

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích
Přírodovědecká fakulta

Vliv potravní preference všenek (Phthiraptera: Amblycera) na formování jejich mikrobiomů

Diplomová práce

Bc. Kateřina Žižková

Školitel: doc. RNDr. Eva Nováková, Ph.D.

Školitel specialista: RNDr. Jana Martinů, Ph.D.

České Budějovice 2021

Žižková, K., 2021: Vliv potravní preference všenek (Phthiraptera: Amblycera) na formování jejich mikrobiomů [Influence of food preference of chewing lice (Phthiraptera: Amblycera) on the formation of their microbiomes. Mgr. Thesis, in Czech] – 62 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace: Microbiome diversity of chewing lice belongs to generally unexplored topics. This thesis provides the first insight into the microbiomes of 15 chewing lice species of the genus *Menacanthus*. We detected the presence of two dominant symbiotic bacteria, which occurred in almost all species. We also compared the microbiome diversity of lice with different diet preferences (blood feeding and feather feeding species). Based on these analyses, we identified the main determinants shaping the microbiomes of *Menacanthus* lice.

Prohlašuji, že jsem autorem této kvalifikační práce a že jsem ji vypracoval(a) pouze s použitím pramenů a literatury uvedených v seznamu použitých zdrojů.

V Českých Budějovicích, 13.4. 2021

Kateřina Žižková

Poděkování

Tímto bych ráda velice poděkovala školitelce této práce Evě Novákové za upřímnou ochotu a pomoc, která zahrnovala nespočet rad a času za celé mé působení v naší laboratoři. Také bych chtěla poděkovat Janě Martinů za cenné připomínky, rady a poskytnutí materiálu. Poděkování patří též Janu Zimovi za přípravu knihoven našeho datasetu.

Obsah

1 Úvod	1
1.1 Phthiraptera	1
1.1.1 Všenky.....	2
1.1.1.1 Amblycera: Menoponidae: Menacanthus.....	4
1.1.1.2 Symbiotické vztahy všenek s bakteriemi	5
1.2 Mikrobiom hmyzu.....	7
1.3 Horizontální a vertikální přenos bakterií.....	9
1.4 Diverzita vnitrobuněčných bakteriálních symbiontů	11
2 Cíle práce	14
3 Materiál a metody	15
3.1 Materiál	15
3.2 Amplikonové knihovny genu pro 16S rRNA.....	15
3.3 Zpracování 16S rRNA amplikonových dat	18
3.4 Dekontaminace dat	19
3.5 Analýzy v R studiu.....	20
4 Výsledky	21
6 Literatura	22
7 Přílohy	42

1 Úvod

1.1 Phthiraptera

Phthiraptera je kosmopolitní řád ektoparazitů savců a ptáků sdružující historicky čtyři podřády. Amblycera, Trichodectidae a Philopteridae (dříve podřád Ischnocera) s podřádem Rhynchophthirina představují skupiny všenek a všiváků, zatímco podřád Anoplura zahrnuje vši (Johnson et al., 2004). Vši i všenky jsou podobně jako jiní ektoparazité morfologicky přizpůsobeny k životu na svých hostitelích: nemají křídla, jsou dorzo-ventrálně zploštělé a mají drápy, kterými dokonale přilnou ke svému hostiteli. Morfologicky se obě skupiny liší. Nejvýznamnějším rozdílem je velikost, tvar hlavy a morfologické adaptace ústního ústrojí (Marshall, 1981). Všenky, v angličtině známé jako „chewing lice“, disponují kousacím ústním ústrojím. Vši, označované anglickým termínem „sucking lice“, mají ústní ústrojí sací a živí se výhradně krví savčích hostitelů, kterou získávají z cév nebo žil (Marcondes et al., 2017). Všenky, na rozdíl od vší, parazitují nejen savce, ale primárně ptáky (Price et al., 2003; Marcondes et al., 2017). Okusováním tělního povrchu svých hostitelů získávají smíšenou potravu. Ta zahrnuje, v závislosti na hostitelské skupině, peří nebo srst, kožní šupiny, případně krev hostitele. V potravě většiny všenek převažuje peří, jehož hlavní složkou je keratin, který tvoří zhruba 90 % hmoty. Jedná se o strukturální protein charakterizovaný vysokým obsahem cystinu a významným množstvím hydroxylových aminokyselin, zejména serinu (asi 15 %; Ramakrishnan et al., 2018). Rezistentní struktura keratinu není odbouratelná běžnými proteolytickými enzymy, jako je trypsin, pepsin nebo papain. Účinného odbourání keratinu jsou schopné jen keratinolytické enzymy, jako jsou keratinázy produkované některými bakteriemi (Gupta & Ramnani 2006). Z nutričního hlediska jsou tedy všenky závislé na obtížně rozložitelném a nevyváženém zdroji potravy.

