

Univerzita Karlova

Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Zoologie



Bc. Magdalena Gajdošová

Koevoluce tropických ptačích ektoparazitů

Coevolution of avian ectoparasites in the tropics

Diplomová práce

Vedoucí diplomové práce: doc. Mgr. Pavel Munclinger, Ph.D.

Praha, 2018

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, 27.7.2018

Podpis

Poděkování

Děkuji svému školiteli Pavlu Muncingerovi za trpělivost, za rady a za cenné zkušenosti, kterých jsem díky němu mohla nabýt ať už v laboratoři či v terénu. Za možnost zažít si Kamerun na vlastní kůži, děkuji jemu i Tomáši Albrechtovi.

Kuba Kreisinger, Jirka Hadrava a Míša Mikát obětovali hodiny tomu, že se mnou konzultovali interpretaci dat i další součásti výzkumu. Velmi si toho cením, stejně tak jako jejich nadšení pro vědu.

Laboratorní práci, v níž jsem roky narážela na překážku za překážkou, jsem dotáhla do konce díky radám Lukáše Falteiska a Petra Janšty, od nichž jsem se také mnohému naučila, a tak mohu s klidem prohlásit, že mě všechny ty problémy velmi obohatily.

Olda Sychra mě velmi ochotně a přátelsky zasvětil do světa všenek po jiné než molekulární stránce.

David Hořák mi ochotně poskytl přístup k mnoha informacím o kamerunských ptácích, které tuto práci velmi obohatily.

Za všemožnou podporu bych také ráda poděkovala především své rodině, Katce Votýpkové a Dagmar „Bernešce“ Říhové.

Mnozí zmínění (a nejen oni) taktéž hráli zásadní roli ve formování mého vztahu k biologii. Děkuji jim i za to.

Abstrakt

Vazby parazitických druhů na druhy hostitelské vznikají dvěma způsoby: kospecií a hostitelským přeskokem. K výzkumu těchto událostí a ekologických faktorů, které jejich frekvenci mohou ovlivňovat, jsou tradičně využívány jako modelová skupina všenky. Doposud byly provedeny desítky analýz zkoumajících kospeciace a hostitelské přeskoky srovnáváním fylogenezí všenek a hostitelů, téměř výhradně se však zaměřovaly na parazity mírného pásma. Tropické prostředí, které je ekologicky velmi unikátní, by mohlo být velice zajímavé i z hlediska vzniku hostitelsko-parazitických asociací. Tato práce proto doplňuje poznatky o kospeciích v tropech analýzou proběhlé koevoluce mezi dvěma rody všenek a jejich hostiteli z tropického pralesa v Kamerunu. Ukazuje, že všenky v tropech kospeciují poměrně vzácně. Na základě předpokladu, že hostitelské přeskoky, které jsou v tropech zřejmě častější než kospeciace, neprobíhají zcela náhodně, ale preferenčně na hostitele, kteří disponují určitými vlastnostmi, dále tato práce analyzuje, zda příbuznost všenek souvisí s určitými vzájemnými podobnostmi jejich hostitelů. Nebyl nalezen vliv morfologie ani prostorového rozšíření hostitelů, nicméně příbuznost všenek silně souvisí s příbuzností hostitelů a tento jev je výrazně patrný obzvláště v některých kládech.

Klíčová slova

kospeciace, kofylogeneze, kodivergence, hostitelské přeskoky, koevoluce, všenky, ektoparaziti, Fahrenholzovo pravidlo, tropy, ptáci, Kamerun

Abstract

Host-parasite associations are born by cospeciations or by host switches. Feather lice have traditionally been used as model parasites for studying these events and underlying ecological factors. By now tens of analyses have addressed comparisons of host and parasite phylogenies to study cospeciations and host switches in lice, however, these analyses are strongly biased towards the temperate zone. Tropical environment could provide new insight into the origin of host-parasite interactions because it is ecologically unique. This work aims to supplement the knowledge of host-parasite associations in lice using coevolution analyses of two feather lice genera and their passerine hosts in tropical rainforest in Cameroon. It shows that lice in the tropics cospeciate rarely. To assess whether host switches are non-random and occur preferentially between hosts with specific traits, this work also analyses relations between parasite genetic distances and hosts' trait similarities. No effect of host morphology and spatial distribution was found. However, genetic distances of the lice strongly correlate with genetic distances of their hosts.

Keywords

cospeciation, cophylogeny, codivergence, host switching, coevolution, feather lice, extoparasites, Fahrenholz rule, tropics, birds, Cameroon

Obsah

1	Úvod.....	1
2	Teoretický úvod do problematiky	2
2.1	Kospeciace.....	2
2.2	Hostitelské přeskoky.....	2
2.3	Další události v historii hostitelsko-parazitických asociací.....	4
2.4	Všenky jako modelová skupina	5
2.4.1	<i>Myrsidea</i>	6
2.4.2	<i>Brueelia</i> komplex	8
2.5	Hostitelé – pěvci	9
2.6	Faktory ovlivňující míru kospeciací	11
2.6.1	Vliv tropického prostředí na množství kospeciací	12
2.7	Vlastnosti hostitelů ovlivňující úspěšnost hostitelských přeskoků.....	14
2.7.1	Příbuznost hostitelů	15
2.7.2	Velikost těla.....	16
2.7.3	Zobák.....	17
2.7.4	Přesah areálů	17
2.8	Studované lokality: Mt. Cameroon a Bamenda Highlands	18
3	Cíle práce.....	20
4	Metodika.....	21
4.1	Terénní sběr vzorků	21
4.2	Genetická analýza.....	21
4.2.1	Izolace DNA.....	21
4.2.2	Amplifikace a sekvenace požadovaných úseků DNA.....	22
4.3	Genetická analýza populační struktury.....	24
4.4	Alignment a rekonstrukce fylogenezí.....	24
4.5	Kodivergenční analýzy	26
4.6	Výpočet genetických distancí a odlišností hostitelů.....	28
4.7	Statistická analýza efektu vlastností hostitelů	28
5	Výsledky.....	30
5.1	Hostitelská specifita všenek.....	30
5.2	Populační struktura parazitů na různých lokalitách.....	31

5.3	Fylogeneze všenek.....	33
5.3.1	<i>Myrsidea</i> spp.	33
5.3.2	<i>Brueelia</i> komplex	34
5.4	Kodivergenční analýzy	37
5.4.1	<i>Myrsidea</i> spp.	37
5.4.2	<i>Brueelia</i> komplex	40
5.5	Efekt vlastností hostitelů na příbuznost parazitů.....	43
6	Diskuze.....	44
6.1	Nakolik tropické všenky kospeciují?.....	44
6.2	Jaké vlastnosti hostitelů jsou důležité pro úspěšné hostitelské přeskoky?	46
6.3	Další práce	47
7	Závěr.....	49
8	Seznam literatury.....	50

1 ÚVOD

Je velkou výhodou, že dnes existuje již ustálený a elegantně jednoduchý model pro studium původu asociací parazitů a hostitelů, totiž ptačí všenky. Tito ektoparaziti ptáků se pro svůj jednoduchý životní cyklus, vysokou hostitelskou specifitu a nízkou pohyblivost stali hlavním objektem pro výzkum vzájemných fylogenetických vztahů mezi hostiteli a parazity již před několika dekádami. Znalosti od té doby získané nám nyní umožňují porovnávat výsledky s mnoha dalšími, a hledat tak ekologické příčiny a souvislosti různých evolučních patrností. Současný rozvoj molekulárních metod zase umožňuje rekonstruovat fylogeneze s mnohem větší přesností než v minulosti, kdy bylo studium této problematiky v počátcích. Pro výzkum koevoluce hostitelů a parazitů ve fylogenetickém měřítku tedy nastala dynamická doba, která každou chvíli přináší něco nového

Tato práce se zabývá vznikem hostitelsko-parazitických interakcí v tropech: hlavní otázkou, kterou řeší, je, zda parazitické vazby na hostitele v tropech vznikají spíše kospeciace, nebo kolonizacemi nových hostitelů, a jakou roli v tom hraje právě tropické prostředí. Celá tato otázka je řešena a diskutována v kontextu zmíněného modelu, totiž všenek a jejich ptačích hostitelů.

2 TEORETICKÝ ÚVOD DO PROBLEMATIKY

Vazby parazitických druhů na hostitelské druhy mohou vznikat dvěma způsoby. Někteří hostitelé zdědili parazity od svých předků. Pokud paraziti speciují souběžně se speciací hostitelů, dochází k takzvaným **kospeciácím** (Brooks 1979; někdy se o obdobné situaci hovoří také jako o **kodivergenci** či **kofylogenezi**) a hostitelsko-parazitické vazby vznikají v podstatě jako dědictví. Může však docházet také k tomu, že parazit kolonizuje cizí hostitelský druh. Takové situaci se říká **hostitelský přeskok** (*host switch*).

2.1 KOSPECIACE

Myšlenka kospeciací, tedy synchronizovaných speciací dvou druhů, byla formulována jako takzvané **Fahrenholzovo pravidlo** (Eichler 1948). Dle tohoto pravidla předkové dnešních parazitů museli žít na předcích dnešních hostitelů, a evoluce parazita tedy zrcadlí evoluci hostitele. Zatímco dříve byla tato premisa mnohdy považována za obecně platnou, s rozvojem molekulárních metod umožňujících rekonstruovat fylogeneze se postupně ukazuje, nakolik jsou v reálném světě kospeciace doopravdy běžné, a že ani zdaleka nejsou pravidlem. U některých skupin parazitů se nicméně ukazují být časté – jsou jimi například právě všenky a vši (Clayton et al. 2015) či kokcidie (e.g. Schrenzel et al. 2005).

2.2 HOSTITELSKÉ PŘESKOKY

Zatímco časté kospeciace by tedy měly vést k zrcadlícím se topologiím fylogenetických stromů parazitů a hostitelů, hostitelské přeskoky naopak obvykle podobnost topologií snižují. Tím, že parazit kolonizuje nového hostitele, v přírodě zřejmě vzniká nezanedbatelná část hostitelsko-parazitických interakcí a, pokud přeskok vede ke speciaci parazita, i nových druhů parazitů. Například mnoho lidských patogenů, jako je malárie či HIV, byly původně patogeny jiných živočichů, které člověka v relativně nedávné době kolonizovaly (Wolfe et al. 2007). V některých případech můžeme sledovat hostitelský přeskok v jeho průběhu (Hernandes et al. 2014). U některých skupin parazitů, jako jsou třeba ptačí malárie či *Wolbachia*, se kolonizace nových hostitelů ukazují být hlavním zdrojem hostitelsko-parazitických interakcí (e.g. van

Meer et al. 1999; DeWayne Shoemaker et al. 2002; Ricklefs and Fallon 2002; Ricklefs et al. 2004).

Může docházet k několika typům hostitelských přeskoků. O neúplný hostitelský přeskok (*incomplete host switch*) se jedná, pokud paraziti na původním i nově osídleném hostiteli udržují i nadále genový tok, který zabraňuje jejich speciaci. Úplný hostitelský přeskok (*complete host switch*) je takový, při kterém dojde ke speciaci parazita na novém hostiteli. V některých případech může také dojít k extinkci parazita na hostiteli původním (Clayton et al. 2003a).

Hostitelské přeskoky ovlivňují hostitelskou specifitu parazita (Clayton et al. 2003a). Parazit, který kolonizuje nového hostitele, si alespoň dočasně rozšiřuje hostitelské spektrum, tedy počet hostitelských druhů, na kterých cizopasí. Hostitelské spektrum se samozřejmě opět zúží, pokud parazit časem na novém hostiteli odspeciuje.

Aby došlo k úspěšnému hostitelskému přeskoku, musí být splněny dvě zásadní podmínky (Araujo et al. 2015):

- (a) koexistence v prostoru a čase – parazit musí mít příležitost přijít do kontaktu s potenciálně hostitelským druhem,
- (b) kompatibilita – parazit musí být schopen na novém hostiteli dlouhodobě přežívat a rozmnožovat se.

Postupně by mezi parazitem a novým hostitelem mělo dojít ke koakomodaci, během níž se sníží konflikt mezi oběma partnery (Brooks 1979).

Je intuitivní, že pro generalisty (parazity, kteří nejsou specializováni na úzké spektrum hostitelských druhů) by hostitelské přeskoky měly být snáze proveditelné než pro specialisty. Jelikož generalisti jsou adaptováni na snášení různorodějších podmínek, při setkání s úplně novým hostitelem mají větší šanci na něm přežívat dostatečně dlouho na to, aby se adaptovali a založili životaschopnou populaci (Bush 2009). Hostitelské přeskoky jsou tedy pravděpodobně jednodušší pro parazity s větší fenotypovou plasticitou a behaviorální flexibilitou (Bush 2009). I specialista ale může být hypoteticky schopný úspěšného hostitelského přeskoku, pokud narazí na hostitele, který je původnímu hostiteli velmi podobný ve vlastnostech, které jsou pro parazita klíčové. Jev, kdy parazit osídluje nové hostitele podle podobnosti jejich vlastností vůči těm, na které je již adaptován, je nazýván *resource tracking* (Kethley et Johnston 1975). Podle *resource tracking hypothesis* je primárním způsobem, jakým vznikají hostitelsko-parazitické vazby nikoliv kospeciace, ale právě osídlování nových hostitelů v závislosti na jejich podobnosti k hostitelům původním (bez ohledu na jejich

příbuznost či nepřibuznost); v evoluci parazita je zkrátka klíčové, že parazit vyhledává určité zdroje. Zatímco specialisté budou při hostitelských přeskokích omezení na velmi úzké možnosti *resource tracking*, generalisté by měli být flexibilnější a mohou mít větší naději na kolonizaci nových zdrojů. Vyloučit nelze ani náhodné genetické změny u specializovaných parazitů, které jim umožní obsadit úplně nové zdroje (Araujo et al. 2015).

Je jasné, že *resource tracking hypothesis* a Fahrenholzovo pravidlo (tedy existence hostitelských přeskoků a kospecií) si neprotiřečí a jsou to jen dva opačné konce kontinua různých scénářů, ve kterých převažuje buďto jeden či druhý jev, což je ovlivněno disperzními schopnostmi, ekologickými faktory a dostupnými nikami parazita (Timm 1983).

Podobně jako u mnohých jiných evolučních událostí, i v případě hostitelských přeskoků mohou být zcela zásadní i velmi vzácné a nepravděpodobné události, ke kterým dojde třeba jen jedinkrát. I zcela hostitelsky specifický parazit, který se s cizími hostiteli téměř nikdy nesetká, může teoreticky kolonizovat nový hostitelský druh, pokud se naskytne vhodná shoda okolností – například se na něj jakousi náhodou dostane v podobě třeba i jedné jediné pregnantní samice.

Při porovnávání kongruence hostitelských a parazitických stromů je nutné mít na paměti, že hostitelský přeskok mezi sesterskými druhy hostitelů se v analýze může jevit jako kospeciace – jedná se o takzvané **pseudo-kospeciace** (Hafner et Nadler 1988). Pseudo-kospeciace mohou způsobovat podstatné zvýšení kongruence i v systémech, kde k reálným kospeciám nedocházelo (de Vienne et al. 2007). Jelikož sesterské druhy si jsou obvykle velmi podobné, lze očekávat, že k hostitelským přeskokům právě mezi nimi dochází často, a že pseudo-kospeciace by tedy ve formování hostitelsko-parazitických vztahů mohly hrát významnou roli. K odlišení kospeciace od pseudo-kospeciace může napomoci aplikace molekulárních hodin, která ukáže, zda došlo k oběma speciím opravdu synchronizovaně v čase (Hafner et Nadler 1990).

2.3 DALŠÍ UDÁLOSTI V HISTORII HOSTITELSKO-PARAZITICKÝCH ASOCIACÍ

Kromě kospecií, hostitelských přeskoků a potažmo pseudo-kospecií je při rekonstrukci kofylogeneze hostitele a parazita nutné uvažovat i další události, k nimž mohlo docházet, a které mohly mít podstatný podíl na formování dnešních asociací a fylogenezí. Jedná se jednak o situace, kdy hostitel speciuje, ale parazit mezi oběma novými liniemi zvládá udržovat genový tok, takže nespeciuje s hostitelem ("*failure to speciate*"; Johnson et al. 2003;

Banks et Paterson 2005), dále o situace, kdy naopak speciuje parazit v rámci jednoho nespeciuujícího hostitelského druhu (duplikace parazita; Page 2003) a o nejrůznější situace, které zapříčiní, že na některé z linií hostitele parazit úplně chybí (tyto situace jsou souhrnně nazývány “*sorting events*” a mohou být způsobeny například **extinkcí parazita** nebo tzv. “*missing the boat*”, kdy se parazit shodou okolností nevyskytuje na části hostitelské populace, která zakládá novou linii; Paterson et Gray 1997).

2.4 VŠENKY JAKO MODELOVÁ SKUPINA

Přestože všenky (“Mallophaga”) byly původně považovány za samostatný taxon, už dlouho je jasné, že se jedná o parafyletickou skupinu (Lyal 1985) a pojem všenky tedy nyní pouze prakticky označuje dvě skupiny hmyzu (Phthiraptera: Ischnocera a Phthiraptera: Amblycera), které si jsou velmi podobné morfologickými a ekologickými vlastnostmi.

Jedná se obvykle o ektoparazity (vnější parazity) ptáků. Existují však i výjimky: několik skupin všenek (především v rámci Amblycera) cizopasí na savcích, unikátem jsou pak ptačí všenky rodu *Piagetiella*, které cizopasí endoparaziticky uvnitř hrdelního vaku pelikánů (Price et al. 2003). Jakožto ektoparaziti žijící se převážně peřím, nepřichází všenky příliš často do styku s imunitním systémem hostitele, je na ně však vyvíjen výrazný tlak ze strany chování hostitele, který se jich může aktivně zbavovat tělní očištěnou (tzv. *preening*; Clayton and Walther 2001).

Právě ptačí všenky se staly už před několika desetiletími modelovou skupinou parazitů pro výzkum kospecií. Vhodnými jsou hned z několika důvodů: jsou vysoce hostitelsky specifické (většina druhů je známa z jediného hostitelského druhu; Price et al. 2003) a velmi málo pohyblivé, a to obzvlášť mimo peří hostitele, kde obvykle umírají v řádu několika hodin (Kellogg 1913). Jsou tedy na svých hostitelích zcela závislé. Jakožto paraziti, kteří nestřídají hostitele, ale po celý život, ba po celé generace, žijí na jediném jedinci, vykazují podstatně vyšší hostitelskou specifitu než paraziti, u nichž během života musí dojít k přenosu mimo hostitele (Pedersen et al. 2005). U všenek si tedy lze snadno představit, že s tak úzkou vazbou na hostitele mohou genealogie všenek odrážet genealogie hostitelů, což se v dlouhodobém měřítku projeví ve formě kospecií.

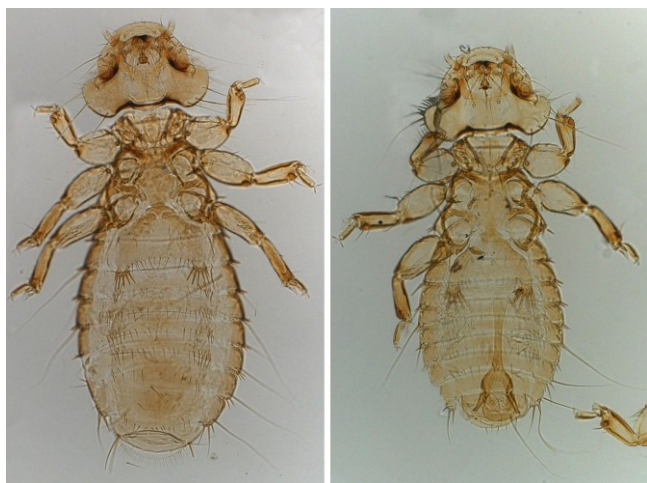
Z desítek kospeciačních studií, které byly doposud na tomto modelu provedeny, je patrné, že všenky dle očekávání skutečně kospeciují často – většina zkoumaných systémů vykazuje

signifikantně vysokou míru kospeciací či fylogenetické kongruence s hostiteli (Gajdošová 2016).

Pro studium koevoluce tropických všenek byly v této práci použity dva rody všenek, které zastupují obě hlavní skupiny (Amblycera i Ischnocera) a které zároveň bylo možné nasbírat v co největší druhové bohatosti. V obou případech se navíc jedná o parazity pěvců, jejichž druhové spektrum se do značné míry překrývá, a při porovnávání výsledků obou skupin tedy není třeba řešit problém přílišných odlišností v chování, ekologických nárocích či morfologii hostitelů. Jednalo se o dále blíže popsané skupiny, *Myrsidea* a *Brueelia* komplex.

