois. *Bonnae: Caroli Georgii*, podle **Spodareva, V. V., Grybchuk-Ieremenko, A., Losev, A., Votýpka, J., Lukeš, J., Yurchenko, V., & Kostygov, A. Y.** (2018). Diversity and evolution of anuran trypanosomes: insights from the study of European species. *Parasites and Vectors*, 11:447.