Podobně výživově omezenou niku využívají i vši. Krev, která je u vší jediným zdrojem potravy, je nutričně nedostatečná. Tato tělesná tekutina dodává do buněk potřebné látky, jako jsou živiny, vitamíny, kyslík a transportuje metabolické odpadní produkty. Krev se skládá z 55 % krevní plazmy, která obsahuje bílkoviny, glukózu, minerální ionty, hormony, oxid uhličitý a krevní buňky. Krevní buňky jsou červené (erytrocyty), bílé krvinky (leukocyty) a krevní destičky (trombocyty; Biggs & Rosemary, 1962). V jejím složení spousta potřebných látek chybí a slouží spíše jako jejich transportér. Je prokázáno, že krevsajícím parazitům chybí vitamíny B a některé kofaktory (Kikuchi et al., 2002; Manzano-Marin et al., 2015).

V rámci hmyzu najdeme mnoho dalších skupin závislých na podobně nevyvážených nebo výživově málo bohatých a špatně stravitelných zdrojů potravy. Kromě obligátně krevsajících parazitů, jako jsou vši, klíšťata, pijavice a upíří netopýři (Duron & Gottlieb, 2020), závislých výhradně na krvi obratlovců, se jedná především o šťávy sající hmyz využívající floem nebo xylem rostlin. Dalším nevyváženým a na zpracování těžkým zdrojem je celulóza, která představuje hlavní složku potravy pro dřevokazný hmyz (Breznak & Brune 1994; Ohkuma 2003). S nutričně málo bohatými zdroji potravy pomáhají takovým skupinám hmyzu symbiotické mikroorganismy (Kaltenpoth et al., 2009; Blum et al., 2013; Martinson et al., 2017). Mikroorganismy mohou podporovat kondici hmyzu tím, že přispívají k výživě, zejména poskytováním esenciálních aminokyselin, vitamínů B a sterolů. Některé mikroorganismy chrání hostitele před patogeny, parazitoidy a jinými parazity syntézou specifických toxinů nebo ovlivněním imunitního systému hmyzu (Kaltenpoth et al., 2009; Fierer et al., 2012; Blum et al., 2013; Martinson et al., 2017). Podrobněji se symbiózou krevsajícího hmyzu, včetně symbiózy všenek, která je hlavním tématem této práce, zabývám v kapitole 1.1.1.2.

1.1.1 Všenky

Vzhledem ke své potravní specializaci mají všenky kousací ústní ústrojí a zkrácené přední nohy, které slouží k přepravě jídla do úst (Marcondes et al., 2017). Jejich dorzoventrálně zploštělá těla s vodorovnou osou hlavy a drápky jim umožňují se pevně přichytit k peří nebo chlupům poblíž zdroje potravy. Tvar velikost hlavy a těla se mezi jednotlivými druhy liší, což je patrné zejména u všenek ptáků, které jsou schopné se adaptovat na různé ekologické niky (části těla) jednoho hostitele. Všenky dosahují délky od 1 do 12 mm a jejich barevné zbarvení koreluje se zbarvením hostitele (Bush et al., 2010; Bush et al., 2019). Ptáci s bílým opeřením, jako jsou labutě, parazitují druhy všenek s bílým zbarvením, zatímco všenky na tmavě opeřené lysce mají černou barvu (Bush et al., 2010; Clay, 2017). Celý životní cyklus, od vajíčka (hnídy), které je přichyceno na peří nebo chlupech, 3 stádií (instarů) nymf až po dospělé, probíhá na hostiteli (Marcondes et al., 2017).