2.4.1 MYRSIDEA

Myrsidea (Amblycera: Menoponidae; obr. 1) je rod všenek vázaný téměř výhradně na pěvce – výjimkou je 6 druhů známých z tukanů a 3 druhy z kolibříků (Price et al. 2003). Jedná se převážně o tropický rod, zřejmě netolerantní vůči suchu (Bush et al. 2009), což pravděpodobně vysvětluje jeho rozšíření. Podobně jako další zástupci Amblycera,



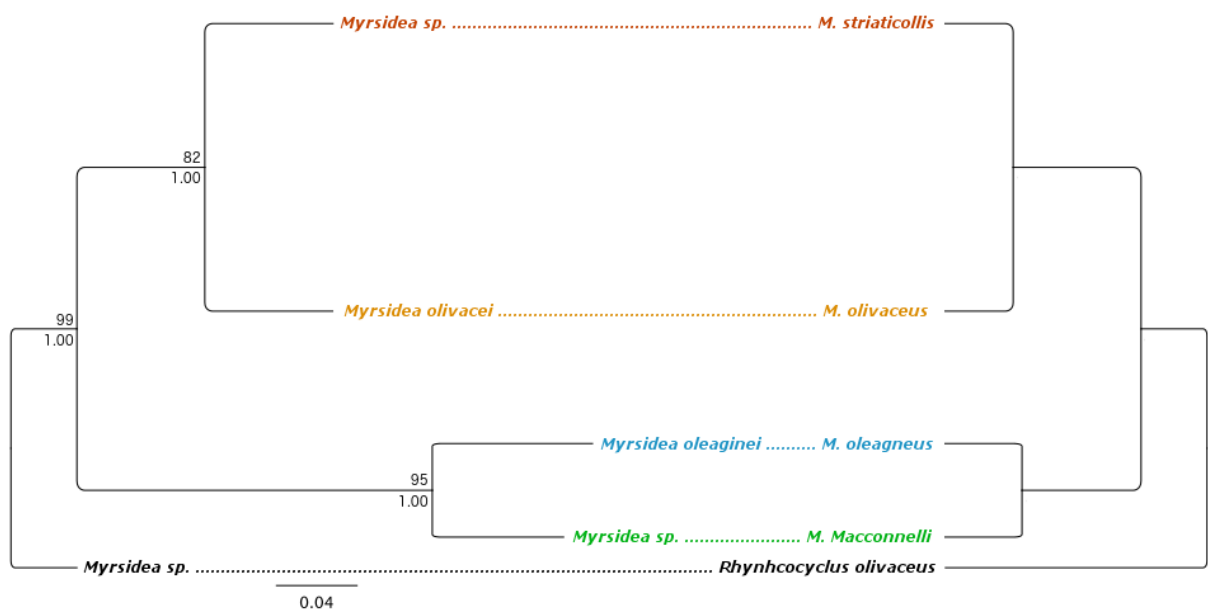
Obrázek 1: *Myrsidea* z *Alethe diademata* (vlevo samice, vpravo samec). Autor fotografie: Oldřich Sychra

i *Myrsidea* jsou obecně pohyblivější než všenky skupiny Ischnocera. Nicméně i tak jsou po celý život vázané na jediného hostitele, na němž se živí poměrně generalisticky: kromě peří, které je typickou potravou většiny všenek, se částečně živí i kůží a tělními tekutinami hostitele, jako je tkáňový mok či krev, což značí, že by u nich mohlo docházet k přímému kontaktu s hostitelovým imunitním systémem (Marshall 1981). Vyšší pohyblivost a schopnost pohybovat se i mimo peří jim ale hypoteticky umožňuje po smrti hostitele opustit jeho tělo a potenciálně vyhledat hostitele jiného (Clayton et al. 2015).

Generalismus *Myrsidea* se ale týká pouze potravy přímo v rámci hostitelského jedince. Co se týče hostitelského spektra, jsou tyto všenky alespoň dle dosavadních poznatků vysoce hostitelsky specifické (Price et al. 2003). Přenos na další hostitele lze u *Myrsidea* očekávat především třemi způsoby: vertikálně z rodičů na potomky, v rámci stejného hostitelského druhu horizontálně při páření a příležitostně horizontálně (vnitrodruhově i mezidruhově)

přeběhnutím všenky z mrtvého hostitele na hostitele nového (Marshall 1981; Price et al. 2003).

Z hlediska koevoluce doposud rod *Myrsidea* příliš zkoumán nebyl, přestože už byl (s předpokladem, že jeho evoluce silně odráží evoluci hostitelů) využit jako *proxy* ke zkoumání evoluční minulosti hostitelů (Block et al. 2015). Cook (2017) ve své diplomové práci porovnával topologie čtyř druhů *Myrsidea* a jejich hostitelů, jihoamerických tyrančíků rodu *Mionectes*. Topologie byly zcela shodné, nicméně je třeba brát v potaz, že obzvláště při takto malém počtu druhů může být shoda velmi snadno čistě náhodná a její příčinou nemusí být kospeciace (Page 2003). V případě těchto stromů jsou navíc vidět neshody v relativních délkách větví (obr. 2).



Obrázek 2: Topologie všenek rodu *Myrsidea* zcela zrcadlí topologii hostitelů rodu *Mionectes*. Převzato z Cook (2017).

Kospeciální analýzu *Myrsidea* z pěti druhů drozdů rodu *Catharus* provedli Bueter et al. (2009). V tomto případě naopak nebyla nalezena žádná kongruence. Výsledky dosavadních studií jsou tedy spíše protichůdné a založené na malém a taxonomicky velmi úzkém vzorku.

Kromě toho, že všenky rodu *Myrsidea* se zdají být vhodným modelem pro zkoumání kospeciací, je jejich sběr a výzkum užitečný také z taxonomického hlediska. Většina druhů

tohoto rodu doposud nebyla popsána, obzvláště v tropických oblastech (Valim et Weckstein 2013), a o celkové diverzitě rodu *Myrsidea* tedy mnoho nevíme.

2.4.2 BRUEELIA KOMPLEX

Rod *Brueelia* (obr. 3) se nedávno prokázal být parafyletickým a spadá do něj několik dalších rodů (Bush et al. 2015). Do této studie jsem kromě všenek popsanych tradičně jako *Brueelia* zařadila i všenky rodu *Sturnidoecus*, který je podle aktuálních poznatků vnitřní skupinou *Brueelia* (Bush et al.



2015). Pro skupinu těchto rodů tedy nyní používám výraz

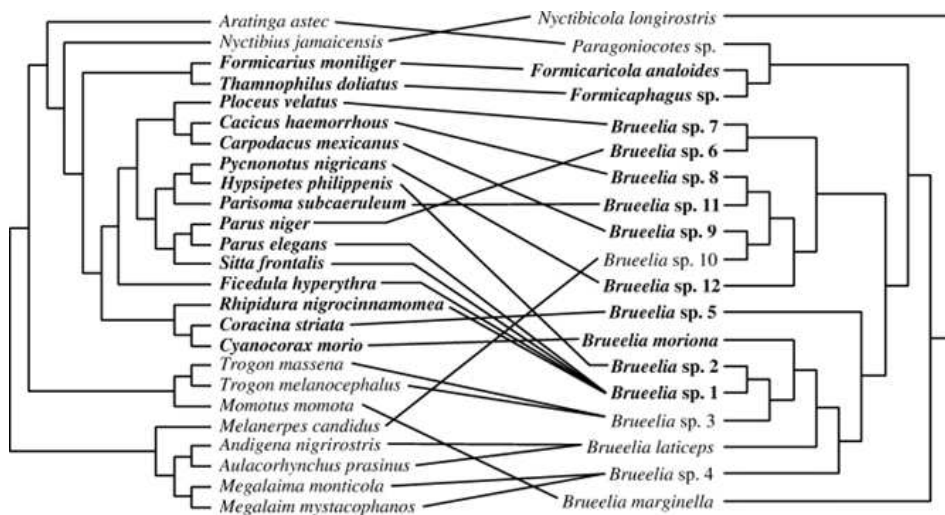
Obrázek 3: *Brueelia stenozona*, parazit astrildů. Autor fotografie: Oldřich Svchra

Brueelia komplex (Bush et al. 2015) a lze očekávat, že nomenklatura této skupiny se bude měnit, historicky vytvořené rody se přeuspořádají a zavede se několik rodů nových (Bush et al. 2015; Gustafsson et Bush 2017). *Brueelia* komplex je jednou z největších skupin všenek, jaké známe – zahrnuje téměř desetinu známých druhů řádu Phthiraptera (Bush et al. 2016), jen samotný rod *Brueelia* v současném významu má přes 300 druhů (Price et al. 2003) a součástí celého komplexu je momentálně 426 druhů (Gustafsson et Bush 2017).

Všenky komplexu *Brueelia*, stejně jako většina všenek podřádu Ischnocera, mají nohy uzpůsobené k pohybu po peří, takže jsou mimo opeření samy o sobě podstatně méně pohyblivé než všenky podřádu Amblycera (Price et al. 2003). Mnoho druhů komplexu *Brueelia* se nicméně vyznačuje jednou velice specifickou vlastností, totiž schopností foréze na ptakotrudkách (Diptera: Hippoboscidae; Keirans 1975). Ptakotrudky jsou létající hematofágní hmyz a nejsou hostitelsky specifické – sají krev i ptákům různých řádů, pokud tedy slouží jako prostředek přenosu pro všenku, může se všenka dostat na úplně nové druhy potenciálních hostitelů (Harbison et al. 2009), což dokládá i skutečnost, že foretické druhy *Brueelia* komplexu jsou mnohem méně hostitelsky specifické než druhy neforetické (Harbison 2008).

Všenky *Brueelia* komplexu jsou příkladem toho, že všenky schopné foréze by měly být schopné parazitovat na rozmanitějším spektru ptáků (Harbison et al. 2009) – oproti jiným rodům všenek, které jsou často omezeny na jedinou čeleď ptáků, všenky *Brueelia* komplexu žijí na ptácích několika řádů (Passeriformes, Piciformes, Trogoniformes, Cuculiformes; Price et al. 2003). Všenky *Brueelia* komplexu jsou tedy paraziti s podstatně nižší hostitelskou specifitou než *Myrsidea*, nicméně i tak je zhruba 85 % druhů tohoto komplexu známo z jediného druhu hostitele (Bush et al. 2016).

Brueelia jsou z hlediska kospeciací probádanější než *Myrsidea*. Vzhledem k efektivní disperzi pomocí foréze lze odhadovat, že v evoluci všenek tohoto rodu nebude převažující událostí kospeciace, nýbrž hostitelské přeskoky, protože mají mnoho příležitostí k setkání s novým potenciálním hostitelem. Tento předpoklad podporuje několik kospeciálních studií (Johnson et al. 2002; Bueter et al. 2009; obr. 4). Ani na populačně genetické úrovni se *Brueelia* se svými hostiteli neshodují (Toon et Hughes 2008). Nicméně když byly *Brueelia* zkoumány na větší geografické škále, kofylogenetický signál nalezen byl (Sweet et al. 2018).



Obrázek 4: Fylogeneze rodu *Brueelia* se neshoduje s fylogenezí jejich hostitelů. Převzato z Johnson et al. 2002

2.5 HOSTITELÉ – PĚVCI

Pěvci (Aves: Passeriformes; obr. 5) jsou nejpočetnějším řádem ptáků – se svými 6592 druhy představuje tato skupina více než polovinu druhů všech ptáků (del Hoyo et al. 2014). Obdobně pozoruhodná je i jejich morfologická a ekologická variabilita, kterou ilustrují například rozmanité potravní strategie (vázané především na členovce a rostliny jako potravu) doprovázené velmi různými, někdy až extrémními, tvary zobáků (Raikow 1986). Díky této

rozmanitosti jsou pěvci skvělou skupinou pro zkoumání vlivu vlastností hostitelů na hostitelské přeskoky parazitů. Velikosti pěvců se mezi jednotlivými druhy liší i řádově, obecně jsou to ale spíše drobní ptáci.

Pěvci jsou kosmopolitně rozšířenou skupinou (del Hoyo et al. 2014). Význační jsou svou teritorialitou (Møller 2008), mnohé druhy také pravidelně migrují a setkávat se tak mohou i s parazity z různých kontinentů (Waldenstrom et al. 2002).

I přes jejich druhovou bohatost byly doposud interakce všenek s pěvci zkoumány oproti interakcím s jinými řády ptáků spíše minoritně. Dosavadní poznatky sestávají z výsledků již zmíněných studií týkajících se rodu *Brueelia* (Johnson et al. 2002; Bueter et al. 2009) a *Myrsidea* (Bueter et al. 2009; Štefka et al. 2011). Až na jeden případ (Johnson et al. 2002) se přitom tyto studie zaměřily vždy na jediný rod hostitele, naše poznatky jsou tedy prozatím založeny na velmi úzkém taxonomickém spektru. Ani jedna z těchto čtyř studií neodhalila časté kospeciace.

V případě pěvců často žije mnoho relativně příbuzných ptáků sympatricky (a jejich paraziti tedy mají často šanci setkat se s podobným hostitelem jiného druhu) a mnohdy tvoří smíšená hejna. Pro parazity pěvců tedy mohou být příležitosti k hostitelským přeskokům častější než v případě jiných skupin ptáků. Skutečnost, že mají obecně velmi malá těla, zase může mít za příčinu nízké abundance a prevalence (podílu nakažených hostitelů) ektoparazitů a jejich častější vymírání a další *sorting events* (Clayton et al. 2015).



Obrázek 5: *Terpsiphone rufiventer* a *Cinnnyris reichenowi*, pěvci chycení v Kamerunu, jimiž se tato práce také zabývá. Autor fotografií: Pavel Munclinger

2.6 FAKTORY OVLIVŇUJÍCÍ MÍRU KOSPECIACÍ

Je zřejmé, že míra, do jaké paraziti kospeciují či naopak kolonizují nové hostitele, může záviset na různých vlastnostech parazitů, hostitelů či prostředí. Původně se kospeciace dávaly do souvislosti téměř výhradně s hostitelskou specifitou. Dnes je jasné, že ačkoliv je hostitelská specifita logickým a nutným předpokladem pro kospeciace, není sama o sobě dostačující (Clayton et al. 2004). Klíčovou roli má pravděpodobně také pohyblivost parazitů, která jim umožňuje přicházet do kontaktu s novými druhy potenciálních hostitelů – u méně pohyblivých parazitů by kospeciace měla hrát významnější roli. To ilustrují například žábrolísti (Platyhelminthes: Monogenea), kteří jsou sice také vysoce hostitelsky specifictí paraziti, ale mají aktivně pohyblivé larvy, zřejmě proto u nich nebyla pozorována výrazná míra kospeciace (Desdevides et al. 2002; Desdevides 2007). Z dosavadních kospecačních studií vyplývá, že všenky, které jsou schopné foréze na létajícím hmyzu, obecně kospeciují mnohem méně než všenky, které foréze schopny nejsou (Gajdošová 2016).

I nepohybliví paraziti ale mohou získávat příležitosti ke kontaktu s cizími hostiteli, pokud je zprostředkuje přímo hostitel například fyzickým kontaktem s jiným potenciálně hostitelským druhem. V případě ptačích ektoparazitů (kteří jsou veskrze velmi málo pohybliví a většina z nich zůstává celý život či dokonce celé generace na jediném hostiteli) existuje možnost přenosu na spadaném peří, přes hnízdní dutiny, či prachové koupele (Timm 1983). Behaviorální vlastnosti hostitelů tedy také mohou hrát zásadní roli.

Dalším faktorem je morfologie, a to jak parazitů, tak hostitelů. Obecně bude zřejmě platit, že čím větší nároky bude morfologie hostitele klást na specializaci parazita, tím spíš bude docházet ke kofylogenezi, protože parazit bude kolonizovat jiné hostitele s většími obtížemi. U všenek rodu *Brueelia* souvisí kongruence s dimorfismem opeření hostitele (Sweet et al. 2018). Barva peří může na ektoparazity klást selekční tlak, pokud se ektoparaziti přizpůsobují zbarvením, aby byli kryptičtí (Bush et al. 2010). Druhy ptáků s diverznějším peřím (například s pohlavním dichromatismem) mohou být náchylnější ke kolonizaci novými druhy ektoparazitů, protože poskytují více typů útočiště (Sweet et al. 2018).

Myšlenku, že nejruznější ekologické nuance mohou výrazně ovlivňovat míru kospeciací, dokazují případy, kdy velmi podobné skupiny parazitů žijící na stejných hostitelích (takzvané “*ecological replicates*”) mají odlišnou kofylogenetickou minulost. Typickým a dobře prozkoumaným případem jsou různé rody všenek (Phthiraptera: Ischnocera) na měkkozobých (Columbiformes). Zatímco rody *Coloceras*, *Campanulotes* a *Physconelloides* obývají opeření

torza měkkozobých ptáků, další rod, *Columbicola*, je specialista na život na letkách. Přestože všeny měkkozobých ptáků obecně podle většiny analýz výrazně kospeciují (Clayton and Johnson 2003; Clayton et al. 2003; Johnson et al. 2003; Johnson et Clayton 2003; Sweet et al. 2016; Sweet et Johnson 2016; Sweet et al. 2017), kospeciace jsou o něco častější u všenek na torzu. To zřejmě souvisí se skutečností, že všeny rodu *Columbicola* ovládají schopnost foréze na ptakotrudkách (Keirans 1975), mají tedy více příležitostí k hostitelským přeskokům. Nicméně v Austrálii, kde všeny rodu *Columbicola* foréze na ptakotrudkách nevyžívají, kospeciují naopak více než torzální všeny. Předpokládá se, že důvodem je výrazná morfologická specializace těchto parazitů na konkrétní druh ptáka, která ztěžuje úspěšnou kolonizaci cizího druhu. Pták se totiž ektoparazitů zbavuje čištěním především pomocí zobáku (tzv. *preening*) a všeny rodu *Columbicola* se této očistě brání tím, že se vmezeřují do žlábků mezi paprsky letek. Velikost jejich těla tedy velmi přesně koreluje s velikostí letek a velikosti letek koreluje s velikostí těla hostitele (Harnos et al. 2017). Morfologická adaptace v tomto případě zřejmě zužuje hostitelské spektrum parazitů.

Podle Ròzsa (1993) může hostitelským přeskokům napomáhat, pokud původní parazit na novém hostiteli vyhyne, čímž se uvolní nika. V takovém případě by hostitelské přeskoky mohly být běžnější u skupin, u nichž hostitelsko-parazitické vazby nejsou příliš stabilní, například kvůli nízkým prevalencím parazita.

2.6.1 VLIV TROPICKÉHO PROSTŘEDÍ NA MNOŽSTVÍ KOSPECIACÍ

Jestliže nejrůznější ekologické faktory hrají významnou roli v utváření hostitelsko-parazitických asociací, nabízí se, že v tropickém prostředí, které je z hlediska ekologie velmi unikátní, dochází ke kospeciím v jiné míře než v oblastech mírného pásma, kde byly doposud převážně zkoumány. V tropech připadá na jeden hostitelský druh více druhů parazitů než ve vyšších zeměpisných šířkách (Schemske et al. 2009) což by samo o sobě mohlo vypovídat o častějších hostitelských přeskocích.

Některé vlastnosti tropického prostředí by mohly mít přímý vliv na množství kospecií a potažmo hostitelských přeskoků u parazitů:

- (a) Vysoká biodiverzita v tropech poskytuje parazitům více příležitostí setkat se pomocí horizontálního přenosu s novými druhy potenciálních hostitelů.

- (b) Menší populace hostitelů znamenají pro parazita méně jistý a vzácnější zdroj – pro tropické parazity tedy může být výhodnější být generalisty než specialisty (Poulin 2007). Generalisti by logicky měli kospeciovat méně než specialisti.
- (c) Jestliže v tropickém prostředí je na hostitelský druh více druhů parazitů, hostitel se nemůže výrazně specializovat na obranu vůči jedinému druhu parazita (Svensson-Coelho et al. 2014), a vice versa parazit tedy nemusí reagovat vlastní výraznou specializací. To by mohlo opět vést ke generalismu a menšímu množství kospecií.
- (d) Vyšší a stabilnější humidita a teplota (tedy dva abiotické faktory, kterými jsou všeny limitovány; Rai et Lakshminarayana 1980; Moyer et al. 2002a; Malenke et al. 2011) by hypoteticky mohla všenkám umožňovat přežít déle, pokud se ocitnou mimo tělo hostitele. To jim může poskytovat více příležitostí ke kolonizaci jiného hostitele. Ptakotrudky, na kterých se některé skupiny všenek přenášejí pomocí foréze, jsou navíc běžnější ve vlhčích oblastech.

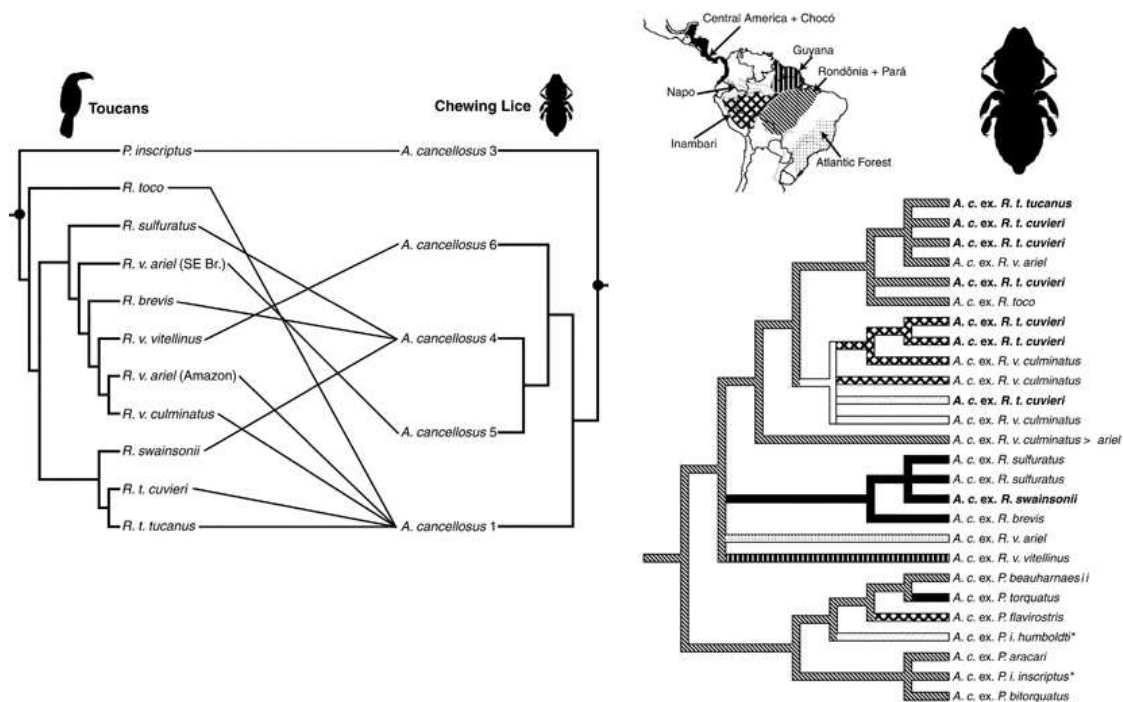
Tyto čtyři vlastnosti tropů tedy vedou k hypotéze, že u tropických všenek dochází především k hostitelským přeskokům a kospeciační události budou spíše vzácné. Proti této hypotéze nicméně hovoří jiné skutečnosti:

- (a) Tropičtí ptáci jsou obvykle dlouhověcí, každý jedinec je tedy poměrně stálým zdrojem pro mnoho generací parazita, což by mohlo (v kontrastu s malými abundancemi ptáků) podporovat specializaci parazita (Svensson-Coelho et al. 2016).
- (b) Stabilní prostředí v tropech (například absence sezonality a dlouhodobá historická kontinuita tropických ekosystémů) by mohlo umožňovat těsnější koevoluci hostitele a parazita, a tedy mít také za efekt specializaci.