Na většině ptáků nalezneme více druhů (4-5) všenek, které se často specificky adaptují na konkrétní části hostitelova těla (Johnson et al., 2012; Clay, 2017). Nejzajímavějšími adaptacemi se může chlubit například všenka *Tetrophthalamus sp.*, která cizopasí v hrdelním vaku pelikánů, nebo *Neocolpocephalum flavescens Nitzsch* parazitující uvnitř peří (Grandi 1951; Benelli et al., 2018). Některé druhy ptačích všenek využívají různé oblasti těla pro odpočinek, krmení a kladení vajec. Celková morfologie všenek je podmíněna konkrétním

místem, které všenka na hostiteli obývá, a jejich tělo je přizpůsobené tak, aby se co nejvíce vyhnulo vnějším vlivům (očista hostitele). Všenky ptáků se mohou specializovat na oblast křídel, hlavu nebo tělo. Všenky, které osidlují křídla, mívají protáhlé úzké tělo, které jim umožní skrýt se mezi pera (Clayton et al., 2003). Oproti tomu všenky na těle a hlavě bývají menší a robustnější a mají jiné strategie útěku, většinou se rychle pohybují z pera na pero a různě v chmýří (Clayton & Dale H, 1991). Vedle specializovaných druhů existují i generalisté parazitující na celém povrchu ptačích hostitelů. V současné době je známo několik tisíc druhů všenek, jejichž počty se stále mění a řadíme je do podřádů Amblycera, Ischnocera a Rhynchophthirina. Z toho cca 12 % parazituje savce a více než 85 % druhů nalezneme na ptácích (Price et al., 2003; Marcondes et al., 2017). Zatímco Ischnocera je největším podřádem všenek parazitujících zejména ptačí hostitele, podřád Rhynchophthirina se skládá pouze ze tří druhů. Jedná se o parazity afrických a asijských slonů, prasat bradavičnatých a štetkouna šedého (Perotti et al., 2008).

Všenky ptáků se živí peřím, zbytky odumřelé kůže, krví nebo tkáňovými tekutinami. Tekutiny a krev získávají buď kousáním kůže, nebo z centrální dutiny peří. Všenky savců se pravděpodobně nekrmí vlnou ani chlupy, ale zbytky kůže, sekrety, krví a tkáňovými tekutinami. Ischnocernní všenky ptáků se živí pouze peřím, zatímco několik druhů podřádu Amblycera (například *Menacanthus eurysternus*, *M. stramineus*, *M. cornutus*) se živí krví, a dokonce i jinými vešmi, roztoči, jejich vajíčky a houbami (Nelson 1972; Price et al., 2003; Plerezov a Koinarski, 2007; Atkinson et al., 2009; Marcondes et al., 2017). Hematofágní všenky rodu *Trochilocoetes* (Amblycera), které parazitují na kolibřících, mají dokonce kousací ústní ústrojí přeměněno na sací orgán (Carriker & Melbourne, 1960).

Jelikož se jedná o permanentní ektoparazity s životním cyklem probíhajícím na jednom hostiteli (Marshall, 1981), dlouhodobě převládá názor o jejich výrazné hostitelské specifitě. Předpokládalo se, že kolonizace nových hostitelů probíhá pouze při přímém kontaktu dvou ptáků. Ke specifickému přenosu všenek dochází dvěma způsoby. Vertikální cestou, kdy dojde k přenosu všenek z rodičů na mláďata v hnízdě (Clayton & Thompkins, 1994; Janiga & Kubašková, 2000), nebo horizontální cestou, tedy přenosem mezi dospělými ptáky (při kopulaci, v kolóniích (Darolova et al., 2001)). Jedná se tedy o přenos ptáků jednoho druhu.

Předpoklad úzké hostitelské specifity byl však postupně vyvrácen a dnes je zcela zřejmé, že u všenek dochází i k nesespecifickým přenosům mezi nepříbuznými druhy ptačích hostitelů. Může se tak stát v případě hnízdních parazitů (kukaček), v chovech ptáků nebo při kontaktu

dravce a jeho kořisti. Schopnost adaptace na nové hostitele byla potvrzena například u několika druhů všenek Ischnocera, a to *Neopsittaconirmus gracilis* (Guimarães, 1974; Sychra, 2005), *Columbicola macrourae* a *Neopsittaconirmus inexpectatus* (Guimarães, 1974; Lindholm et al., 1998). K přenosu všenek mezi dvěma rozdílnými hostitelskými druhy může také dojít pomocí forézy, tedy přenosu na povrchu těla létajícího hmyzu. Nejčastěji využívají všenky ptakotrudek z čeledi Hippoboscidae (Keirans, 1975). Foretický přenos na tělech ptakotrudek je dokumentován u některých zástupců čeledi Philopteridae, zejména u pérovek rodu *Brueelia* (Johnson et al., 2002). Pohyblivější všenky (Amblycera) se na nepřibuzné hostitele s největší pravděpodobností dostávají aktivně samy, protože se nedokážou udržet delší dobu na těle ptakotrudek (Bartlow et al., 2016). Schopnosti aktivního nebo pasivního přesunu patří pravděpodobně mezi nejdůležitější faktory ovlivňující úroveň specificity hostitele u vší a obecně u parazitů (Bueter et al., 2009). Napříč fylogenezí všenek najdeme jak hostitelsky úzce specializované druhy, tak i generalisty.

Všenky mají, zejména při intenzivních nákazách, negativní vliv na zdraví a kondici svých hostitelů (Booth et al., 1993). Snižují kvalitu tělního pokryvu, mohou sloužit jako zprostředkovatelé bakteriálních infekcí (Bartlett & Cheryl, 1993) a ovlivňují sociální interakce hostitele (Kose et al., 1993). Obrana hostitele má velký vliv na potlačení populací všenek. Jedná se jak o mechanickou obranu, především o péči o peří, jako je koupání a preening (vyčesávání peří), tak i imunitní reakce. Kromě péče hostitele mohou být všenky a jejich vajíčka ovlivněny interakcí s dalšími ektoparazitami, zejména roztoči (Rozsa, 1997). Naopak velký nárůst populace všenek byl zaznamenán v případech, kdy dojde u ptáků k patologickým modifikacím zobáku, který jim znesnadní preening. Celkově u nezdravých jedinců je výskyt všenek větší (Moyer & Clayton, 2004; Clayton et al., 2005). Kromě hostitele je míra parazitismu ovlivněna i abiotickými faktory jako je teplota a vlhkost (Naz et al., 2021). K nárůstu populace všenek v zimním období přispívá i chování ptáků, kteří se zdržují v těsném vzájemném kontaktu a umožňují tak přenos všenek mezi jedinci (Chen & Mullens, 2008; Naz et al., 2010, 2016 a; Sarba et al., 2019; Tizzani et al., 2020).

1.1.1.1 Amblycera: Menoponidae: *Menacanthus*

Podřád Amblycera je velice rozmanitý. Přibližně 1200 druhů žije na ptácích a dalších 200 druhů parazituje na hlodavcích, vačnatcích a jiných savcích (Perotti, 2008). Amblycera zahrnuje šest čeledí: kosmopolitní Menoponidae, Laemobothriidae a Ricinidae parazitují ptactvo, a 3 savčí čeledi s omezenějším geografickým rozšířením, kdy Boopiidae se převážně

vyskytují u vačnatců v Austrálii a Papuy Nové Guiney, zatímco Gyropidae a Trimenoponidae jsou parazité jiho a středoamerických hlodavců (Johnson & Clayton, 2003; Marshal, 2003).