Otázka, zda se směrem k rovníku zvyšuje či snižuje specializace parazitických interakcí, zůstává nezodpovězena, protože studie, které se tímto tématem doposud zabývaly, přišly s odlišnými výsledky (Beaver 1979; Schemske et al. 2009; Morris et al. 2013).

Ačkoliv všeny byly kospeciačním analýzám podrobeny mnohokrát, výsledky z tropů jsou spíše vzácné. Weckstein (2004) ukázal, že v případě jihoamerických tukanů a jejich všenek rodu *Austrophilopterus* ke kospeciím nedocházelo, naopak je jasné, že docházelo k častým hostitelským přeskokům, protože fylogeneze všenek jasně odráží biogeografii tukanů – příbuznější všeny žijí na sympatrických, nikoliv příbuznějších tukanech (obr. 6). K přeskokům v tomto případě pravděpodobně často dochází díky skutečnosti, že tukani jsou dutinová hnízdiči a hnízda po sobě přebírají mnohdy i mezidruhově. Všeny někdy v dutině

z ptáka spadají a po jeho odletu v ní mohou zůstat a kolonizovat ptáka, který dutinu převezme (Hopkins 1939; Timm 1983; Clayton 1990).



Obrázek 6: Všenky tukanů nekospeciují, jejich fylogeneze ale koreluje s biogeografií hostitelů. Převzato z Weckstein 2004 a upraveno.

Všenky druhu *Myrsidea nesomimi* ani *Brueelia galapagensis* zkoumané na drozdcích rodu *Mimus* tropického souostroví Galapágy nevykazovaly žádnou kofylogenetickou patrnost (Štefka et al. 2011). Naopak mezi všenkami druhu *Degeeriella regalis* a jejich hostitelem, kání galapážskou (*Buteo galapagoensis*) byla na stejném souostroví nalezena značná kodivergence na populační úrovni: populační struktura parazita i hostitele se shoduje (Koop et al. 2014). V případě Galapág, tedy souostroví, lze však předpokládat silnou kongruenci mezi fylogenezí parazita a hostitele především kvůli geografické izolaci.

2.7 VLASTNOSTI HOSTITELŮ OVLIVŇUJÍCÍ ÚSPĚŠNOST HOSTITELSKÝCH PŘESKOKŮ

Pro porozumění evoluci biodiverzity parazitů je klíčové chápat, jaké faktory mohou ovlivňovat jejich hostitelskou specifitu a schopnost kolonizovat nové hostitele. Je nepravděpodobné, že by k hostitelským přeskokům docházelo na zcela náhodné druhy. Paraziti jsou v kolonizacích limitováni jednak prostorově (nemohou osídlit druh, se kterým se

nesetkají), jednak z hlediska přežití na novém hostiteli. Experimenty, při nichž byly všenky přenášeny na cizí hostitele, ukázaly, že na nepřírozených hostitelích přežívají hůře (Tompkins et Clayton 1999). Na parazity je ze strany hostitele vyvíjen silný selekční tlak skrze *preening* (Clayton et al. 2015), a paraziti se tedy musí přizpůsobit svému hostiteli tak, aby na něm mohli přežít. Je tudíž pravděpodobné, že paraziti úspěšně kolonizují spíše hostitelské druhy, které se v určitých pro parazity zásadních vlastnostech podobají původním hostitelům (Røzsa 1993; Engelstaedter et Fortuna 2018). V případě všenek by relevantními hostitelskými vlastnostmi mohly být ty následující, kterými jsem se proto dále zabývala.

2.7.1 PŘÍBUZNOST HOSTITELŮ

Myšlenka, že paraziti kolonizují především druhy, které jsou příbuzné původnímu hostiteli, je poměrně intuitivní a nikterak nová. Pro její podporu existuje evidence v podobě řady výsledků přenosových experimentů i fylogenetických studií. Fylogenetická vzdálenost hostitelů by logicky měla hrát roli už proto, že příbuznější hostitelé jsou si obecně fyziologicky i behaviorálně podobnější (Engelstaedter et Fortuna 2018). U malárií melanéských ptáků parazitují vícehostitelské linie malárií na druzích, které jsou si vzájemně příbuzné, spíše, než na druzích, které jsou si ekologicky podobnější. Příbuznější linie malárií jsou na příbuznějších hostitelských druzích i přesto, že malárie nekospecují, zřejmě tedy kolonizují ptáky podle jejich fylogenetické příbuznosti (Clark and Clegg 2017).

Přenosové experimenty u savčích všenek navíc ukázaly, že schopnost přežívání na novém hostiteli se snižuje se zvyšující se fylogenetickou vzdáleností obou hostitelů (Reed et Hafner 1997).

Význam příbuznosti ptáků pro hostitelské přeskoky ilustruje také příklad parazitofauny hnízdních parazitů. Dalo by se očekávat, že kukačky, které kladou vejce do cizích hnízd, a u nichž proto k přímému kontaktu s potomstvem nedochází, budou sdílet všenky se svými hostiteli, totiž pěvci – mezi mladou kukačkou a hostitelským pěvcem totiž k fyzickému kontaktu dochází. Přesto jsou parazitofauny kukaček a jejich hostitelů až na výjimky (Lindholm et al. 1998) zcela odlišné (Atyeo et Gaud 1983; Brooke et Nakamura 1998; Balakrishnan et Sorenson 2007), což lze vysvětlit přílišnou taxonomickou vzdáleností kukaček a hostitelů, kteří jsou v tomto případě z odlišných a fylogeneticky poměrně vzdálených řádů. V případě hnízdního parazitismu v rámci jednoho řádu – vlhovců a jejich hostitelů – k přenosu parazitů mezi ptáky dochází (Hahn et al. 2000).

V rozsáhlé fylogenetické analýze komplexu *Brueelia* se už v minulosti ukázalo, že vícehostitelské a blízce příbuzné druhy bývají na příbuzných ptácích, a fylogeneze *Brueelia* tak koreluje s hostitelskými čeleděmi (Bush et al. 2015).

2.7.2 VELIKOST TĚLA

Takzvané Harrisonovo pravidlo říká, že velikost parazitů koreluje s velikostí jejich hostitelů (Harrison 1915). U všenek toto pravidlo převážně platí (Tryjanowski et al. 2007; Harnos et al. 2017), ačkoliv není platné univerzálně – to dokazuje i skutečnost, že některé všenky čeledi Ricinidae (Amblycera), které patří mezi největší všenky vůbec, parazitují kolibříky (Price et al. 2003).

V případě rodu *Brueelia* nebyla nalezena souvislost mezi fylogenezí všenek a velikostmi hostitelů (Sweet et al. 2018). Sweet et al. (2017) v jedné z kospeciačních analýz všenek a měkkozobých ptáků zkoumali, mezi kterými hostiteli pravděpodobně v minulosti došlo k hostitelským přeskokům, a pokusili se zrekonstruovat velikosti těla těchto fosilních druhů, aby ověřili, zda k přeskokům docházelo převážně mezi hostiteli podobné velikosti. V případě všenek žijících na torzu ptáků nebyla žádná souvislost s velikostí zjištěna – zdá se, že všenky kolonizovaly i ptáky výrazně odlišných velikostí než tomu bylo u původních hostitelů. Naopak u všenek žijících na letkách, pro něž je zásadní korelovat svou velikost s velikostí peří ptáka (jak bylo popsáno v kapitole 2.6), docházelo pravděpodobně k přeskokům na hostitele podobné velikosti.

Vše nasvědčuje tomu, že všenky žijící na letkách (tedy především rod *Columbicola*) jsou skutečně velikostí těla ptáka limitovány. Ukazují to i experimenty, při nichž byly tyto všenky přemístěny na ptáky odlišných velikostí, než je pro ně přirozené (Tompkins et Clayton 1999; Clayton et al. 2003b; Bush et Clayton 2006). Není však jisté, zda a do jaké míry je velikost těla hostitele zásadní i pro jiné typy všenek.

Velikost těla ptáka by mohla být pro všenky zásadní nejen kvůli velikosti peří, ale také kvůli tělesné teplotě ptáka. Tělesná teplota se u různých ptačích druhů liší a některé výsledky naznačují její souvislost mimo jiné s celkovou velikostí těla (Clarke et Rothery 2007). Všenky jsou více či méně adaptované na specifické mikroklima na povrchu ptačího těla, které zahrnuje i konkrétní teplotu (Rai et Lakshminarayana 1980; Rana et al. 2018). Přežívat na ptákovi s úplně odlišnou tělesnou teplotou pro ně tedy může být problém. Korelace mezi tělesnou teplotou a hmotností nicméně není příliš silná a fylogenetický efekt je podle všeho

mnohem zásadnější (Clarke et Rothery 2007). Teploty se navíc liší mezi jedinci různých pohlaví a různého věku (Wetmore 1921). Na různých částech ptačího těla jsou také různá mikroklimata (McCafferty et al. 2015), a tak je možné, že i pokud je teplota pro všenky limitující, všenky mohou osídlivat ptáky s odlišnými teplotami tím, že se přesunou do jiného mikrohabitatu v rámci hostitelova těla.

2.7.3 ZOBÁK

Ptačí zobák představuje pro všenky zásadní výzvu, jelikož zobákem se většina ptáků čistí od ektoparazitů (Clayton et al. 2015). Přesah horní čelisti zobáku oproti spodní negativně koreluje s abundancí všenek (Clayton and Walther 2001) a morfologie zobáku má vliv na množství všenek, což bylo ukázáno mezidruhově i mezipopulačně (Clayton et al. 2003b). Je tedy zjevné, že zobák je částí ptačího těla, která na všenky vyvíjí silný selekční tlak, a lze tedy předpokládat, že dochází ke koevoluci mezi tvarem či velikostí zobáku a morfologií či únikovou strategií všenky. Clayton et al. (1999) prováděli kontrolované experimenty, v nichž zjistili změnu velikosti těla u všenek po umělé změně tvaru zobáku. Ptáci s obzvláště dlouhými či masivními zobáky, jako jsou kolibříci či tukani, se čistí od parazitů spíše pomocí nohou (Clayton et Cotgreave 1994), což pro všenky může znamenat zcela odlišnou výzvu než únik před zobákem. Je tedy možné, že pokud se všenka dostane na ptáka se zcela jiným typem zobáku, než na jaký je adaptována, může to znemožnit její přežívání na novém hostiteli. Nabízí se nicméně také možný opačný scénář, totiž že všenky by mohly ptáky s odlišným typem zobáku kolonizovat úspěšněji, protože pták se jich nedovede tak efektivně zbavovat.

2.7.4 PŘESAHA AREÁLŮ

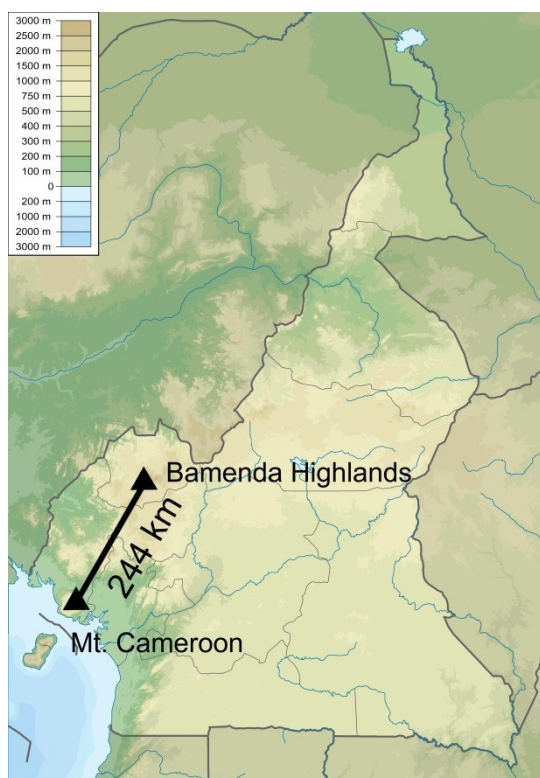
Většina všenek jsou typičtí představitelé parazitů s velmi omezenou možností pohybu. Jelikož obvykle po celý život neopouštějí hostitelského jedince, lze se domnívat, že potenciální disperze na jiné druhy ptáků je velmi omezena prostorovou blízkostí hostitelských druhů. Podle Claytona et al. (2004) je disperze pro hostitelské přeskoky všenek více limitující než adaptace. Všenky australských měkkozobých ptáků v minulosti kolonizovaly převážně ptáky, jejichž areály přesahovaly do areálů rozšíření původního hostitele (Sweet et al. 2017) a počítačové simulace hostitelských přeskoků naznačují, že v případě, kdy dochází ke

kolonizaci fylogeneticky vzdálených hostitelů, děje se tak obvykle v jejich sympatrii (de Vienne et al. 2007).

Co se týče pohyblivosti, výjimkou jsou některé skupiny všenek využívající foréze na ptakotrudkách, mezi něž patří právě i *Brueelia* komplex. Foréze zřejmě skutečně hraje v případě kospecií a hostitelských přeskoků významnou roli: v případě foretických všenek měkkozobých ptáků dochází k hostitelským přeskokům podstatně častěji v oblastech, kde se vyskytují ptakotrudky, než v oblastech, kde tento hmyz není (Harbison et Clayton 2011).

2.8 STUDOVANÉ LOKALITY: MT. CAMEROON A BAMENDA HIGHLANDS

Tropickou oblastí, kterou se zabývá tato práce, jsou hory západního Kamerunu: nejvyšší hora západní Afriky Mt. Cameroon (Kamerunská hora) a pohoří Bamenda Highlands. Jedná se o hory, které jsou součástí středoafriického vulkanického pásma a Mt. Cameroon je stále činnou sopkou – za posledních sto let zde došlo k sedmi erupcím, naposledy v roce 2000.



Obrázek 7: Mapa s vyznačenými lokalitami výzkumu. Obě lokality jsou od sebe vzdáleny přes 240 km. Zdroj: Wikimedia Commons, upraveno.

Zmíněné hory představují případ takzvaných “*sky islands*”, tedy “ostrovů” reprezentovaných vrcholky hor, které jsou odděleny “mořem” nížiny. Pro horské ptáky tak nížina mezi oběma lokalitami (které jsou od sebe vzdušnou čarou vzdáleny kolem 240 km, viz obr. 7) představuje geografickou bariéru. Přestože se tato práce nezabývá problematikou *sky islands*, ale asociacemi parazitů a hostitelů ve fylogenetickém měřítku, zohledňuje tuto geografickou situaci ze dvou důvodů: (i) u druhů všenek, které žijí na obou lokalitách, je vhodné ověřit, že se nejedná o kryptické druhy a tedy že speciace parazitů nejsou lokální záležitostí, a (ii) studiem vnitrodruhové populační struktury zkoumaných skupin parazitů lze porovnat jejich schopnost disperze.

Na obou lokalitách byli ptáci chytáni ve

stejném biotopu, totiž v pralese. Na Mt. Cameroon, stejně jako na Bamenda Highlands se lze setkat jak s globálněji rozšířenými pěvci, tak s endemity (Borrow et Demey 2014).

Všenky centrální Afriky jsou zatím v podstatě neznámé. Zásadní zásluhu na jejich poznání má Tendeiro, který některé druhy popsal na základě morfologie (e.g. Tendeiro 1959; Tendeiro 1965) a dvě studie (Voelker et al. 2013; Light et al. 2016), které dodaly molekulární data k několika dalším druhům všenek. Je nicméně jasné, že většina diverzity je nám doposud skryta a teprve ji postupně odkrýváme (Light et al. 2016). Vzhledem ke kombinaci vysokého podílu endemismu na kamerunských horách, drastickému ničení pralesů v Kamerunu a vysoké hostitelské specifitě všenek lze očekávat, že mnohé druhy jak ptáků, tak jejich parazitů z této oblasti by mohly brzy patřit mezi vyhynulé.

3 CÍLE PRÁCE

Hlavním cílem této práce bylo doplnit poznatky o míře kospecií všenek a ptáků o data z tropického prostředí.

Poté, co se ukázalo, že u zkoumaných všenek jsou hostitelské přeskoky častější než kospeciace, pojala jsem to jako příležitost zabývat se kolonizací nových hostitelů hlouběji, a rozšířila jsem proto práci o hledání odpovědi na otázku, s jakými hostitelskými vlastnostmi úspěšnost hostitelských přeskoků souvisí.

4 METODIKA

4.1 TERÉNNÍ SBĚR VZORKŮ

Vzorky (příloha 2) byly nasbírány Pavlem Munclingerem během tří cest do Kamerunu na dvou lokalitách: na Kamerunské hoře (listopad 2013 a listopad až prosinec 2014) a na Bamenda highlands (únor 2016). V obou případech byly sbírány v různých nadmořských výškách: 350, 700 a 2200 m n. m. na Mt. Cameroon a 1900, 2000 a 2200 m n. m. v Bamenda Highlands. Ptáci pochytní do sítí byli určeni pomocí Borrow et Demey (2004) a byla jim odebrána krev.

Ektoparaziti byli z ptáků odebráni nejprve pinzetou při vizuální prohlídce hlavy a křídel. Pro získání ektoparazitů ze zbylých částí ptačího těla byla použita tzv. vytřepávací metoda (*fumigation chamber method*; Clayton and Drown 2001; obr. 8): každý pták byl na 10 minut vložen do nádoby s mikrotenovým sáčkem, na jehož dno byl vložen kus vaty napuštěný chloroformem. Ptáci měli při této proceduře hlavu bezpečně vně nádoby díky límci, který měli upevněný kolem krku, aby do nádoby nepropadli. Ektoparaziti, kteří spadali do nádoby, byli následně sesbíráni a uloženi do 98% ethanolu.

4.2 GENETICKÁ ANALÝZA

4.2.1 IZOLACE DNA

Pro každou hostitelsko-parazitickou asociaci byl pro izolaci DNA vybrán jeden jedinec. Výjimkou byly všenký, které byly nasbírány na obou zkoumaných lokalitách – v jejich případě byla izolována DNA ze všech nasbíraných jedinců, aby mohla být provedena analýza na populační úrovni.



Obrázek 8: Sběr ptačích ektoparazitů pomocí vytřepávací metody. Autor fotografie: Pavel Munclinger

DNA ze všenek byla izolována s ohledem na zachování morfologických znaků pro pozdější taxonomický popis. Aby nebyly exoskelety (a tedy i případné taxonomicky významné znaky) všenek příliš porušeny, každý jedinec byl pouze propíchnut entomologickým špendlíkem v oblasti abdominu a poté lyzován při 56 °C v roztoku proteinázy K po 36 hodin. Prázdné exoskelety, jejichž obsah byl takto zlyzován, byly následně odebrány a uloženy k pozdějšímu popisu. Lyzát byl dále použit k extrakci DNA pomocí QUIAGEN DNeasy Blood & Tissue Kit dle protokolu výrobce.

Z ptačí krve byla DNA izolována pomocí QUIAGEN DNeasy Blood & Tissue Kit dle protokolu výrobce.

4.2.2 AMPLIFIKACE A SEKVENACE POŽADOVANÝCH ÚSEKŮ DNA

Pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR) byly z extrahované DNA všenek amplifikovány úseky genů pro cytochrom oxidázu I (COI; 379 bp), *wingless* (385 bp) a 18S rRNA (cca 557 bp). Pro *Myrsidea* spp. byl navíc amplifikován úsek genu pro *elongation factor 1 alpha* (EF1 α ; 347 bp), zatímco pro *Brueelia* komplex byl amplifikován lokus “hyp” (386 bp). Použité primery jsou vypsány v tabulce 1.

PCR byla pro každý vzorek a pár primerů prováděna v celkovém objemu 12,5 μ l: 0,5 μ l DNA, 0,5 μ l každého primeru, 5 μ l sterilní vody a 6 μ l PPP MasterMix. Amplifikace byla zahájena 1 minutou denaturace při 94 °C. Následovalo 35 cyklů zahrnujících 30 sekund dlouhou denaturaci při 92 °C, 40 sekund dlouhé nasedání primerů (*annealing*) při 54 °C a 90 sekund dlouhou elongaci při 65 °C.

V případě některých vzorků *Brueelia* nebylo opakovaně možné provést úspěšnou PCR reakci genu pro 18S rRNA. Na základě alignmentu sekvencí ostatních *Brueelia* byl proto navržen alternativní *forward* primer Ns-Bru-F, který byl následně použit v kombinaci s původním *reverse* primerem Ns2a. Přestože tak byla celková délka amplifikovaného úseku zkrácena, nijak nebyla zasažena informativní část sekvence, nýbrž jen část bez jakékoliv variability. Podobný problém se vyskytl při amplifikaci *wingless* některých *Myrsidea*. Byl proto navržen další alternativní *forward* primer, Wg-Myr-F. Jeho použití v kombinaci s originálním *reverse* primerem výslednou sekvencí lehce zkrátilo.

Z ptačí DNA byl PCR amplifikován 781 bp dlouhý úsek RAG. Objemy PCR směsi byly stejné jako při amplifikaci DNA všenek, průběh samotné PCR se však lišil. Amplifikace ptačí DNA byla zahájena 4 minutami denaturace při 94 °C následovanými 35 cykly o 30 sekundách

denaturace při 94 °C, 30 sekundách nasedání primerů při 55 °C a minutovou elongací při 72 °C. Amplifikace byla zakončena třemi minutami dlouhou finální elongací při 72 °C (Svensson-Coelho 2012).