V této studii se zabýváme všenkami rodu *Menacanthus* z čeledi Menoponidae. Rody v čeledi Menoponidae jsou identifikovatelné pomocí krátkých tykadel ukrytých v drážkách za očima (Clay, 1969). Několik druhů z čeledi Menoponidae (*M. eurystermus*, *M. stramineus*, *M. cornutus*) se živí i krví a můžeme je nalézt na všech částech těla hostitele (Ash, J. S. 1960; Trivedi et al., 1991; Plerezov & Koinarski, 2007). Rod *Menacanthus* zahrnuje 98 druhů parazitujících na přibližně 460 druzích ptáků patřících do sedmi řádů. I přes relativně široké spektrum hostitelů najdeme všeny rodu *Menacanthus* nejčastěji u hrabavých ptáků, šplhavců a pěvců (Cicchino, 2003; Price et al., 2003; Palma & Price, 2005; Bansal et al., 2012). U pěvců je doposud známo 10 monoxenních druhů (z 36 popsáných) rodu *Menacanthus* specializovaných na jediný hostitelský druh, a 25 druhů stenoxenních parazitujících 2 až 22 blízké příbuzných ptačích druhů patřících do 1 čeledi (Price et al., 2003). Euryxenním (s širokým spektrem hostitelů) a zároveň kosmopolitním druhem je *M. eurystermus*. *M. eurystermus* často vykazuje relativně vysokou prevalenci a může také dosáhnout vysoké intenzity zamoření (Boyd, 1951, Chandra et al., 1990). Jelikož se jedná o jeden z krevsajících (hematofágních) druhů, může tak nepříznivě ovlivnit fyziologický stav svých hostitelů (Agarwal et al., 1983). Evoluce rodu *Menacanthus* nekopíruje evoluci ptačích hostitelů, namísto toho je provázena četnými přeskoky mezi nepříbuznými čeleděmi ptáků (Martinů et al., 2015). U všenek rodu *Menacanthus* je částečně patrná tendence postupného přechodu z hostitelsky úzce specifických druhů ke generalistovi (*M. eurystermus*) navzdory tradiční hypotéze o evoluci specialistů z parazitů s širší hostitelskou specifitou (Martinů et al., 2015). Z genealogie *M. eurystermus* je patrné, že geografie má větší vliv na populační strukturu všenek než příbuzenské vztahy hostitelů. Mnoho haplotypů je specifických pro určité oblasti nebo lokality, ale jen zřídka pro konkrétní hostitelské druhy (Martinů et al., 2015).

1.1.1.2 Symbiotické vztahy všenek s bakteriemi

Symbióza, ve smyslu soužití organismů různých druhů může mít širokou škálu podob (Frank, 1877; Klepzig et al., 2011) od parazitismu po obligátní mutualismus (Paracer & Ahmadiian, 2000). V tomto kontinuu vztahů najdeme jak jednoho či několik výrazně profitujících partnerů, tak partnery částečně nebo plně využívané jako životní niku a zdroj živin (Szathmáry & Smith, 1995; Leung & Poulin, 2008; Einat Zchori-Fein & Kostas Bourtzis, 2011). Modelový systém této studie se zabývá symbiotickými vztahy na dvou hostitelských úrovních a snaží se zodpovědět otázku, do jaké míry ovlivňují různě specializované parazitické vztahy mezi

všenkami rodu *Menacanthus* a ptáky symbiózu těchto všenek s bakteriemi. Vzhledem k velmi úzké potravní specializaci menacanthů a zejména hematofágní preferenci *M. eurysternus* a *M. stramineus*, přepokládáme, že symbiotické bakterie zde plní nutriční funkci a jejich druhové složení, případně fylogenetický původ, se může na základě potravní specializace jednotlivých hostitelských druhů lišit. Molekulárně zaměřené studie bakteriálních symbiontů rodu *Menacanthus* v podstatě neexistují. Historické záznamy mikroskopického zkoumání spojují druh *Menacanthus stramineus* s „*Rickettsia-like*“ bakteriemi (Ries, 1931). Na základě molekulárních charakteristik byly tyto bakterie zařazeny do široce rozšířené skupiny symbiontů rodu *Wolbachia*, který není možno morfologicky od rickettsií odlišit (Covacin & Barker, 2007).