Tabulka 1: Primery použité při PCR.

	primer	sekvence primeru (5' – 3')	zdroj
lokus			
COI	L6625	CCGGATCCTTYTGRTTYTTYGGNCAYCC	Hafner et al. 1994
	H7005	CCGGATCCACNACRTARTANGTRTCRTG	Hafner et al. 1994
wingless	Lep-wg1a	GARTGYAARTGYCAYGGYATGTCTGG	Danforth et al. 2004
	Lep-wg2a	ACTICGCARCACCARTGGAATGTRCA	Danforth et al. 2004
	Wg-Myr-F	ATGTCTGGRTCTTGCACGGTGAARAC	navrženo autorkou
Ns	Ns1	GTAGTCATATGCTTGTCTC	Barker et al. 2003
	Ns2a	CGCGGCTGCTGGCACCAGACTTGC	Barker et al. 2003
	Ns-Bru-F	TGCATGTCTCAGTGCAAGCCGAAT	navrženo autorkou
hyp	BR50-181L	CTTGARCAATTRCAGAAAAAAGC	Sweet et al. 2014
	BR50-621R	GGRTTTTCWGGAGAYCTCATCC	Sweet et al. 2014
EF1α	EF1-For3	GGNGACAAAYGTTGGYTTCAACG	Danforth et Ji 1998
	Cho10	ACRGCVACKGYTGHCKCATGTC	Danforth et Ji 1998
RAG	RAG-1F	GCAAKAATAYACATCTCAGYACCAMG	Svensson-Coelho 2012
	RAG-1R	GCTGYATCATATCGRAATCTCTTYGC	Svensson-Coelho 2012

Před sekvenací byl každý PCR produkt zkontrolován na agarózovém gelu a následně přečištěn pomocí CleanSweep. V případě, že se na gelu ukázala přítomnost více různých PCR produktů z jedné PCR reakce, byl produkt o správné délce vyříznut sterilním skalpelem a extrahován přímo z gelu pomocí Zymoclean Gel DNA Recovery Kit. Ve dvou případech agarózová elektroforéza ukazovala pouze jediný produkt o jedné délce, nicméně sekvence vykazovaly dva různé překrývající se signály (došlo tedy nejspíše ke kontaminaci jiným vzorkem všanky) – v těchto případech byl vzorek rozklonován do kompetentních *Escherichia coli* pomocí pGEM®-T Vector Systems kitu a jednotlivé klony byly osekvenovány, přičemž žádoucí klon byl určen porovnáním sekvence s již známými sekvencemi všenek a použit.

Obě vlákna purifikovaných PCR produktů byla následně sekvenována na kapilárovém sekvenátoru v Laboratoři sekvenace DNA biologické sekce PřF UK. Chromatogramy získaných sekvencí byly vizuálně zkontrolovány a v případě nejasností byla sekvenace opakována. Sekvence byly odeslány do databáze GenBank a jejich zpracování do databáze probíhá.

4.3 GENETICKÁ ANALÝZA POPULAČNÍ STRUKTURY

Pro druhy *Brueelia* i *Myrsidea*, které byly nasbírány na obou lokalitách - Bamenda Highlands i Mt. Cameroon - byly osekvenováni všichni nasbíraní jedinci na jeden mitochondriální (COI) i jeden jaderný (wingless) gen a byly zrekonstruovány haplotypové sítě barvou rozlišující obě lokality pomocí PopArt (Leigh and Bryant, 2015). Takto analyzovanými druhy byly *Brueelia* z *Arizelocichla tephrolaema*, *Cinnyris reichenowi*, *Cryptospiza reichenovii*, *Estrilda nonnula* a *Linurgus olivaceus* a *Myrsidea* z *Cryptospiza reichenovii*.

4.4 ALIGNMENT A REKONSTRUKCE FYLOGENEZÍ

Pro rekonstrukci fylogenezí byla z datasetu vyřazena *Myrsidea* z *Dicrurus atripennis* a *Brueelia* z *Buccanodon duchaillui*. V prvním případě bylo totiž vysoké podezření na to, že se nejedná o skutečnou hostitelsko-parazitickou asociaci, nýbrž o kontaminaci: *Myrsidea* byla z tohoto hostitele nalezena pouze v jediném exempláři a všechny s identickou COI i wingless sekvencí byly v terénu nasbírány z ptáků vzorkovaných těsně před zmíněným jedincem *Dicrurus atripennis*. V případě *Brueelia* z *Buccanodon duchaillui* nebyla asociace s hostitelem zahrnuta do analýz, protože hostitel (šplhavec) byl z úplně odlišné skupiny hostitelů, než která byla zkoumána.

Alignment všech genů sekvenovaných u všenek byl proveden pomocí MAFFT (Katoh et Standley 2013). V případě sekvencí genu pro 18S rRNA, jehož sekvence byly jediné, u nichž nebyl kvůli různým délkám sekvencí správný alignment jasný, byla softwarem při tvorbě alignmentu brána v potaz sekundární struktura molekuly. Alignments všech čtyř genů pro každý rod všenek byly následně spojeny do složeného alignmentu (*concatenated alignment*) pomocí programu Geneious (Kearse et al. 2012). Složené alignmenty byly podrobeny ILD testu v PAUP* (Swofford 1998), aby bylo ověřeno, že fylogenetické signály mezi jednotlivými lokusy nejsou v konfliktu.

Následně byl pomocí PartitionFinder 1.1.1 (Lanfear et al. 2012) celý spojený alignment podroben vyhledání nejvhodnějších evolučních modelů (tab. 2) pro jeho jednotlivé části: pro každý lokus a pro první, druhou i třetí pozici každého tripletu zvlášť (s výjimkou genu pro 18S rRNA, u něhož tripletu nemají žádný význam).

Tabulka 2: Modely použité pro jednotlivé části alignmentu.

Část alignmentu	model
<i>Myrsidea</i>	
COI 1. pozice	HKY+I+G
COI 2. pozice	GTR+G
COI 3. pozice	K80+I+G
18S rRNA	
EF1 α 3. pozice	
wingless 1. pozice	HKY+G
EF1 α 2. pozice	
EF1 α 1. pozice	JC
wingless 2. pozice	
wingless3. pozice	
Část alignmentu	
<i>Brueelia a Sturnidoecus</i>	
COI 1. pozice	HKY+I+G
COI 2. pozice	GTR+G
hyp 2. pozice	
COI 3. pozice	SYM+I
wingless 2. pozice	
wingless 3. pozice	
18S rRNA	
wingless 1. pozice	HKY+G
hyp 1. pozice	HKY
hyp 2. pozice	HKY+G

Jako *outgroup* pro rod *Myrsidea* byl zvolen zástupce rodu *Ricinus* (Amblycera) a jako *outgroup* pro komplex *Brueelia* byl zvolen zástupce rodu *Phlopterooides* (Ischnocera). Pro oba zástupce byly osekvenovány stejné čtyři lokusy jako pro ostatní všeny zahrnuté do analýzy.

Fylogenetická analýza byla provedena pomocí dvou metod: bayesiánská analýza pomocí MrBayes v3.2.6 (Huelsenbeck and Ronquist 2001; Ronquist et Huelsenbeck 2003) a *maximum likelihood* analýza přes RAxML 8.2.10 (Stamatakis 2014).

V MrBayes analýze byly použity modely nalezené pro jednotlivé části alignmentu přes PartitionFinder. Analýza byla provedena nezávisle dvakrát, pokaždé probíhala po 2 000 000 generací se dvěma řetězci. Nastavení distribucí apriorních pravděpodobností bylo ponecháno výchozí. Byly použity stromy získané každých 100 generací. Po ukončení každé analýzy bylo prvních 25 % stromů z výsledku odstraněno jako *burn-in*. Oba běhy analýzy vyústily ve stromy se stejnou topologií a téměř identickými podporami.

V *maximum likelihood* analýze byl použit *General Time Reversible* model z gamma distribucí (GTRGAMMA model) a pro ověření podpory jednotlivých větvení bylo generováno 1000 bootstrapů.

Fylogenetické stromy ptáků byly vytvořeny spojením 2 500 stromů (Rubolini et al. 2015) stažených z BirdTree databáze (www.birdtree.org) na základě Ericsona et al. (2006) a porovnány s aktuální fylogenezí pěvců publikovanou Selvatti et al. (2015) a s neustále aktualizovaným checklistem www.jboyd.net/Taxo/List.html. Oproti fylogenezi generované z BirdTree došlo v obou pěvčích fylogenezích, které byly v analýzách použity, k posunu taxonu *Kakamega poliothorax* (Modulatricidae) dle aktuálnějších poznatků.

4.5 KODIVERGENČNÍ ANALÝZY

Kofylogenetická historie byla rekonstruována pomocí software Jane 4 (Conow et al. 2010). Jane ukládá jednotlivým událostem, které se v kofylogenetickém systému mohou vyskytnout (kospeciace, hostitelský přeskok, *failure to speciate*, *sorting event*, duplikace linie parazita), různé “ceny” (*costs*) podle pravděpodobnosti, s jakou je očekáváno, že se mohou odehrát, a následně z různých scénářů vysvětlujících současné fylogeneze hostitelů i parazitů a jejich asociace vybírá ty, které mají nejnižší cenu, čili jsou nejparsimonnější. Jedna analýza byla spouštěna pro *Myrsidea* a jejich hostitele a dvě analýzy (kvůli dvěma rozdílným topologiím výsledků fylogenetických analýz) pro *Brueelia* komplex a jejich hostitele.

Ceny pro jednotlivé události v obou analýzách byly ponechány tak, jak jsou v programu přednastaveny:

kospeciace	0
duplikace	1
hostitelský přeskok	2
<i>sorting events</i>	1
<i>failure to speciate</i>	1

Všechny analýzy byly spuštěny po 30 generací při populační velikosti 1300. Zda je či není cena optimálního výsledku signifikantně nízká, bylo zjištěno jeho porovnáním s cenami 999 náhodně permutovaných vzorků.

K vizualizaci výsledku kospeciálních analýz formou tanglegramů (schémat znázorňujících hostitelskou a parazitickou fylogenezi a asociace jednotlivých druhů) byl použit software TreeMap 3 (Charleston 2011).

Časový aspekt (čili to, zda potenciální kospeciace skutečně proběhly u ptáků i všenek ve stejné době) nebylo možno zahrnout kvůli absenci kalibračních dat pro molekulární hodiny.

Dále byl s pomocí balíčků ape (Paradis et al. 2004) a VEGAN (Dixon 2003) použit R skript PACo (Balbuena et al. 2013) k odhadu kodivergence prokrustovskou analýzou na základě porovnání distančních matic parazitů a hostitelů. Kromě odhadu celkové kodivergence PACo analyzuje, nakolik konkrétní hostitelsko-parazitické interakce k celkové kodivergenci přispívají.

PACo využívá matici hostitelsko-parazitických asociací a distanční matice pro hostitele a pro parazity vypočítané z fylogenetických stromů. Jelikož pro tvorbu distanční matice je v PACo nutné znát délky větví fylogenetického stromu, byl z analýz vyloučen druh *Kakamega poliothorax* a jeho všenky, protože kvůli manuálnímu přesunu tohoto taxonu v rámci stromu nebyla známa délka jeho větve. Distanční matice PACo přetransformuje do matic hlavních koordinát a počítá míru, do jaké parazitická matice sedí na matici hostitelskou – tato míra je kvantifikována jako m^2_{XY} . Randomizací 100 000 náhodných vzorků a porovnáním jejich m^2_{XY} s výslednými hodnotami analýz bylo zjištěno, zda je nalezená míra kodivergence signifikantně vysoká. Jako hladina průkaznosti byla určena hodnota 0,05.

4.6 VÝPOČET GENETICKÝCH DISTANCÍ A ODLIŠNOSTÍ HOSTITELŮ

Pro statistickou analýzu efektu vybraných vlastností hostitelů na příbuznost parazitů byla sesbírána data o hostitelích a vypočítány mezidruhové rozdíly těchto vlastností. Zkoumanými morfologickými vlastnostmi byly hmotnost těla, délka zobáku a tvar zobáku (příloha 3).

Tělesná hmotnost byla pro každý druh hostitele počítána jako průměrná hodnota hmotností všech ptáků daného druhu nachytných v Kamerunu mezi lety 2012 a 2016. Délky zobáků byly vypočítány jako průměrná hodnota délek zobáků ze stejného datasetu, přičemž měřena byla délka od špičky zobáku po čelní opeření. Jako tvar zobáku byl použit poměr mezi zmíněnou délkou zobáku a jeho výškou měřenou u čelního opeření. V případě druhů *Arizelocichla montana*, *Kakamega poliothorax*, *Nesocharis shelleyi* a *Bradypterus bangwaensis* chyběly v terénu naměřené údaje o výšce zobáku, a tak byl poměr výšky a délky naměřen z ilustrací v Borrow et Demey (2014).

Dále byly použity informace o sympatrii jednotlivých párů hostitelských druhů (zda oba druhy žijí na stejné lokalitě s překryvem nadmořské výšky; příloha 4) a jejich syntopii (zda oba druhy využívají alespoň jedno stejné patro lesa: *ground* – při zemi, *low* – nízké, *middle* – střední, *high* – vysoké a *canopy* – koruny nejvyšších stromů).

Párové genetické distance parazitů byly počítány ze sekvencí genu *wingless*, genetické distance hostitelů ze sekvencí *RAG*, v obou případech tedy byl použit jaderný lokus s podobnou substituční rychlostí. Genetické distance ptáků i všenek byly počítány v programu MEGA (Tamura et al. 2013) za použití Kimurova dvouparametrického modelu s gamma distribucí (K2P GAMMA). Pro jednotlivé vlastnosti byly vypočítány párové rozdíly pro každou dvojici hostitelů. Překryv v areálu rozšíření a využívaných habitatů byl kódován jako 1 a 0.

4.7 STATISTICKÁ ANALÝZA EFEKTU VLASTNOSTÍ HOSTITELŮ

Pro zjištění efektu jednotlivých vlastností hostitelů na příbuznost všenek, byla data genetických distancí a odlišností hostitelů v R 3.5.1 (R Core Team 2018) použita v lineárním modelu. Protože některé proměnné měly silně zešikmené rozložení, byla provedena jejich transformace logaritmem či druhou odmocninou. Použitá data byla párová, a tudíž z principu nezávislá, byl proto použit smíšený model, v němž fixními efekty byly genetické distance,

rozdíly v hmotnosti těla, délce a tvaru zobáků hostitelů, zatímco náhodnými efekty byl jeden i druhý hostitelský druh v páru. Celkový model tedy vypadal takto:

$$\text{distance parazitů} \sim \text{distance hostitelů} + \text{rozdíly hmotností} + \text{rozdíly délek zobáků} + \text{rozdíly tvaru zobáků} + \text{sympatrie} + \text{syntopie} + (1|\text{hostitel1}) + (1|\text{hostitel2})$$

K provedení lineární regrese smíšeného modelu byla použita funkce lmer v balíčku lme4 (Bates et al. 2015). Původní plný model byl zredukován na nejvíce informativní proměnné pomocí funkce step v balíčku lmerTest (Kuznetsova et al. 2016). Signifikance efektů (zvolená hladina průkaznosti byla 0.05) byla analyzována pomocí klasické metody ANOVA a také pomocí ANOVA II. typu v balíčku car (Fox et Weisberg 2011).

5 VÝSLEDKY

5.1 HOSTITELSKÁ SPECIFITA VŠENEK

Navzdory dosavadním poznatkům o tom, že zástupci rodu *Myrsidea* jsou výrazně hostitelsky specifičtí (Price et al. 2003; Bueter et al. 2009), byly 3 ze 14 druhů (tj. 21 %) v našem vzorku dvouhostitelské. Lze přitom očekávat, že pokud by se nachytalo více parazitovaných ptáků, tento počet by se ještě zvýšil, protože mnohé hostitelsko-parazitické asociace jistě nebyly v našem vzorku zachyceny (jak poukazují Coddington et al. 2009, obzvlášť v tropech je třeba opravdu důkladného vzorkování pro podchycení většiny druhů zájmové skupiny). Ve dvou případech byly všenky stejného druhu nalezeny na dvou druzích ptáků ze stejné čeledi (jeden druh všenky na *Platysteira cyanea* a *Cryptospiza reichenovii*, jiný druh na *Phyllastrephus icterinus* a *Bleda notatus*), v jednom případě na ptácích z odlišných čeledí (*Terpsiphone rufiventer* a *Stiphronis erythrothorax*).

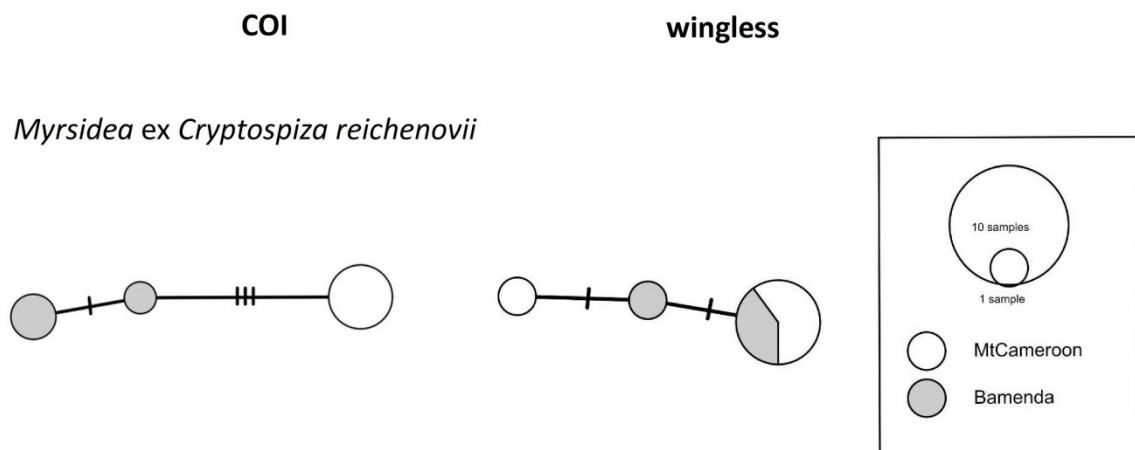
V případě rodu *Brueelia*, o němž je známo, že není tolik hostitelsky specifický, bylo dle očekávání nalezeno mnohem více vícehostitelských parazitů. Z 15 druhů bylo 6 (tj. 40 %) dvouhostitelských. Pouze ve dvou případech byl stejný druh všenky nalezen na ptácích ze stejné čeledi (jeden z *Linurgus olivaceus* a *Crithagra burtoni*, druhý z *Arizelocichla tephrolaema* a *Arizelocichla montana*), zbylé případy se vždy týkaly pěvců z různých čeledí (v jednom případě *Cinnyris reichenowi* a *Cossypha isabellae*, v dalším *Cisticola chubbi* a *Laniarius atroflavus* a v dalším *Estrilda nonnula* a *Euplectes capensis*), v jednom případě dokonce ptáků z různých řádů (pěvce *Bradypterus bangwaensis* a šplhavce *Buccanodon duchaillui*). Hostitelská specifita je tedy dle předpokladu nižší u komplexu *Brueelia*, a to i z hlediska fylospecifity (tedy hostitelské specifity zohledňující nejen počet hostitelských druhů, ale i jejich fylogenetickou příbuznost; Poulin et al. 2011).

V případě všenek jiných rodů než *Brueelia* a *Myrsidea* stojí za zmínku neočekávaný nález případu asociace všenky rodu *Alcedoffula* na bulbulovi *Eurillas latirostris*. Tento rod všenek je totiž typický pro ledňáčky. Nelze vyloučit, že se jedná o kontaminaci, nicméně Light et al. (2016) zmiňují nález zástupce *Alcedoffula* na bulbulovi *Criniger calurus* z Konžské pánve. Je tedy možné (ač nejisté), že došlo k rozšíření hostitelského spektra *Alcedoffula* z ledňáček na bulbuly či další pěvce. Další podobné nálezy by tuto domněnku mohly potvrdit.

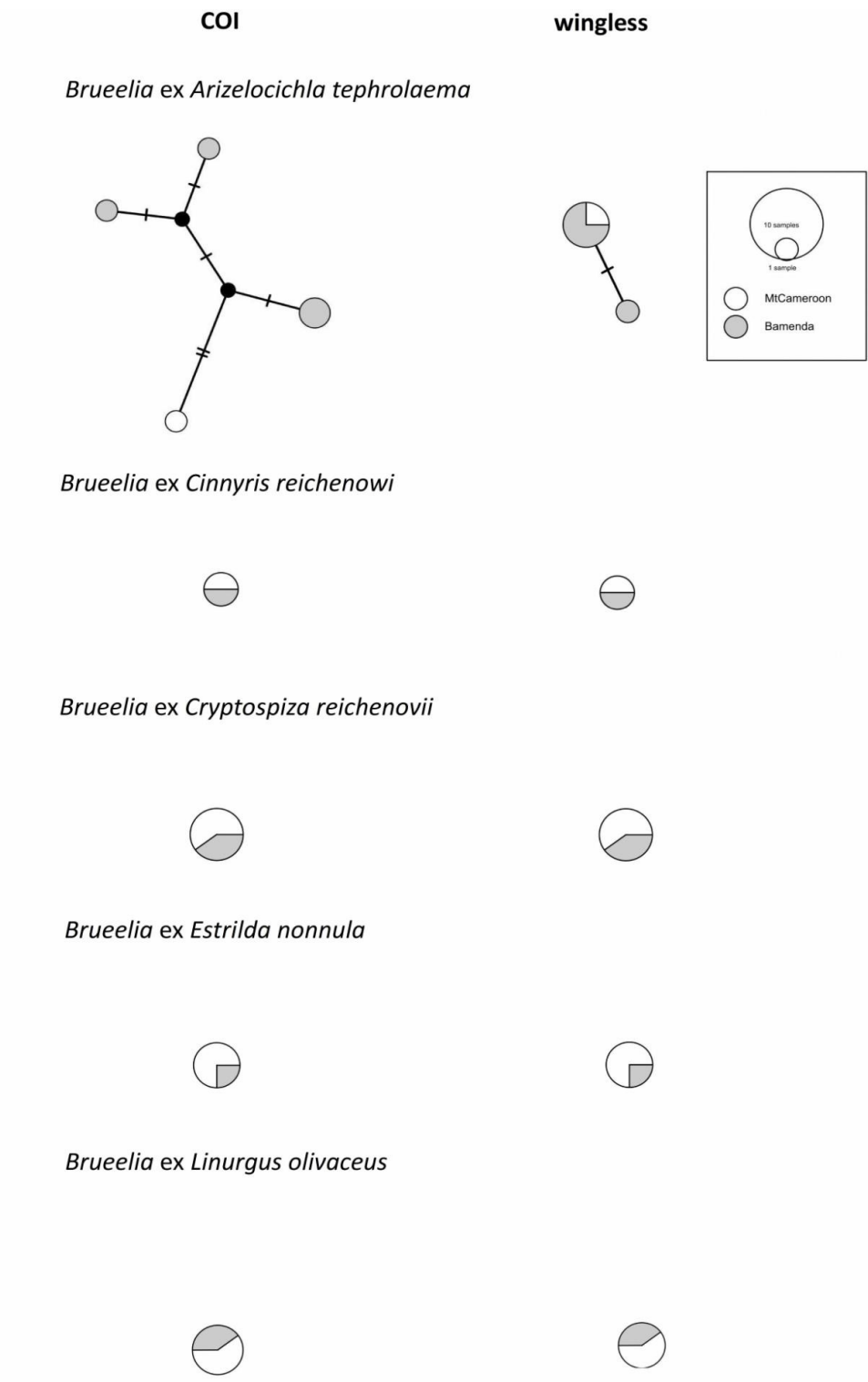
5.2 POPULAČNÍ STRUKTURA PARAZITŮ NA RŮZNÝCH LOKALITÁCH

Pro téměř každý druh komplexu *Brueelia*, který byl zkoumán na populační úrovni, byl nalezen jediný haplotyp sdílený na obou přes 240 km vzdálených lokalitách (obr. 10), což naznačuje udržovaný genový tok mezi oběma izolovanými oblastmi. Výjimkou je *Brueelia* z *Arizelocichla tephrolaemus*, která vykazuje populační strukturu.

Jediný zkoumaný druh *Myrsidea* z *Cryptospiza reichenovii* (obr. 9) také vykazuje separované haplotypy na obou lokalitách. Jedná se přitom o parazity stejného druhu hostitele, na němž *Brueelia* oddělené haplotypy nemá, takže genový tok zřejmě není udržován migracemi hostitele.



Obrázek 9: Haplotypové sítě *Myrsidea* vykazují populační strukturu mezi oběma lokalitami. Jednotlivá kolečka představují haplotypy, barvy rozlišují obě zkoumané lokality. Čárky kolmé na spojnice haplotypů představují jednotlivé mutace mezi haplotypy.

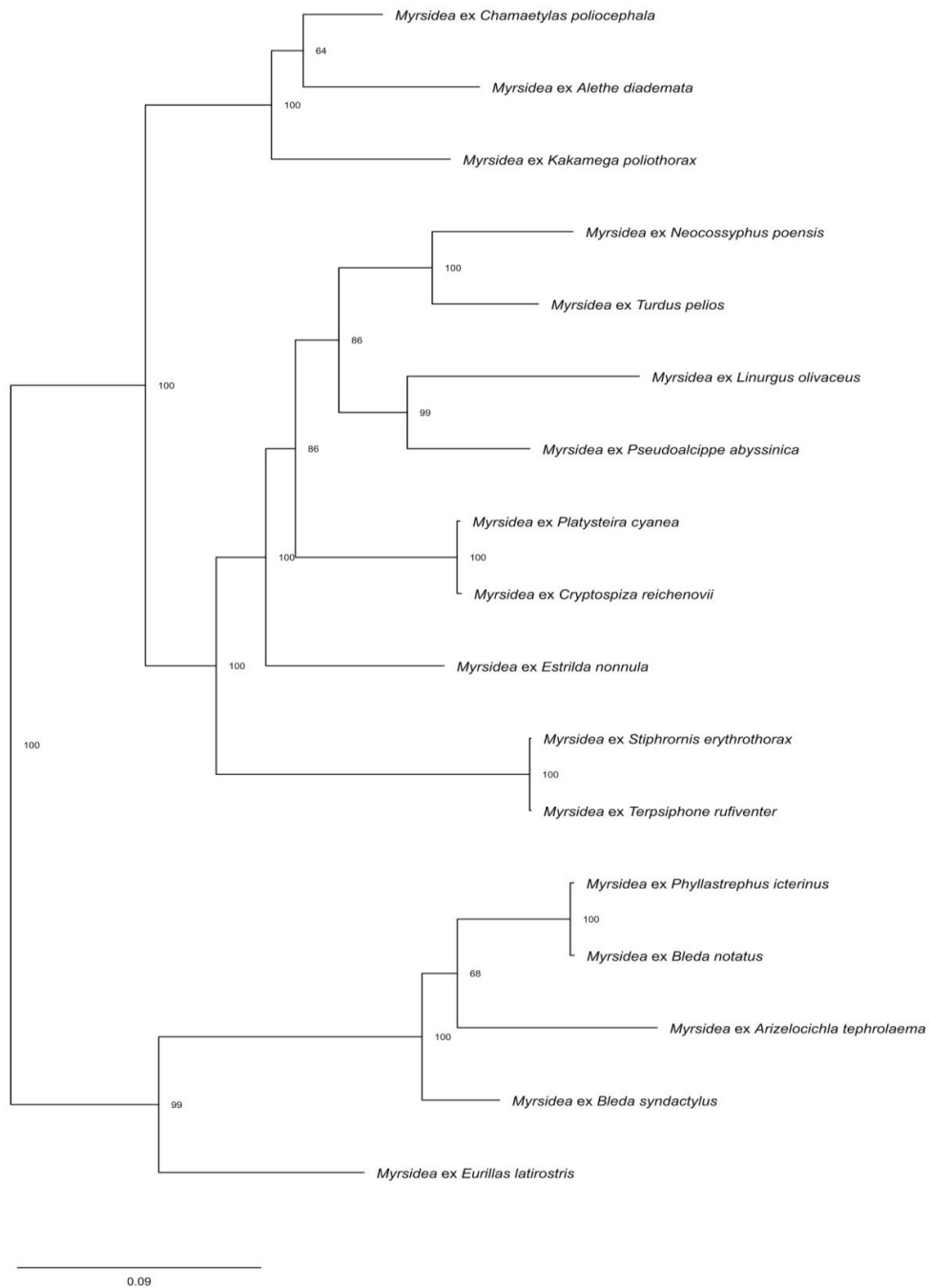


Obrázek 10: Haplotypy *Brueelia* jsou zcela totožné i na obou "sky islands". Výjimkou je *Brueelia z Arizelocichla tephrolaema*, která vykazuje populační strukturu. Jednotlivá kolečka představují haplotypy, barvy rozlišují obě zkoumané lokality. Čárky kolmé na spojnice haplotypů představují jednotlivé mutace mezi haplotypy.

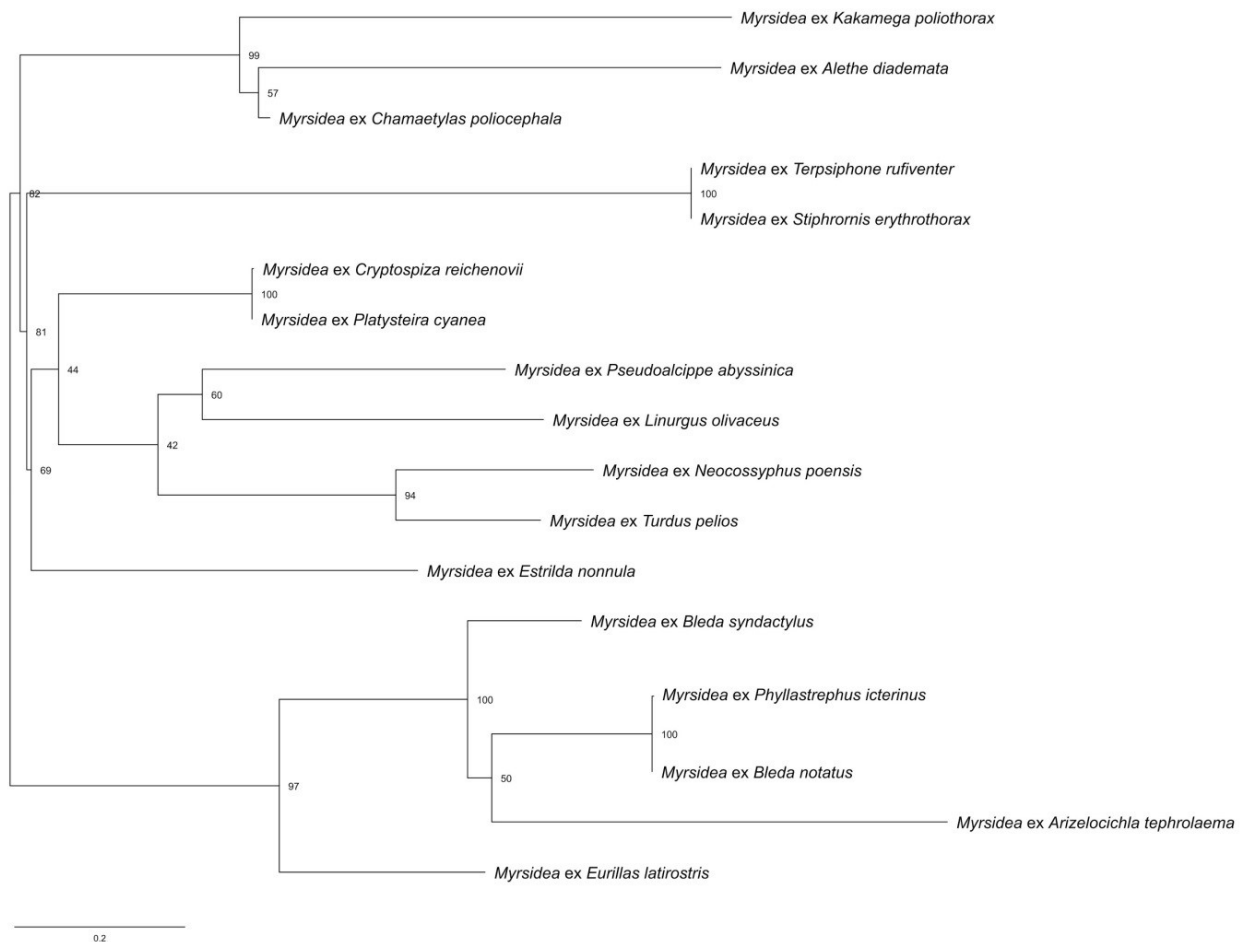
5.3 FYLOGENEZE VŠENEK

5.3.1 MYRSIDEA SPP.

Výsledky bayesiánské (obr. 11) i *maximum likelihood* (obr. 12) fylogenetických analýz vedly k identickým topologiím s podobnými podporami.



Obrázek 11: Fylogenetický strom *Myrsidea* vygenerovaný MrBayes. Uvedené podpory jsou *posterior probability*.

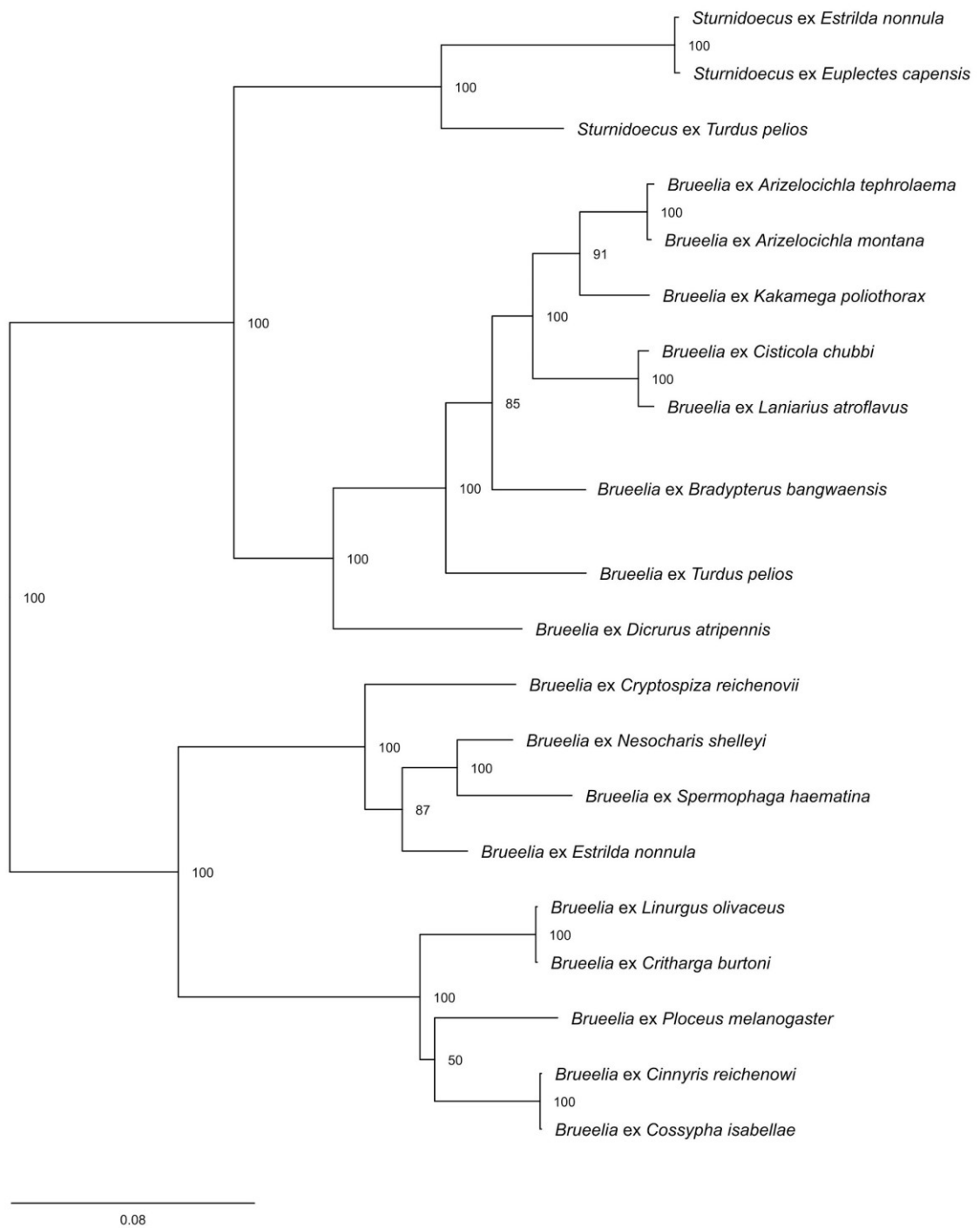


Obrázek 12: Fylogenetický strom *Myrsidea* rekonstruovaný metodou *maximum likelihood*. Uvedeny jsou podpory na základě 1000 bootstrapů.

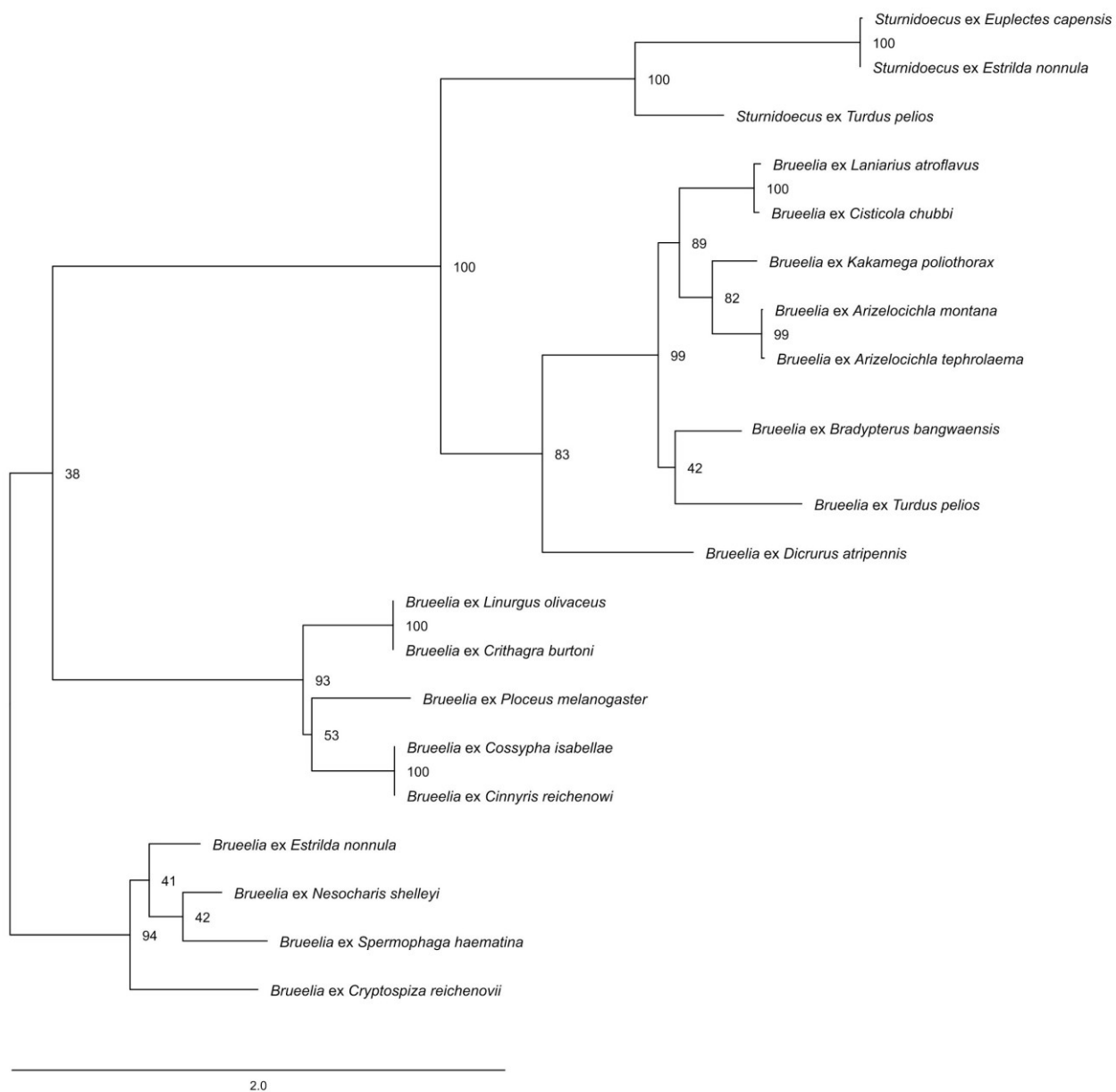
5.3.2 BRUEELIA KOMPLEX

Maximum likelihood (obr. 13) i bayesiánská fylogeneze (obr. 14) *Brueelia* komplexu se lišila postavením kládu všenek z astrildů. Protože v případě bayesiánské analýzy bylo toto postavení podpořeno maximálními podporami, byl v kospeciačních analýzách použit tento výsledek jako pravděpodobnější, nicméně zanalyzovány byly obě varianty topologií.

V obou případech výsledných fylogenezí je zřejmé, že rod *Sturnidoecus* je skutečně vnitřní skupinou rodu *Brueelia* (Bush et al. 2015).



Obrázek 13: Fylogenetický strom *Brueelia* komplexu vygenerovaný MrBayes. Uvedené podpory jsou *posterior probability*.



Obrázek 14: Fylogenetický strom *Brueelia* komplexu rekonstruovaný metodou *maximum likelihood*. Uvedeny jsou podpory na základě 1000 bootstrapů.

5.4 KODIVERGENČNÍ ANALÝZY

5.4.1 MYRSIDEA SPP.

Kospeciální analýza pro *Myrsidea* a jejich hostitele vycházející z pravděpodobností různých událostí ukázala jako nejparsimonnější scénář evoluce sestavu následujících událostí (obr. 15 – 16):

5 kospeciací

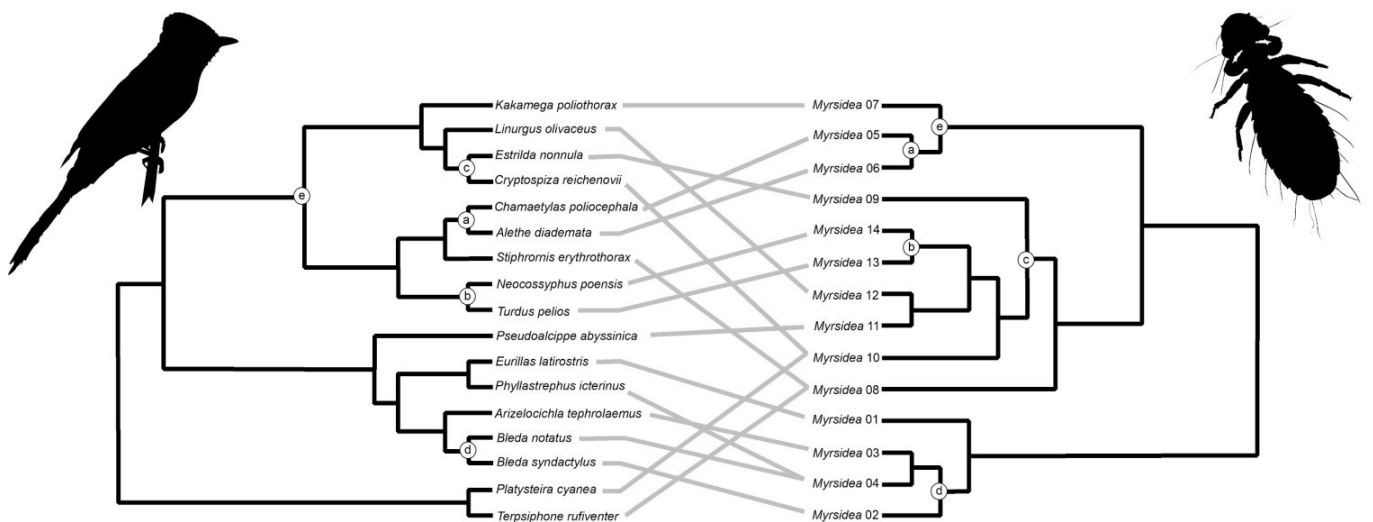
3 duplikace

5 hostitelských přeskoků

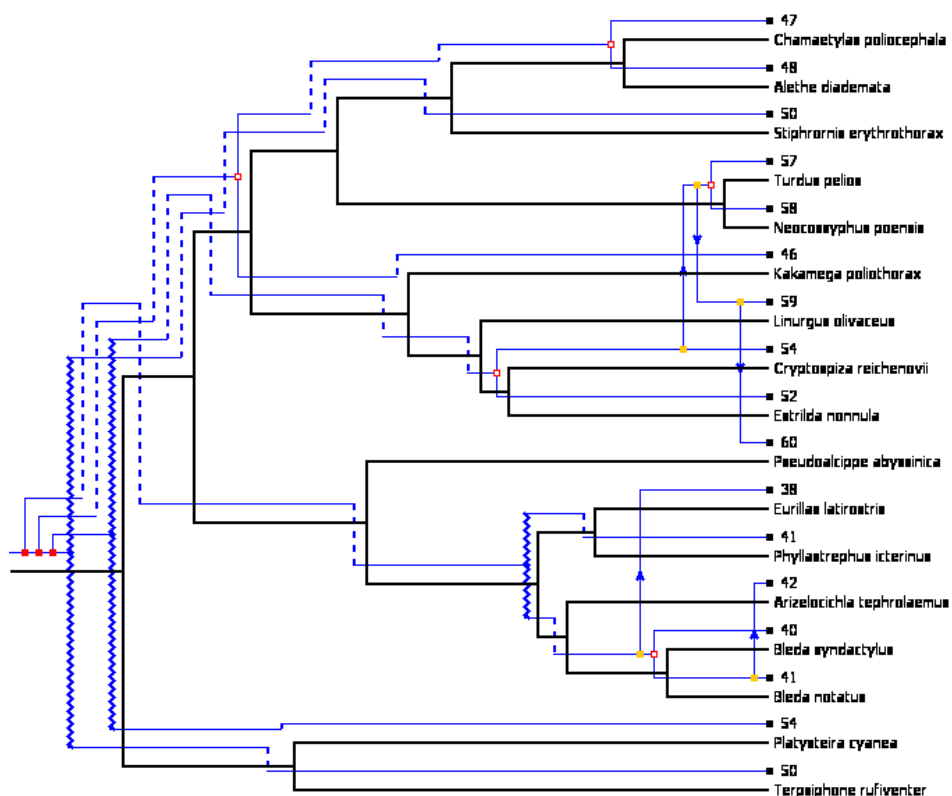
20 *sorting events*

3 *failures to speciate*.