Podobně jako v případě všenek rodu *Menacanthus* je dosavadní poznání bakteriální symbiózy v rámci celé skupiny Phthiraptera značně omezené. Nejvíce informací o symbiontech je dostupných pro skupinu Anoplura. Primární symbionti této hematofágní skupiny osidlují specializované symbiotické orgány neboli bakteriomy (Braendle et al., 2003) a poskytují hostitelům vitamíny B, které chybí v krvi jako výhradní zdroj potravy (Hypša & Křížek, 2007; Fukatsu et al., 2009; Allen et al., 2016). Bakteriomy byly detekovány také u malé skupiny všenek podřádu Rhynchophthirina a u některých skupin Ischnocer. U všenek podřádu Amblycera bakteriomy pravděpodobně zcela chybí (Perroti, 2008; Boyd & Reed, 2012). Na základě molekulárních analýz je skupina Anoplura hostitelem symbiotických bakterií velké rozmanitosti. Ve srovnání s fytofágními skupinami je prozkoumán pouze malý zlomek zástupců této skupiny, cca pět procent. První fylogenetické studie na genech 16S rRNA odhadovaly 5-6 nezávislých vzniků symbiotických asociací (Hypša & Křížek, 2007). Recentní studie poukazují na vysokou dynamiku vzniku a zániku symbióz vši s bakteriemi patřících do skupin Gammaproteobacteria a Betaproteobacteria (Říhová, et al., 2021). Komplexní genomové charakteristiky jsou zatím dostupné pro čtyři linie primárních symbiontů *Riesia* spp, *Puchtella pedicinophila*, *Candidatus Legionella polyplacis* a bakteriím příbuzných rodu *Neisseria* (Hypša & Křížek, 2007; Říhová, et al., 2021). V porovnání například s mouchami tse tse (Glossinidae), které mají bakterii *Wigglesworthia* jako univerzálního primárního symbionta (Moran et al., 1993; Chen et al., 1999), je diverzita primárních symbiontů vši neporovnatelně vyšší.

V případě ischnocerních všenek jsou dosavadní informace extrémně útržkovité. První popis symbiotických bakterií založený na molekulárních datech existuje pouze z jediného druhu *Columbicola columbae* parazitující holuby. Bakterie žijící v symbióze s touto všenkou jsou

fylogeneticky blízké druhu *Sodalis glossinidius* (Gammaproteobacteria), tedy sekundárnímu symbiontu mouchy tse tse a předpokládá se jejich podíl na syntéze kofaktorů nebo aminokyselin (Fukatsu et al., 2007; Smith et al., 2010; Wang et al., 2012).

Existuje minimum systematických studií symbiotických asociací vši a všenek řádu Phthiraptera. Doposud publikované studie se zaměřují téměř výhradně na screening konkrétních symbiontů, zejména bakterie rodu *Wolbachia*. V rámci skupiny Phthiraptera, s diverzitou cca 4900 popsaných druhů, bylo studováno jen 25 druhů, ve kterých byly bakterie *Wolbachia* detekovány nejméně jednou. U některých z hostitelských druhů byly identifikovány dokonce až čtyři různé linie tohoto bakteriálního rodu (Covacin & Barker, 2002; 2007). Tradiční pojetí studia bakteriální symbiózy hmyzu, zaměřující se na jednu či několik málo symbiotických bakterií, bylo díky technologickému rozvoji transformováno do širšího vnímání ekologických interakcí kompletní mikrobiální komunity osidlující hostitelský organismus (koncept mikrobiomu, Berg et al., 2020).