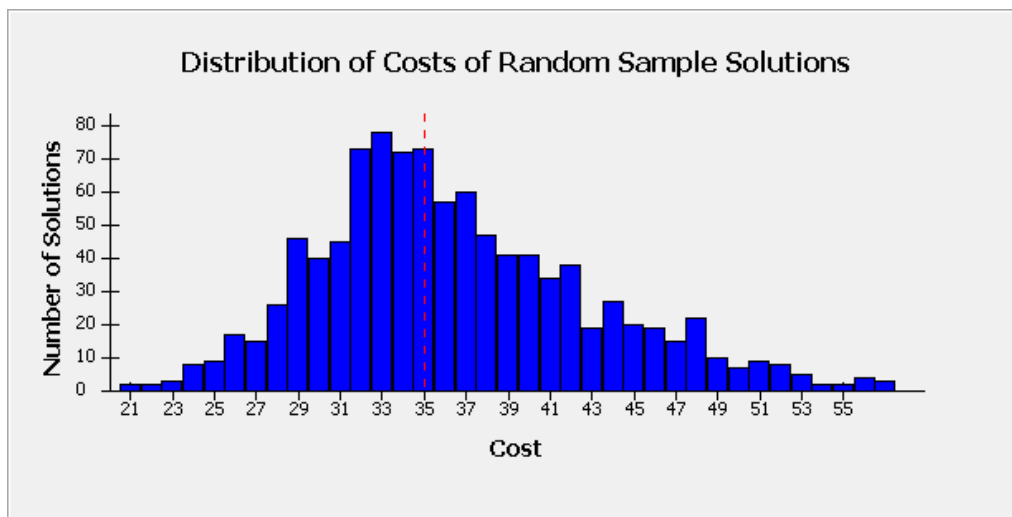
Až 31 % hostitelských speciací tedy bylo provázeno kospeciací parazita.



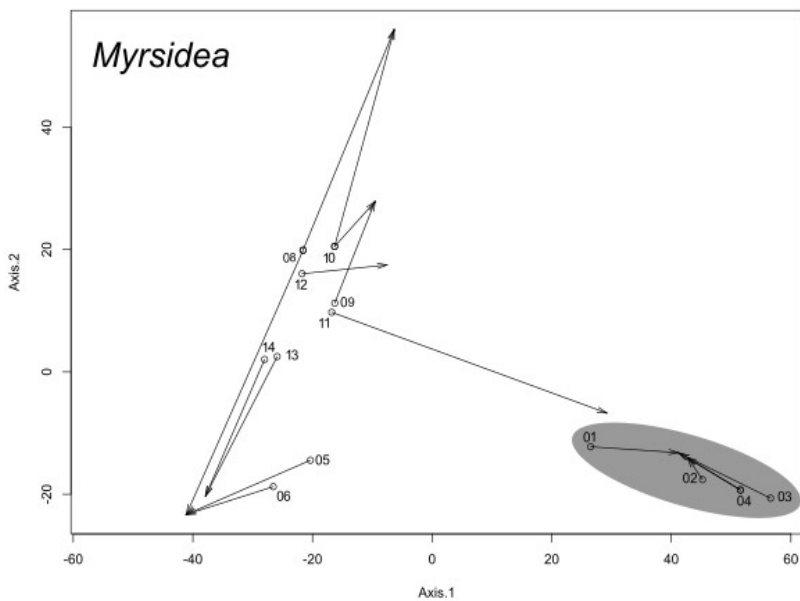
Obrázek 15: Tanglegram *Myrsidea* a jejich hostitelů. Kroužky jsou vyznačeny jednotlivé možné kospeciální události.



Obrázek 16: Jeden z hypotetických optimálních scénářů vyznačujících konkrétní události v historii systému *Myrsidea*-pěvci. Možných scénářů se stejnou cenou a stejnými počty událostí je ovšem více.

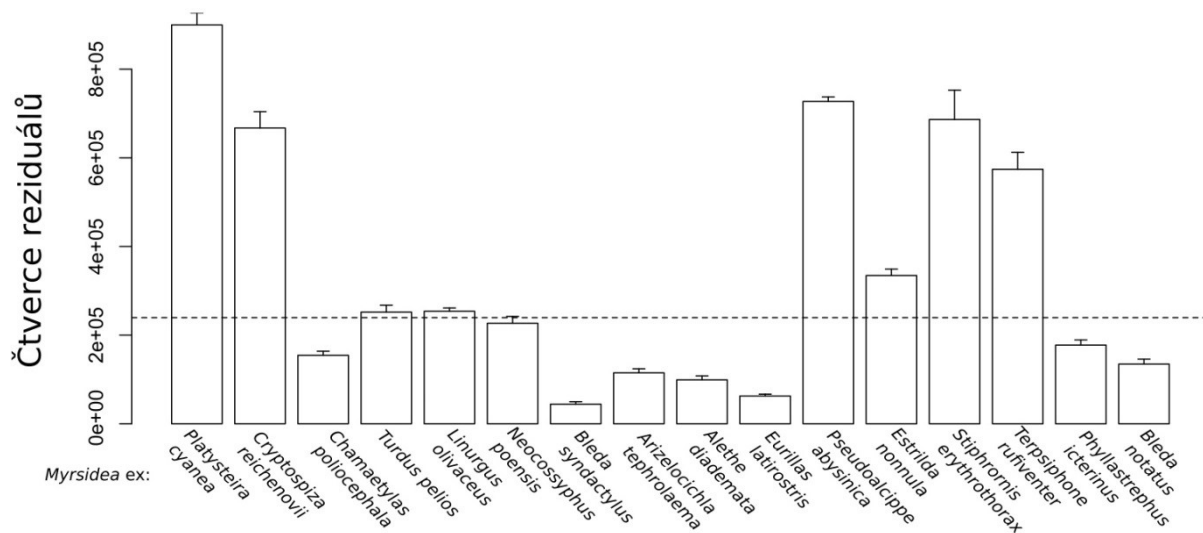


Obrázek 17: Ceny 999 náhodných permutací. Svislou čarou je vyznačena cena optimálního scénáře analýzy provedené pro *Myrsidea* - nebyla průkazně nižší, než by odpovídalo náhodě.



Obrázek 18: Výsledek procrustovské analýzy pro *Myrsidea*. Superimpozice všenek jsou vyznačeny kolečky a hostitelů hroty šipek. Délky šipek značí, nakolik je třeba do matice parazita zasáhnout, aby seděla na matici hostitele. Šedě zvýrazněn je klastr bulbulů a jejich všenek.

distanční matice sedí na hostitelskou matici podstatně lépe než v případě ostatních druhů. Hostitelsko-parazitické asociace bulbulů nejvíce přispívají k celkové kongruenci (obr. 19).



Obrázek 19: Čtverce reziduálů s 95% konfidenčními intervaly jednotlivých hostitelsko-parazitických asociací pro *Myrsidea*. Přerušovaná čára značí medián čtverců reziduálů.

Celková cena těchto scénářů byla 35, což není signifikantně méně, než by odpovídalo náhodě (více než 56 % náhodných vzorků získaných permutacemi mělo optimální scénář s nižší cenou, jak je vidět na obr. 17).

Analýza kodivergence metodou PACo (obr. 18) ukázala, že mezi distanční maticí jejich hostitelů je kongruence signifikantně vyšší než by odpovídalo náhodně ($p < 0,001$). Výjimečný je v tomto případě klastr všenek z bulbulů, jejichž

5.4.2 BRUEELIA KOMPLEX

Výsledný scénář kospeiační analýzy pro *Brueelia* komplex a hostitele zahrnoval následující události (obr. 20-21):

5 kospeiací

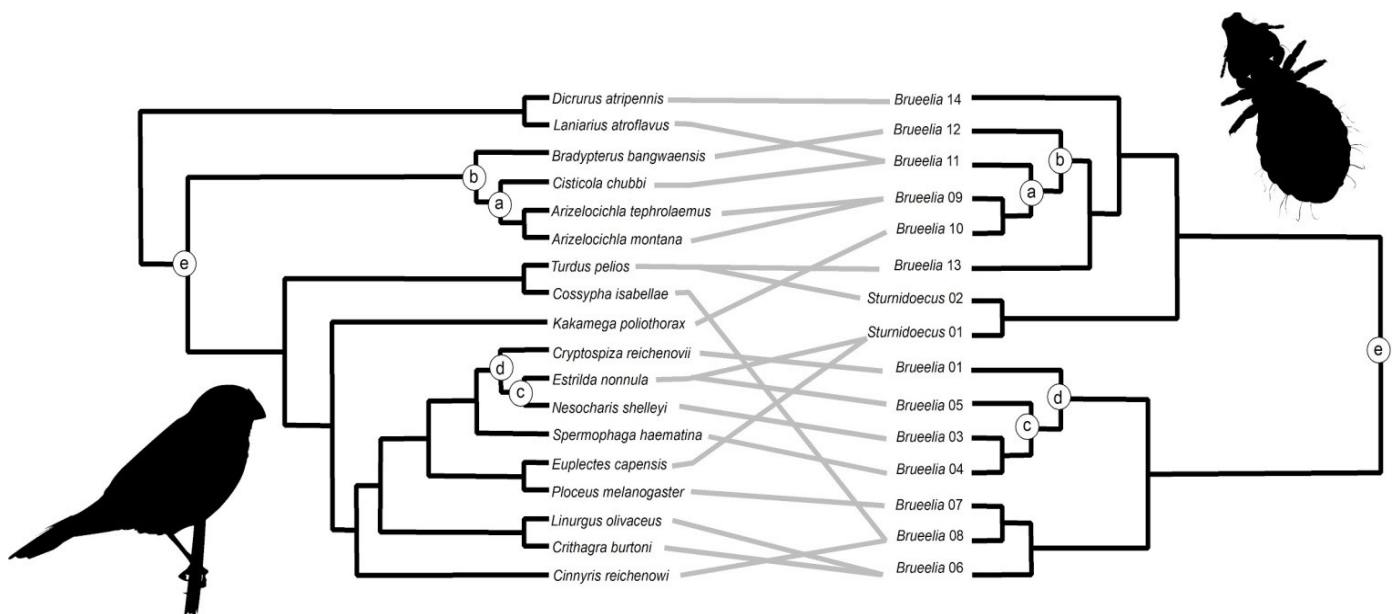
0 duplikací

9 hostitelských přeskoků

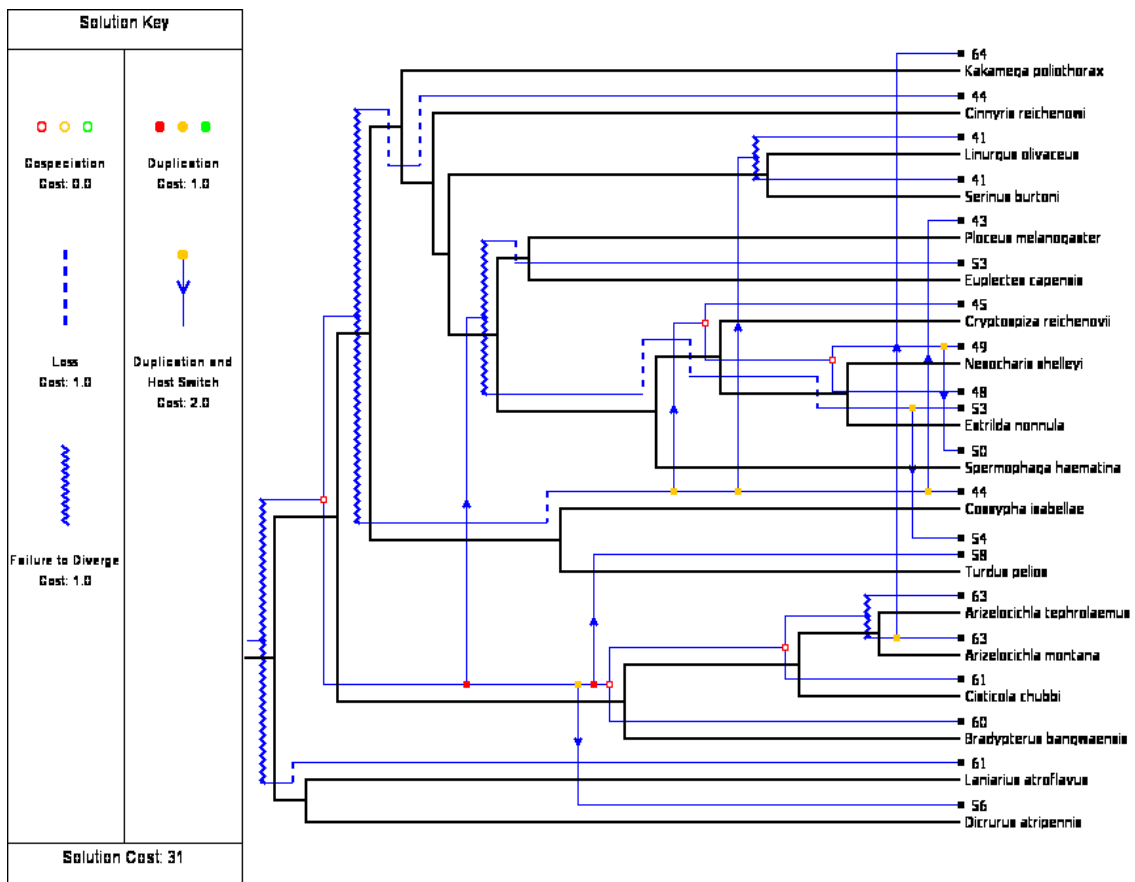
8 *sorting events*

5 *failures to speciate*

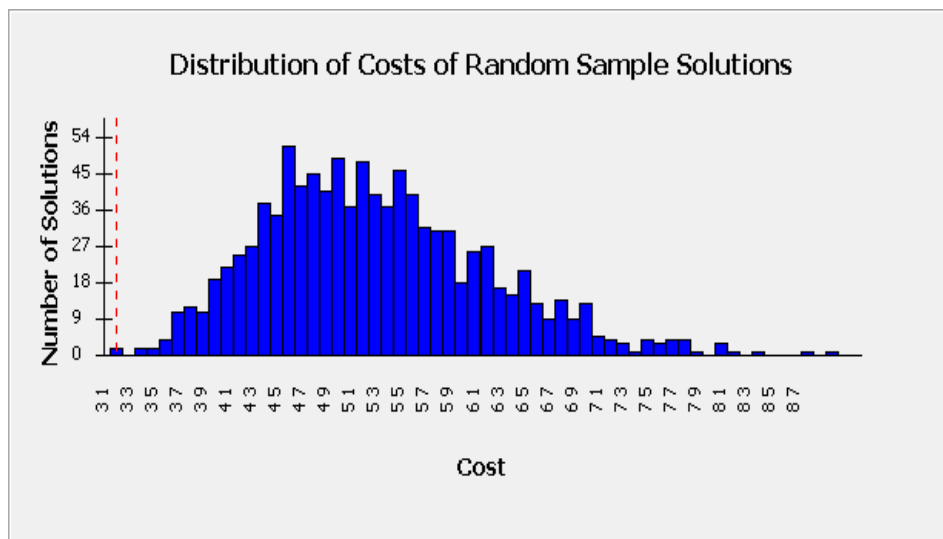
Kospeiací parazita tedy bylo doprovázeno maximálně 29 % hostitelských speciací. Jak je zřejmé z histogramu cen náhodně generovaných vzorků (obr. 22), celková cena tohoto scénáře byla podstatně nižší než by odpovídalo náhodě (pouze pro 3 z 999 náhodných vzorků Jane našla stejnou cenu, pro žádný vzorek nenalezla nižší).



Obrázek 20: Tanglegram *Brueelia* komplexu a pěvců. Kroužky jsou vyznačeny jednotlivé možné kospeiační události.



Obrázek 21: Jeden z možných optimálních scénářů vyznačujících události v historii systému *Brueelia* a jejich hostitelů



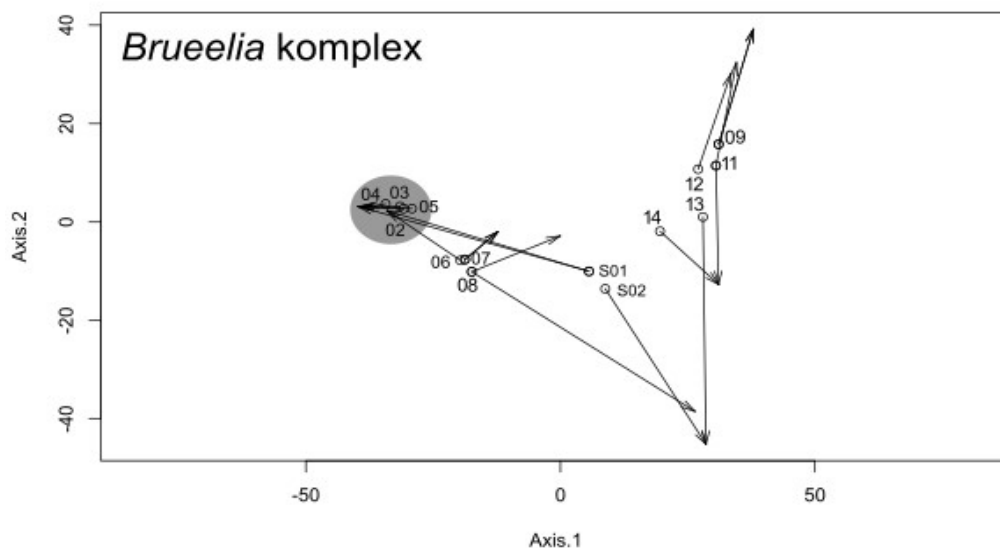
Obrázek 22: Ceny 999 náhodných permutací a cena optimálního scénáře analýzy provedené na *Brueelia* (svislá čára), která je signifikantně nižší.

Při použití alternativní topologie *Brueelia* získané pomocí *maximum likelihood* byla také celková cena signifikantně nižší než by odpovídalo náhodě - při 999 permutacích bylo pouze 9 případů o stejné či nižší hodnotě. Výsledný scénář obsahoval:

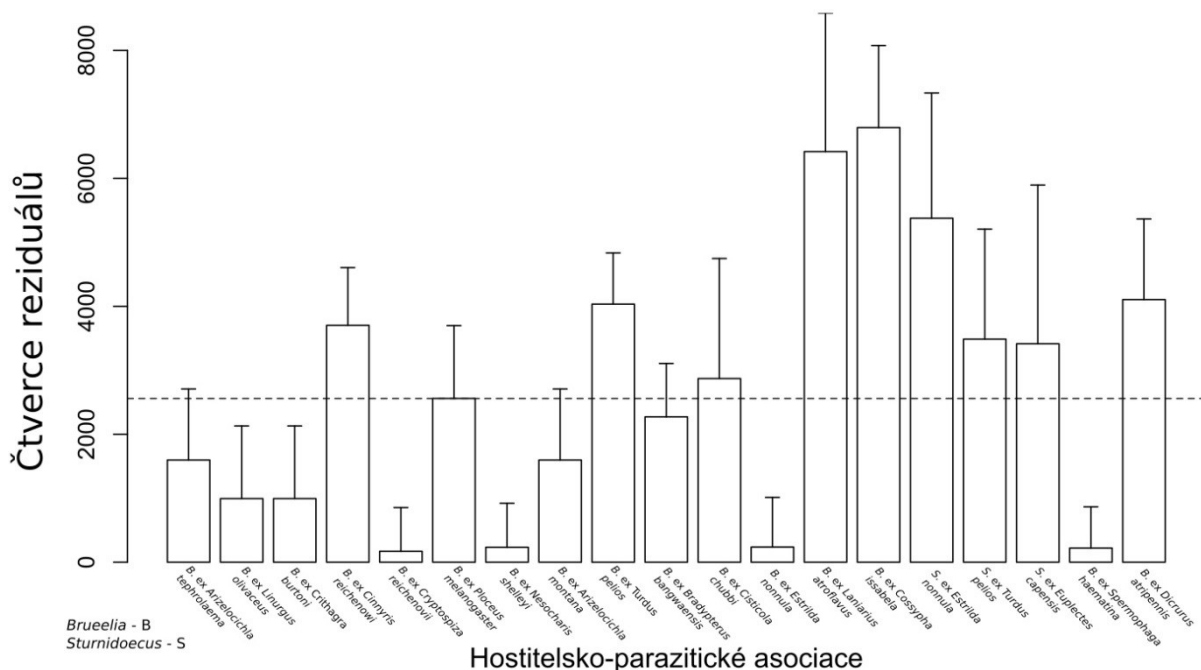
- 6 kospeciací
- 0 duplikací
- 8 hostitelských přeskoků
- 14 ztrát parazitů
- 5 *failures to speciate*

Stejně jako pro *Myrsidea*, tak i pro *Brueelia* našla PACo kongruenci v distančních maticích signifikantně ($p < 0,001$) vyšší než by odpovídalo náhodě. Podobně jako v případě *Myrsidea* bulbulů zde nejlépe na hostitelské distance seděly distance všenek astrildů (obr. 23) a rovněž zastupovaly většinu kongruence (obr. 24).