1.2 Mikrobiom hmyzu

Pojem mikrobiom představuje souhrnné označení všech mikroskopických organismů nacházejících se v těle a na povrchu daného hostitele (Weiss & Aksoy, 2011; Christian et al., 2015). Mikrobiomy hmyzu jsou částečně zodpovědné za evoluční úspěch této rozsáhlé skupiny bezobratlých (Engel & Moran, 2013). Prokazatelně přispívají k doplňování stravy chudé na živiny, které hmyz nedokáže syntetizovat, včetně esenciálních aminokyselin, vitamínů B a sterolů, a pomáhají hmyzu se stravou bohatou na vlákninu degradací komplexních rostlinných polysacharidů. Mikrobiomy hmyzu hrají rovněž roli ve fixaci dusíku, chrání před predací, parazity, patogeny, přispívají k mezidruhové a vnitrodruhové komunikaci, mají vliv na vektorovou kapacitu hostitele a mohou ovlivňovat jeho páření a rozmnožování (Kaltenpoth et al., 2009; Fierer et al., 2012; Blum et al., 2013; Martinson et al., 2017).

Hmyz představuje komplexní prostředí pro širokou škálu specifických mikroorganismů. Nejčastějším stanovištěm pro mikrobiální kolonisty jsou vnější kutikula a střeva. Mikroorganismy, které dokážou narušit exoskeleton nebo střevní stěnu, mohou získat přístup k hemocoelu a další řadě míst poskytovaných buňkami hmyzu. Exoskeleton hmyzu je sice důležitá fyzická bariéra proti mikrobiálním infekcím, ale funguje i jako substrát, který může být kolonizován různými mikroorganismy (Douglas, 2015; Engel & Moran, 2013). Zejména střevo hmyzu, které poskytuje množství živin a ochranu před nepřízní vnějšího prostředí (vysychání, záření), vytváří příznivé prostředí pro mikroorganismy. Na druhou stranu se zde

musí mikroorganismy vyrovnat s celou řadou problematických vlastností, jako jsou fyzikálně-chemické podmínky (např. obsah kyslíku, pH, redoxní potenciál), přítomnost trávicích enzymů, případně patologické změny tohoto prostředí. U většiny druhů hmyzu je proto zadní část střeva, která již neobsahuje trávicí enzymy, hlavní nikou pro početné mikrobiální populace (Douglas, 2015; Engel & Moran, 2013).

Právě výše zmíněné podmínky jako jsou struktura střev, pH, redoxní podmínky, zaživací enzymy, ale i konkrétní ekologické a biologické charakteristiky hostitele zahrnující typ přijímané potravy, životní stadium a životní prostředí patří k hlavním faktorům determinujícím vlastnosti mikrobiomů (Dillon & Dillon, 2004; Kikuchi et al., 2007; Yun et al., 2014; Pérez-Cobas et al., 2015). Mikrobiom každého organismu, jak lidského, tak parazitického úzce souvisí s potravní specializací daného hostitele. Hmyz s jednoduchým trávicím traktem pravděpodobně obsahuje méně rozmanitou mikrobiotu, zatímco u hmyzu se složitější strukturou existuje celá řada mikroorganismů (Tanada & Kaya, 1993). Některé housenky mají relativně jednoduché střevní mikrobiomy, protože se živí pouze jedním hostitelským druhem rostlin (Hammer et al., 2017). Naopak saprofytický hmyz, například termiti, mají prokazatelně velké a rozmanité střevní mikrobiomy, které obsahuje více než 1000 druhů bakterií potřebné k trávení rozpadajícího se dřeva, především celulózy, trávy i půdy (Yamada et al., 2007; Bourguignon et al., 2018).

Dalším zásadním faktorem formující složení mikrobiomů je identita hostitelských druhů (Brooks et al., 2016, Mazel et al., 2018). Tento vzorec je pravděpodobně výsledkem filtrování mikrobiálních taxonů hostitelem (např. prostřednictvím stravy hostitele, stanoviště nebo imunitního systému) nebo výsledkem koevoluce hostitele a mikrobiálních společenstev (Adair & Douglas, 2017, Lim & Bordenstein, 2020). U parazitů sajících krev, jako jsou například klíšťata, vši a triatomy, je složení mikrobiomu determinováno právě druhem hostitele (Zhang et al., 2014; Zolnik et al., 2018; Landesman et al., 2019; Lee et al., 2019). U klíšťat, ještě důležitější než identita hostitelského druhu, je individuální identita hostitelské krevní potravy (Landesman et al., 2019; Doña et al., 2020). U většiny druhů členovců, zejména u parazitů sajících krev, však zůstává povaha vnitrodruhové variace mikrobiomů a relativní důležitost faktorů formujících tuto variaci nedostatečně objasněna.