Při použití alternativní topologie *Brueelia* vyšly obdobné výsledky (v tomto případě $p = 0,01$).



Obrázek 23: Superimpozice všenek komplexu *Brueelia* (kolečka) a jejich hostitelů (hroty šipek). Šedě je zvýrazněn klaster astrildů a jejich parazitů. Délky šipek značí, nakolik je třeba do matice parazita zasáhnout, aby seděla na matici hostitele. Šedě zvýrazněn je klaster bulbulů a jejich všenek.



Obrázek 24: Čtverce reziduálů pro jednotlivé hostitelsko-parazitické asociace *Brueelia* komplexu. Výrazně nejméně reziduálů je v případě astrildů a jejich všenek.

5.5 EFEKT VLASTNOSTÍ HOSTITELŮ NA PŘÍBUZNOST PARAZITŮ

V případech obou zkoumaných datasetů byly genetické distance parazitů vysvětleny pouze genetickými distancemi hostitelů, žádná jiná vlastnost příbuznost parazitů nevysvětlovala a ani neprošly do finálního modelu. Výsledky ANOVA II. typu ukázaly $\text{Chisq} = 96,853$ a $p < 0,001$ v případě *Myrsidea* a $\text{Chisq} = 11,731$ a $p = 0,001$ v případě *Brueelia* komplexu. Klasická ANOVA založená na F-testu dala obdobné výsledky.

6 DISKUZE

6.1 NAKOLIK TROPICKÉ VŠENKY KOSPECIJI?

Naše výsledky kospeciálních analýz spolu s předchozími studii z Jižní Ameriky a Galapág nasvědčují tomu, že v tropech jsou kospeciace spíše vzácné. To odpovídá i skutečnosti, že v námi nasbíraném vzorku parazitů, který sám o sobě jistě nepokrývá všechny hostitelsko-parazitické asociace, které u nasbíraných druhů existují, bylo objeveno několik případů vícehostitelských parazitů i *vice versa*, hostitelů s více druhy všenek. Pokud by docházelo ke striktním kospeciím, výsledkem by měly být asociace jeden parazitický druh na jeden druh hostitele (Lyal 1986). Vícehostitelští mohou být paraziti buď následkem hostitelských přeskoků, nebo *failure to speciate*. Druhý případ by bylo možno očekávat spíše v případě rodu *Brueelia*, kde foréze na létajícím hmyzu může sloužit jako způsob udržování genového toku (DiBlasi et al. 2018). Jelikož ale námi nalezené vícehostitelské všenky nežijí na sesterských družích hostitelů, zřejmě se jedná o situaci vzniklou hostitelskými přeskoky.

Hostitelské přeskoky jsou podle výsledků z Jane jen o málo častější než kospeciace, přestože mezi hostitelskými a parazitickými topologiemi je značná nekongruence. Příčinou této neshody jsou podle analýz spíše *sorting events* a to především v případě rodu *Myrsidea*. V případě *Brueelia* komplexu jsou hostitelské přeskoky častější, jak bychom kvůli forézi také očekávali. Nicméně je třeba brát v úvahu, že analýzy provedené Jane se z principu cen událostí snaží maximalizovat počet kospecií (nejnižší hodnota – 0) a minimalizovat počet hostitelských přeskoků (nejvyšší hodnota – 2) ve výsledných scénářích. Je tedy možné, že reálně docházelo k častějším hostitelským přeskokům, než naznačují naše výsledky.

Existuje několik způsobů, jakými by mohlo docházet k horizontálnímu přenosu zkoumaných všenek a tedy k hostitelským přeskokům. V případě rodu *Brueelia* se nabízí vysvětlení přes forézi na ptakotrudkách. Vnitrodruhová genetická analýza obou rodů ukázala, že až na jednu výjimku *Brueelia* udržují genový tok i mezi pohořím Bamenda Highlands a Mt. Cameroon, tedy dovedou překonávat i rozsáhlé geografické bariéry (v tomto případě nížinu, která se nachází mezi oběma “*sky islands*”), zatímco *Myrsidea* se na obou lokalitách liší v haplotypech. Toto zjištění je v souladu s výsledky Voelker et al. (2013), kteří našli stejnou patnost u *Myrsidea* a *Brueelia* na opačných stranách řeky Konžské pánve.

Lze ale uvažovat i několik dalších způsobů, jakými se zkoumané všenky mohou horizontálně šířit, a to i neforetické *Myrsidea*, které se zdají být na svých hostitelích téměř izolované od zbytku světa. Všenky by se mohly přenášet přes hnízda či hnízdni materiál. Podobně jako zmínění jihoameričtí tukani (Weckstein 2004), i někteří ptáci v této studii (konkrétně druhy *Alethe diademata*, *Chamaetylas poliocephala* a *Cossypha isabellae*) jsou dutinová hnízdíči (del Hoyo et al. 1997). Všenky by se tedy mohly příležitostně přenášet spadnutím z ptáka v hnízdě a osídlením jiného ptáka, který dutinu pro hnízdění posléze přebere. Předpokladem pro tento scénář je dostatečně dlouhé přežití všenek mimo tělo hostitele. Jak bylo zmíněno v úvodní části, v tropech by delší přežívání všenek mimo hostitele mohlo být umožněno vyšší vlhkostí a teplotou prostředí. Strdimilové, jako je *Cinnyris reichenowi*, stejně tak jako astrildi *Estrilda nonnula* a *Spermophaga haematina* používají při stavbě hnízd různé materiály včetně nalezeného peří (del Hoyo et al. 2001; del Hoyo et al. 2003). *Turdus pelios* zase používá zbytky cizích hnízd ke stavbě vlastních (del Hoyo et al. 1999). O *Nesocharis shelleyi* je známo, že si někdy přivlastňuje opuštěná cizí hnízda (del Hoyo et al. 2003) a totéž nejspíš dělá i *Stiphrornis erythrothorax* (del Hoyo et al. 1997). Všechna tato specifika hnízdniho chování by mohla sloužit jako potenciální způsob mezidruhového přenosu ektoparazitů v obou studovaných skupinách všenek.

Dalším způsobem horizontálního přenosu může být mezidruhový kontakt mezi ptáky ve smíšených hejnech. Jelikož v tropech je velmi bohatá biodiverzita, ke kontaktu může docházet s širokým spektrem potenciálních hostitelů, z nichž někteří mohou být vhodní k úspěšné kolonizaci.

Z výsledků vyvstává otázka, proč celková cena kofylogenetického scénáře nalezeného Jane u *Brueelia* vyšla signifikantně nízká, zatímco u *Myrsidea* nikoliv – vzhledem k nižší hostitelské specifitě a vyšší pohyblivosti bychom u *Brueelia* čekali opak. Tento výsledek však nevyovídá přímo o množství kospecií a hostitelských přeskoků – dle výsledků se zdá, že celkově vyšší cenu u *Myrsidea* nezpůsobují ani tak hostitelské přeskoky, jako spíše *sorting events* (například extinkce parazitů), kterých analýza u *Brueelia* odhalila podstatně méně. Stejný efekt jako *sorting events* může mít i nedostatečný vzorek – pokud některé linie zkrátka unikají naší pozornosti, může se to v analýze projevit obdobně jako *sorting events*. Jelikož nízké prevalence parazitů zvyšují riziko, že parazit nebude na hostiteli nalezen, mohlo by podstatně vyšší množství *sorting events* u *Brueelia* vysvětlit, kdyby se ukázalo, že *Brueelia* mají obecně nižší prevalence než *Myrsidea*. V našem vzorku se ovšem prevalence (příloha 1)

obou rodů zásadně nelišily. Příčinou je tedy pravděpodobně něco jiného než horší vzorek *Brueelia* než *Myrsidea*.

Jedním z faktorů zmíněných v úvodu, které by mohly napomáhat úzké koevoluci, a tedy i množství kospecií v tropech, je stabilita prostředí. V případě našeho systému však do stability zasahuje skutečnost, že jde o organismy žijící na vulkanickém systému. Je nasnadě, že sopečné erupce na zkoumaných horách (které jsou v případě Mt. Cameroon stále aktuální záležitostí) znemožňují existenci dlouhodobě ustáleného prostředí – například hranice lesa se posouvá. Tyto opakované disturbance v kombinaci s malými populacemi ptáků a prevalencemi parazitů, které jsou často nižší než 50 %, by mohly být příčinou častých extinkcí a dalších *sorting events* všenek. Jelikož z námi zkoumaných lokalit žijí *Myrsidea* převážně na Mt. Cameroon, tedy stále činné sopce, zatímco *Brueelia* žijí převážně na Bamenda Highlands, mohlo by sopečnou činností způsobené vymírání být kandidátem na jedno z možných vysvětlení, proč u *Myrsidea* bylo nalezených *sorting events* mnohem více.

Ve fylogenezi *Brueelia* komplexu je jasně oddělený klád sestávající výhradně ze všenek astrildů. V tomto kládu byly na tři větvení nalezeny hned dvě kospeciační události. Jedná se o poměrně malý vzorek na to, aby bylo z této skutečnosti možné něco s určitostí vyvozovat, zdá se ale, že *Brueelia* z astrildů kospeciuje více než *Brueelia* ostatních zkoumaných ptáků, a kospeciace tedy mohou být i v rámci jednoho rodu parazita taxonomicky lokálně koncentrovanou záležitostí. Tento případ poukazuje na nutnost zabývat se kospeciacemi na různých taxonomických úrovních, především však s co druhově nejucelenějším vzorkem, aby tyto lokální případy neunikaly naší pozornosti (pokud by do analýzy byla zahrnuta jediná všenska z astrilda, kodivergence by zůstala skryta).

6.2 JAKÉ VLASTNOSTI HOSTITELŮ JSOU DŮLEŽITÉ PRO ÚSPĚŠNÉ HOSTITELSKÉ PŘESKOKY?

Tato práce ukázala silnou závislost mezi příbuzností parazitů a příbuzností hostitelů. Jsou dva způsoby, kterými může k takové situaci dojít: kospeciacemi a nenáhodnými hostitelskými přeskoky, které směřují přednostně na druhy, které jsou příbuznější původnímu hostitelskému druhu. Vzhledem k poměrně malému množství kospeciačních událostí v našich systémech se domnívám, že se nejedná o efekt způsobený čistě kodivergencí. Případ kládu *Myrsidea* výhradně z bulbulů tuto myšlenku ilustruje – kospeciace u něj proběhla maximálně jedna, paraziti v něm jsou (alespoň v mém vzorku) zcela věrni hostitelské čeledi. Pokud *Brueelia*

z astrildů nejsou případem systému, který výrazně kodivergoval a nalezené kospeciační události v něm jsou náhodnou kongruencí, mohlo by se jednat o obdobný případ. Věrnost parazitů vůči hostitelskému taxonu (zde čeledi) tedy může také být taxonomicky lokální patrností.

Je nasnadě, že příbuznost hostitelů je pro parazity zásadní, protože souvisí s jejich fenotypovou podobností. Pro zde zkoumané vlastnosti – morfologii zobáku ani velikost těla – žádný efekt nalezen nebyl. To může znamenat, že tyto vlastnosti pro zde zkoumané všenky klíčové nejsou a důležité jsou vlastnosti jiné, které jsem do práce nezahrnula. V případě částečně hematofágních *Myrsidea* by se mohlo jednat například o vlastnosti imunitního systému. Také je však důležité si uvědomit, že to, že dnešní hostitelé vykazují určité vlastnosti, nemusí nutně znamenat, že jimi disponovali i jejich předci.

Obdobná komplikace je u sympatrie a syntopie, pro něž také žádný průkazný efekt nalezen nebyl. Dnešní údaje o prostorovém rošíření ptáků nemusí příliš vypovídat o tom, jak často se mohli reálně potkávat jejich předkové, obzvláště v takto dynamickém prostředí, jako je vulkanický systém. Je však samozřejmě také možné, že zde studované všenky v minulosti kolonizovaly i druhy hostitelů žijící v areálu nepřekrývajícím se s areálem původního hostitele – k tomu by mohlo docházet postupnými přeskoky přes jiný druh ptáka, který oba areály propojuje, a který ani všenka nemusela úspěšně a trvale kolonizovat.

Osídlování příbuznějších hostitelů může být přechodným krokem k osídlení fylogeneticky vzdálenějších druhů způsobem “*stepping stone*” - parazit může postupně přeskakovat na druhy, které jsou stále evolučně vzdálenější k původnímu hostiteli a postupnými změnami tak úspěšně osídlit i velmi vzdálený hostitelský druh (Araujo et al. 2015). Je možné, že některé extrémní přeskoky, například kolonizace hostitelů z úplně odlišných řádů u zástupců komplexu *Brueelia*, byly umožněny právě tímto způsobem.

6.3 DALŠÍ PRÁCE

Naše znalosti o tom, v jaké míře jsou odlišné patrnosti mezi tropickými a temperátními všenkami skutečně způsobeny odlišným prostředím, by byly podstatně obohaceny, kdybychom mohli porovnávat výsledky kospeciačních analýz stejných taxonů všenek (ideálně z podobných hostitelů) mezi tropy a mírným pásmem. Provést například kospeciační analýzu na zástupcích rodu *Myrsidea* nasbíraných výhradně v temperátu by mohlo umožnit zajímavé srovnání s mými výsledky.

Je zřejmé, že hledání odpovědí na tuto i další ekologicky-evoluční otázky týkající se kospecií, je dosud limitováno metodickými možnostmi. Metody výzkumu kospecií stále procházejí dynamickým vývojem, a lze tedy v budoucnosti očekávat jejich další zdokonalování. Zásadní mezera v metodice kospečních analýz je způsobena nemožností datovat konkrétní speiační události, a tedy zjistit, zda kongruence jednotlivých částí topologií parazitů a hostitelů jsou skutečně dány kospeciemi či jinými událostmi. V současné době je fosilní záznam v řádu Phthiraptera omezen jen na jedinou 44 milionů let starou fosilii ptačí všenky (Wappler et al. 2004). Smithe et al. (2011) provedli dataci divergencí řádů Phthiraptera na základě pravděpodobně veškerých možností kalibrace molekulárních hodin, které jsou dostupné (mimo zmíněnou fosilii také fosilní nález pisivky a nepřímé kalibrace přes předpokládané kospeciace), vezmeme-li však v potaz, že jednotlivé rody všenek se v substitučních rychlostech používaných markerů diametrálně liší, je zjevné, že pro konkrétní analýzy je třeba využít větší množství kalibračních bodů, které v současnosti zkrátka nemáme.

Přesnějších výsledků by bylo rovněž možno dosáhnout ucelenějším vzorkem parazitů zkoumaných rodů. Obě skupiny všenek mají podstatně větší geografické rozšíření, než bylo v této práci zahrnuto, a řada druhů proto mohla uniknout naší pozornosti (což může ovlivnit pozorované patrnosti, například zmíněnou míru *sorting events*).

Hypotézu, že větší biodiverzita je jedním z důvodů, proč by v tropech mohlo docházet k častějším hostitelským přeskokům, by zase mohla být samostatně ověřena porovnáním výsledků kospečních analýz mezi temperátními oblastmi s odlišnou mírou biodiverzity (smysluplné by mohlo být porovnání míry hostitelských přeskoků mezi Evropou a druhově bohatší Severní Amerikou). Zajímavé výsledky by přitom v tomto případě mohla přinést i důkladná metaanalýza již publikovaných dat.

K pochopení, co hraje roli pro (ne)úspěch hostitelské kolonizace, by kromě studií zabývajících se historickými událostmi, jako je tato, byly velmi přínosné další experimenty s parazity – například hledání tolerance na abiotické faktory či další, třeba i dlouhodobější, přenosové pokusy.

7 ZÁVĚR

Vše nasvědčuje tomu, že kospeciace všenek nejsou v tropech natolik běžnou záležitostí jako v temperátu a některé vlastnosti tropického prostředí mohou být pro toto pozorování vysvětlením. Hostitelské přeskoky jsou o něco častější a jsou nenáhodné; směřují přednostně na druhy příbuznější původním hostitelským druhům. Je pravděpodobné, že pro různé skupiny všenek jsou klíčové další vlastnosti, které již v některých případech byly odhaleny v předchozích studiích, v jiných prozatím mohou unikat naší pozornosti.

Především dokud byly kospeciace u všenek, potažmo dalších parazitů, považovány za převažující události, byly časté také snahy vyčíst z evoluce parazitů informace o evoluci hostitelů (e.g. Hopkins 1942; Toon et Hughes 2008; Block et al. 2015; Iwasa-Arai et al. 2018). Dnes již víme, že tyto pokusy je třeba provádět velmi opatrně, protože kofylogeneze není absolutním pravidlem. Neméně informativní pro nás ale může být také chápání hostitelských přeskoků. Nejen, že jejich pochopení nám umožní lépe porozumět tomu, jak vznikají nové choroby, ale jak poznamenal Stephen Barker (1994): z přeskakujících parazitů se můžeme dozvědět leccos o migračních cestách, původním rozšíření a fyzickém kontaktu mezi hostiteli. Rozvíjející se znalosti o principech kolonizací nových hostitelů tedy jistě do budoucna přinesou ještě mnoho zajímavého.

8 SEZNAM LITERATURY

- Araujo, S., M. Braga, D. Brooks, S. Agosta, E. Hoberg, F. von Hartenthal, and W. Boeger. 2015. Understanding Host-Switching by Ecological Fitting. *PLOS ONE* 10:e0139225.
- Atyeo, W., and J. Gaud. 1983. Feather Mites of Obligate Brood Parasites. *The Journal of Parasitology* 69:455.
- Balakrishnan, C., and M. Sorenson. 2006. Dispersal ecology versus host specialization as determinants of ectoparasite distribution in brood parasitic indigobirds and their estrildid finch hosts. *Molecular Ecology* 16:217-229.
- Balbuena, J., R. Míguez-Lozano, and I. Blasco-Costa. 2013. PACo: A Novel Procrustes Application to Cophylogenetic Analysis. *PLoS ONE* 8:e61048.
- Banks, J., and A. Paterson. 2005. Multi-host parasite species in cophylogenetic studies. *International Journal for Parasitology* 35:741-746.
- Barker, S. 1994. Phylogeny and classification, origins, and evolution of host associations of lice. *International Journal for Parasitology* 24:1285-1291.
- Barker, S., M. Whiting, K. Johnson, and A. Murrell. 2003. Phylogeny of the lice (Insecta, Phthiraptera) inferred from small subunit rRNA. *Zoologica Scripta* 32:407-414.
- Bates, D., M. Mächler, B. Bolker, and S. Walker. 2015. Fitting Linear Mixed-Effects Models Using lme4. *Journal of Statistical Software* 67.
- Beaver, R. 1979. Host specificity of temperate and tropical animals. *Nature* 281:139-141.
- Block, N., S. Goodman, S. Hackett, J. Bates, and M. Raheerilalao. 2015. Potential merger of ancient lineages in a passerine bird discovered based on evidence from host-specific ectoparasites. *Ecology and Evolution* 5:3743-3755.
- Borrow, N., and R. Demey. 2014. *Birds of western Africa*. Princeton Univ. Press, Princeton [u.a.].
- Brooke, M., and H. Nakamura. 1998. The acquisition of host-specific feather lice by common cuckoos (*Cuculus canorus*). *Journal of Zoology* 244:167-173.
- Brooks, D. 1979. Testing the Context and Extent of Host-Parasite Coevolution. *Systematic Biology* 28:299-307.
- Bueter, C., J. Weckstein, K. Johnson, J. Bates, and C. Gordon. 2009. Comparative Phylogenetic Histories of Two Louse Genera Found on *Catharus* Thrushes and Other Birds. *Journal of Parasitology* 95:295-307.

- Bush, S., and D. Clayton. 2006. The role of body size in host specificity: reciprocal transfer experiments with feather lice. *Evolution* 60:2158.
- Bush, S. 2009. Does behavioural flexibility facilitate host switching by parasites?. *Functional Ecology*, doi: 10.1111/j.1365-2435.2007.01535.x.
- Bush, S., C. Harbison, D. Slager, A. Peterson, R. Price, and D. Clayton. 2009. Geographic Variation in the Community Structure of Lice on Western Scrub-Jays. *Journal of Parasitology* 95:10-13.
- Bush, S., D. Kim, M. Reed, and D. Clayton. 2010. Evolution of Cryptic Coloration in Ectoparasites. *The American Naturalist* 176:529-535.
- Bush, S., J. Weckstein, D. Gustafsson, J. Allen, E. DiBlasi, S. Shreve, R. Boldt, H. Skeen, and K. Johnson. 2015. Data supporting a molecular phylogeny of the hyper-diverse genus *Brueelia*. *Data in Brief* 5:1078-1091.
- Bush, S., J. Weckstein, D. Gustafsson, J. Allen, E. DiBlasi, S. Shreve, R. Boldt, H. Skeen, and K. Johnson. 2016. Unlocking the black box of feather louse diversity: A molecular phylogeny of the hyper-diverse genus *Brueelia*. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 94:737-751.
- Charleston, M. A. "TreeMap 3b." URL <http://sites.google.com/site/cophylogeny> (2011).
- Clark, N., and S. Clegg. 2017. Integrating phylogenetic and ecological distances reveals new insights into parasite host specificity. *Molecular Ecology* 26:3074-3086.
- Clarke, A., and P. Rothery. 2007. Scaling of body temperature in mammals and birds. *Functional Ecology* 0:071029083929001.
- Clayton, D. 1990. Host Specificity of *Strigiphilus* Owl Lice (Ischnocera: Philoptoridae), with the Description of New Species and Host Associations. *Journal of Medical Entomology* 27:257-265.
- Clayton, D., and P. Cotgreave. 1994. Relationship of bill morphology to grooming behaviour in birds. *Animal Behaviour* 47:195-201.
- Clayton, D., P. Lee, D. Tompkins, and E. Brodie III. 1999. Reciprocal Natural Selection on Host-Parasite Phenotypes. *The American Naturalist* 154:261-270.
- Clayton, D., and D. Drown. 2001. Critical Evaluation of Five Methods for Quantifying Chewing Lice (Insecta: Phthiraptera). *The Journal of Parasitology* 87:1291.
- Clayton, D., and B. Walther. 2001. Influence of host ecology and morphology on the diversity of Neotropical bird lice. *Oikos* 94:455-467.

- Clayton, D., and K. Johnson. 2003. Linking coevolutionary history to ecological process: doves and lice. *Evolution* 57:2335.
- Clayton, Dale H., Sarah Al-Tamimi, and Kevin P. Johnson. 2003a. The ecological basis of coevolutionary history. Pp. 310-341 in *Tangled trees: Phylogeny, cospeciation and coevolution*.
- Clayton, D., S. Bush, B. Goates, and K. Johnson. 2003b. Host defense reinforces host-parasite cospeciation. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100:15694-15699.
- Clayton, D., S. Bush, and K. Johnson. 2004. Ecology of Congruence: Past Meets Present. *Systematic Biology* 53:165-173.
- Clayton, D., S. Bush, and K. Johnson. 2015. *Coevolution of Life on Hosts: Integrating Ecology and History*. University of Chicago Press.
- Coddington, J., I. Agnarsson, J. Miller, M. Kuntner, and G. Hormiga. 2009. Undersampling bias: the null hypothesis for singleton species in tropical arthropod surveys. *Journal of Animal Ecology* 78:573-584.
- Cook, A. 2016. Description of the cophylogenetic relationship between the Myrsidea chewing louse and its Neotropical Mionectes flycatcher host. University of British Columbia.
- Conow, C., D. Fielder, Y. Ovadia, and R. Libeskind-Hadas. 2010. Jane: a new tool for the cophylogeny reconstruction problem. *Algorithms for Molecular Biology* 5:16.
- Danforth, B., and S. Ji. 1998. Elongation factor-1 alpha occurs as two copies in bees: implications for phylogenetic analysis of EF-1 alpha sequences in insects. *Molecular Biology and Evolution* 15:225-235.
- Danforth, B., S. Brady, S. Sipes, A. Pearson, and T. Schultz. 2004. Single-Copy Nuclear Genes Recover Cretaceous-Age Divergences in Bees. *Systematic Biology* 53:309-326.
- Desdevises, Y., S. Morand, O. Jousson, and P. Legendre. 2002. Coevolution between *Lamellodiscus* (Monogenea: Diplectanidae) and Sparidae (Teleostei): The Study Of a Complex Host-Parasite System. *Evolution* 56:2459-2471.
- Desdevises, Y. Cophylogeny. 2007. insights from fish-parasite systems. *Parassitologia* 49.3:125.
- DeWayne Shoemaker, D., C. Machado, D. Molbo, J. Werren, D. Windsor, and E. Herre. 2002. The distribution of *Wolbachia* in fig wasps: correlations with host phylogeny, ecology and population structure. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 269:2257-2267.

- DiBlasi, E., K. Johnson, S. Stringham, A. Hansen, A. Beach, D. Clayton, and S. Bush. 2018. Phoretic dispersal influences parasite population genetic structure. *Molecular Ecology*, doi: 10.1111/mec.14719.
- Dixon, P. 2003. VEGAN, a package of R functions for community ecology. *Journal of Vegetation Science* 14:927.
- Eichler, W. 1948. Some rules in Ectoparasitism. *Annals and Magazine of Natural History* 1:588-598.
- Engelstaedter, J., and N. Fortuna. 2018. The dynamics of preferential host switching: host phylogeny as a key predictor of parasite prevalence and distribution. *bioRxiv*.
- Ericson, P., D. Zuccon, J. Ohlson, U. Johansson, H. Alvarenga, and R. Prum. 2006. Higher-level phylogeny and morphological evolution of tyrant flycatchers, cotingas, manakins, and their allies (Aves: Tyrannida). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 40:471-483.
- Fox, J., and S. Weisberg. 2011. *An R companion to applied regression*. Sage, Los Angeles [u.a.].
- Gajdošová, M. 2016. *Kospeciace ptačích ektoparazitů*. Faculty of Science, Charles University.
- Gustafsson, D., and S. Bush. 2017. Morphological revision of the hyperdiverse Brueelia-complex (Insecta: Phthiraptera: Ischnocera: Philopterae) with new taxa, checklists and generic key. *Zootaxa* 4313:1.
- Hafner, M., and S. Nadler. 1988. Phylogenetic trees support the coevolution of parasites and their hosts. *Nature* 332:258-259.
- Hafner, M., and S. Nadler. 1990. Cospeciation in Host-Parasite Assemblages: Comparative Analysis of Rates of Evolution and Timing of Cospeciation Events. *Systematic Zoology* 39:192.
- Hafner, M., P. Sudman, F. Villablanca, T. Spradling, J. Demastes, and S. Nadler. 1994. Disparate rates of molecular evolution in cospeciating hosts and parasites. *Science* 265:1087-1090.
- Hahn, D., R. Price, and P. Osenton. 2000. Use of lice to identify cowbird hosts. *The Auk* 117:943.
- Harbison, C. 2008. Ecology and evolution of transmission in feather-feeding lice (Phthiraptera: ischnocera).

- Harbison, C., M. Jacobsen, and D. Clayton. 2009. A hitchhiker's guide to parasite transmission: The phoretic behaviour of feather lice. *International Journal for Parasitology* 39:569-575.
- Harbison, C., and D. Clayton. 2011. Community interactions govern host-switching with implications for host-parasite coevolutionary history. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108:9525-9529.
- Harnos, A., Z. Lang, D. Petrás, S. Bush, K. Szabó, and L. Rózsa. 2017. Size matters for lice on birds: Coevolutionary allometry of host and parasite body size. *Evolution* 71:421-431.
- Harrison, L. 1915. Mallophaga from Apteryx, and their Significance; with a Note on the Genus *Rallicola*. *Parasitology* 8:88.
- Hernandes, F., L. Pedroso, and S. Mironov. 2014. From cuckoos to chickens: a caught-in-the-act case of host shift in feather mites (Arachnida: Acari: Psoroptoididae). *Parasitology Research* 113:4355-4361.
- Hopkins, G. 1942. The Mallophaga as an Aid to the Classification of Birds. *Ibis* 84:94-106.
- del Hoyo, J., A. Elliott, and J. Sargatal. 1997. *Handbook of the birds of the world – Volume 4*. Lynx Edicions, Barcelona.
- del Hoyo, J., A. Elliott, and J. Sargatal. 1999. *Handbook of the birds of the world – Volume 5*. Lynx, Barcelona.
- del Hoyo, J., J. Sargatal, and A. Elliott. 2001. *Handbook of the birds of the world – Volume 6*. Lynx Edicions, Barcelona.
- del Hoyo, J., A. Elliott, and J. Sargatal. 2003. *Handbook of the birds of the world – Volume 7*. Lynx Edicions, Barcelona.
- del Hoyo, J., C. Pascual, and J. Sargatal. 2014. *Illustrated checklist of the birds of the world*.
- Huelsenbeck, J., and F. Ronquist. 2001. MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17:754-755.
- Iwasa-Arai, T., C. Serejo, S. Siciliano, P. Ott, A. Freire, S. Elwen, E. Crespo, A. Colosio, V. Carvalho, and G. Rodríguez-Rey. 2018. The host-specific whale louse (*Cyamus boopis*) as a potential tool for interpreting humpback whale (*Megaptera novaeangliae*) migratory routes. *Journal of Experimental Marine Biology and Ecology* 505:45-51.

- Johnson, K., R. Adams, and D. Clayton. 2002. The phylogeny of the louse genus *Brueelia* does not reflect host phylogeny. *Biological Journal of the Linnean Society* 77:233-247.
- Johnson, K., R. Adams, R. Page, and D. Clayton. 2003. When Do Parasites Fail to Speciate in Response to Host Speciation?. *Systematic Biology* 52:37-47.
- Johnson, K. P., and D. H. Clayton. 2003. Coevolutionary history of ecological replicates: comparing phylogenies of wing and body lice to Columbiform hosts.. Pp. 262-286 *in* Tangled trees: Phylogeny, cospeciation and coevolution.
- Katoh, K., and D. Standley. 2013. MAFFT Multiple Sequence Alignment Software Version 7: Improvements in Performance and Usability. *Molecular Biology and Evolution* 30:772-780.
- Kearse, M., R. Moir, A. Wilson, S. Stones-Havas, M. Cheung, S. Sturrock, S. Buxton, A. Cooper, S. Markowitz, C. Duran, T. Thierer, B. Ashton, P. Meintjes, and A. Drummond. 2012. Geneious Basic: An integrated and extendable desktop software platform for the organization and analysis of sequence data. *Bioinformatics* 28:1647-1649.
- Keirans, J. 1975. A Review of the Phoretic Relationship Between Mallophaga (Phthiraptera: Insecta) and Hippoboscidae (Diptera: Insecta). *Journal of Medical Entomology* 12:71-76.
- Kellogg, V. 1913. Distribution and Species-Forming of Ecto-Parasites. *The American Naturalist* 47:129-158.
- Kethley, J. B., and D. E. Johnston. 1975. Resource tracking patterns in bird and mammal ectoparasites. *Miscellaneous Publications of the Entomological Society of America* 9: 231–236
- Koop, J., K. DeMatteo, P. Parker, and N. Whiteman. 2014. Birds are islands for parasites. *Biology Letters* 10:20140255-20140255.
- Kuznetsova, A., P. B. Brockhoff, and R. H. B. Christensen. 2016. lmerTest: Tests in Linear Mixed Effects Models. R Package version 2.0-33.
- Lanfear, R., B. Calcott, S. Ho, and S. Guindon. 2012. PartitionFinder: Combined Selection of Partitioning Schemes and Substitution Models for Phylogenetic Analyses. *Molecular Biology and Evolution* 29:1695-1701.

- Lauron, E., C. Loiseau, R. Bowie, G. Spicer, T. Smith, M. Melo, and R. Sehgal. 2014. Coevolutionary patterns and diversification of avian malaria parasites in African sunbirds (Family Nectariniidae). *Parasitology* 142:635-647.
- Leigh, J. and Bryant, D. (2015). PopART: Full-feature software for haplotype network construction. *Methods in Ecology and Evolution*, 6(9), pp.1110-1116.
- Light, J., C. Nessner, D. Gustafsson, S. Wise, and G. Voelker. 2016. Remarkable levels of avian louse (Insecta: Phthiraptera) diversity in the Congo Basin. *Zoologica Scripta* 45:538-551.
- Lindholm, A., G. Venter, and E. Ueckermann. 1998. Persistence of passerine ectoparasites on the diederik cuckoo *Chrysococcyx caprius*. *Journal of Zoology* 244:145-153.
- Lyal, C. 1985. Phylogeny and classification of the Psocodea, with particular reference to the lice (Psocodea: Phthiraptera). *Systematic Entomology* 10:145-165.
- Lyal, C. 1986. Coevolutionary relationships of lice and their hosts: a test of Fahrenholz's Rule. *Coevolution and systematics*.
- Malenke, J., N. Newbold, and D. Clayton. 2011. Condition-Specific Competition Governs the Geographic Distribution and Diversity of Ectoparasites. *The American Naturalist* 177:522-534.
- Marshall, A. 1981. *The ecology of ectoparasitic insects*. Academic Press, London.
- McCafferty, D., S. Gallon, and A. Nord. 2015. Challenges of measuring body temperatures of free-ranging birds and mammals. *Animal Biotelemetry* 3.
- van Meer, M., J. Witteveldt, and R. Stouthamer. 1999. Phylogeny of the arthropod endosymbiont *Wolbachia* based on the *wsp* gene. *Insect Molecular Biology* 8:399-408.
- Morris, R., S. Gripenberg, O. Lewis, and T. Roslin. 2013. Antagonistic interaction networks are structured independently of latitude and host guild. *Ecology Letters* 17:340-349.
- Moyer, B., D. Drown, and D. Clayton. 2002. Low humidity reduces ectoparasite pressure: implications for host life history evolution. *Oikos* 97:223-228.
- Page, R. 2003. *Tangled trees*. University of Chicago Press, Chicago.
- Paradis, E., J. Claude, and K. Strimmer. 2004. APE: Analyses of Phylogenetics and Evolution in R language. *Bioinformatics* 20:289-290.
- Paterson, Adrian M., and Russell D. Gray. 1997. "Host-parasite co-speciation, host switching, and missing the boat." Pp. 236-250 in *Host-parasite evolution: general principles and avian models*.

- Pedersen, A., S. Altizer, M. Poss, A. Cunningham, and C. Nunn. 2005. Patterns of host specificity and transmission among parasites of wild primates. *International Journal for Parasitology* 35:647-657.
- Poulin, R. 2007. *Evolutionary ecology of parasites*. Princeton University Press, Princeton, N.J.
- Poulin, R., B. Krasnov, and D. Mouillot. 2011. Host specificity in phylogenetic and geographic space. *Trends in Parasitology* 27:355-361.
- Price, R. D., R. A. Hellenthal, T. L. Palma, K. P. Johnson, and D. H. Clayton. 2003. *The chewing lice: World checklist and biological overview*. Illinois Natural History Survey, Champaign, Illinois.
- R Core Team. 2017. *R: a language and environment for statistical computing*. R Foundation for Statistical Computing, Vienna, Austria.
- Rai, R. K., and K. V. Lakshminarayana. 1980. A note on the in vitro studies of the chewing-lice (Phthiraptera). *Workshop on Techniques of Parasitology of the Zoological Survey of India*.
- Rana, S., S. Bhardwaj, and A. Saxena. 2018. In vitro biology of pigeon louse *Colpocephalum turbinatum* (Amblycera: Phthiraptera). *Journal of Applied and Natural Science* 10:770-772.
- Reed, D., and M. Hafner. 1997. Host Specificity of Chewing Lice on Pocket Gophers: A Potential Mechanism for Cospeciation. *Journal of Mammalogy* 78:655-660.
- Ricklefs, R., and S. Fallon. 2002. Diversification and host switching in avian malaria parasites. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 269:885-892.
- Ricklefs, R., S. Fallon, and E. Bermingham. 2004. Evolutionary Relationships, Cospeciation, and Host Switching in Avian Malaria Parasites. *Systematic Biology* 53:111-119.
- Ronquist, F., and J. Huelsenbeck. 2003. MrBayes 3: Bayesian phylogenetic inference under mixed models. *Bioinformatics* 19:1572-1574.
- Ròzsa, L. 1993. Speciation patterns of ectoparasites and “straggling” lice. *International Journal for Parasitology* 23:859-864.
- Rubolini, D., A. Liker, L. Garamszegi, A. Møller, and N. Saino. 2015. Using the BirdTree.org website to obtain robust phylogenies for avian comparative studies: A primer. *Current Zoology* 61:959-965.

- Schemske, D., G. Mittelbach, H. Cornell, J. Sobel, and K. Roy. 2009. Is There a Latitudinal Gradient in the Importance of Biotic Interactions?. *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 40:245-269.
- Schrenzel, M., G. Maalouf, P. Gaffney, D. Tokarz, L. Keener, D. McClure, S. Griffey, D. McAloose, and B. Rideout. 2005. Molecular characterization of isosporid coccidia (*Isospora* and *Toxoplasma* spp.) in passerine birds. *Journal of Parasitology* 91:635-647.
- Selvatti, A., Gonzaga, L. and Russo, C. (2015). A Paleogene origin for crown passerines and the diversification of the Oscines in the New World. *Molecular Phylogenetics and Evolution*, 88, pp.1-15.
- Smith, V., T. Ford, K. Johnson, P. Johnson, K. Yoshizawa, and J. Light. 2011. Multiple lineages of lice pass through the K-Pg boundary. *Biology Letters* 7:782-785.
- Stamatakis, A. 2014. RAxML version 8: a tool for phylogenetic analysis and post-analysis of large phylogenies. *Bioinformatics* 30:1312-1313.
- Svensson-Coelho, L. 2012. Community organization of avian malaria parasites in lowland Amazonia: Prevalence, diversity, and specialization in a local assemblage. University of Missouri-Saint Louis.
- Svensson-Coelho, M., V. Ellis, B. Loiselle, J. Blake, and R. Ricklefs. 2014. Reciprocal Specialization in Multihost Malaria Parasite Communities of Birds: A Temperate-Tropical Comparison. *The American Naturalist* 184:624-635.
- Svensson-Coelho, M., B. Loiselle, J. Blake, and R. Ricklefs. 2016. Resource predictability and specialization in avian malaria parasites. *Molecular Ecology* 25:4377-4391.
- Sweet, A., J. Allen, and K. Johnson. 2014. Novel Primers From Informative Nuclear Loci for Louse Molecular Phylogenetics (Insecta: Phthiraptera). *Journal of Medical Entomology* 51:1122-1126.
- Sweet, A., B. Boyd, and K. Johnson. 2016. Cophylogenetic patterns are uncorrelated between two lineages of parasites on the same hosts. *Biological Journal of the Linnean Society* 118:813-828.
- Sweet, A., and K. Johnson. 2016. Cophylogenetic analysis of New World ground-doves (Aves: Columbidae) and their parasitic wing lice (Insecta: Phthiraptera: Columbicola). *Molecular Phylogenetics and Evolution* 103:122-132.

- Sweet, A., R. Chesser, and K. Johnson. 2017. Comparative cophylogenetics of Australian phabine pigeons and doves (Aves: Columbidae) and their feather lice (Insecta: Phthiraptera). *International Journal for Parasitology* 47:347-356.
- Sweet, A., S. Bush, D. Gustafsson, J. Allen, E. DiBlasi, H. Skeen, J. Weckstein, and K. Johnson. 2018. Host and parasite morphology influence congruence between host and parasite phylogenies. *International Journal for Parasitology*, doi: 10.1016/j.ijpara.2018.01.007.
- Swofford, D. 1998. *Phylogenetic analysis using parsimony*. [Distributed by Sinauer Associates], Sunderland, Mass.
- Štefka, J., P. Hoeck, L. Keller, and V. Smith. 2011. A hitchhikers guide to the Galápagos: cophylogeography of Galápagos mockingbirds and their parasites. *BMC Evolutionary Biology* 11:284.
- Tamura, K., G. Stecher, D. Peterson, A. Filipski, and S. Kumar. 2013. MEGA6: Molecular Evolutionary Genetics Analysis Version 6.0. *Molecular Biology and Evolution* 30:2725-2729.
- Tendeiro, J. 1959. *Étude sur les mallophages africains*. Lisboa.
- Tendeiro, J. 1965. *Nouvelles études sur les Mallophages africains*. *Revista Estudos Gerais Universidade Moçambique* 2.
- Timm, R. 1983. *Fahrenheit's rule and resource tracking: a study of host-parasite coevolution*. University of Chicago Press.
- Tompkins, D., and D. Clayton. 1999. Host resources govern the specificity of swiftlet lice: size matters. *Journal of Animal Ecology* 68:489-500.
- Toon, A., and J. Hughes. 2008. Are lice good proxies for host history? A comparative analysis of the Australian magpie, *Gymnorhina tibicen* and two species of feather louse. *Heredity* 101:127-135.
- Tryjanowski, P., A. Szczykutowicz, and Z. Adamski. 2007. Size variation in chewing lice *Docophorus coarctatus*: how host size and louse population density vary together. *Evolutionary Ecology* 21:739-749.
- Valim, M., and J. Weckstein. 2013. A drop in the bucket of the megadiverse chewing louse genus *Myrsidea* (Phthiraptera, Amblycera, Menoponidae): ten new species from Amazonian Brazil. *Folia Parasitologica* 60:377-400.

- De Vienne, D., T. Giraud, and J. Shykoff. 2007. When can host shifts produce congruent host and parasite phylogenies? A simulation approach. *Journal of Evolutionary Biology* 20:1428-1438.
- Voelker, G., B. Marks, C. Kahindo, U. A'genonga, F. Bapeamoni, L. Duffie, J. Huntley, E. Mulotwa, S. Rosenbaum, and J. Light. 2013. River barriers and cryptic biodiversity in an evolutionary museum. *Ecology and Evolution* 3:536-545.
- Waldenstrom, J., S. Bensch, S. Kiboi, D. Hasselquist, and U. Ottosson. 2002. Cross-species infection of blood parasites between resident and migratory songbirds in Africa. *Molecular Ecology* 11:1545-1554.
- Wappler, T., V. Smith, and R. Dagleish. 2004. Scratching an ancient itch: an Eocene bird louse fossil. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 271:S255-S258.
- Weckstein, J. 2004. Biogeography Explains Cophylogenetic Patterns in Toucan Chewing Lice. *Systematic Biology* 53:154-164.
- Wetmore, A. 1921. A study of the body temperature of birds. *Smithsonian Miscellaneous Collections* 39:285-286.
- Wolfe, N., C. Dunavan, and J. Diamond. 2007. Origins of major human infectious diseases. *Nature* 447:279-283.