Formování mikrobiálních komunit se velmi liší mezi otevřenými systémy (podléhající invazi vnějších mikroorganismů a uzavřenými systémy (izolované lokalizací a hostitelskými faktory od přichozích mikroorganismů)). Mikrobiální komunity na pokožce a ve střevech jsou

otevřené systémy, zatímco intracelulární symbiózy jsou převážně uzavřené (Douglas, 2015). Existuje řada hostitelských systémů, u kterých se tyto systémy prolínají. Například až jedna třetina druhů komárů (Culicidae) interaguje kromě bakterií střevního mikrobiomu i s vnitrobuněčnými symbionty rodu *Wolbachia* (Inácio da Silva et al., 2021). Zatímco přenos bakterií v uzavřených systémech probíhá zpravidla vertikální cestou, tedy z matky na potomstvo, dynamika a diverzita otevřených systémů (zahrnujících střevní mikrobiomy) je determinována především horizontálním přenosem bakterií (Gauthier et al., 2015).

1.3 Horizontální a vertikální přenos bakterií

Horizontální přenos bakterií je zprostředkován prostřednictvím kontaktu mezi hostiteli nebo kontaktem hostitele a jeho přirozeného prostředí. Přesné mechanismy nejsou příliš známy, ale obecně se předpokládá, že horizontální přenos je klíčovým způsobem rozptylu symbiontů v uzavřených i otevřených symbiotických systémech. (Henry et al., 2013). Důkazem této domněnky je distribuce některých symbiotických rodů v široké škále nepříbuzných bezobratlých hostitelů. Jedny z nejvíce prozkoumaných endosymbiotických bakterií u hmyzu jsou bakterie rodu *Wolbachia*, jejichž distribuce často nekopíruje fylogenetické ani geografické pozadí hostitelského organismu (Smith et al., 2012). Záchyty blízké příbuzných linií rodu *Wolbachia* u vzdáleně příbuzných druhů hostitelů naznačují, že horizontální přenosy mohou pokrýt velké fylogenetické vzdálenosti (Stouthamer et al., 1999; Noda et al., 2001; Sanaei et al., 2021). Bakterie *Wolbachia* je ukázkovým příkladem bakterie, která využívá horizontální přenos k disperzi mezi nepříbuznými hostiteli. V jejich populacích se pak udržuje pomocí vertikálního přenosu a v několika skupinách členovců, jako jsou štěnice a hlístice (Nikoh, et al., 2014, Pietri et al., 2016, Fisher et al., 2018), lze sledovat její koevoluční historii s hostitelem (viz níže). Parazitické organismy jsou schopny získat bakterie od infikovaných hostitelů. Například parazitické vosy rodů *Trichogramma* a *Leptopilina* nebo suchozemští stejnonožci druhu *Armadillidium vulgare* jsou schopni získat bakterii *Wolbachia*, když parazitují na *Wolbachia* pozitivních hostitelích (Rigaud & Juchault 1995; Heath et al. 1999; Huigens et al. 2004). Tento jev byl detekován u obligátní endosymbiotické bakterie *Rickettsia*, což je monofyleticky příbuzná bakterii *Wolbachia* a bývá horizontálně přenášena na savce prostřednictvím klíšťat, kteří slouží jako vektorů. Je tedy možné, že paraziti mohou nejen získat bakterii, ale také ji přenášet (Anderson & Karr 2001; Brown & Vett, 2015). Další častou bakterií, kterou lze nezávisle získat pomocí horizontálního přenosu jsou bakterie *Arsenophonus*. Rod *Arsenophonus* stejně jako *Wolbachia* vykazuje řadu fenotypů zahrnující i horizontálně přenášené patogeny rostlin, jejichž vektory

jsou žilnatky (*Cixius wagneri*). Tato konkrétní linie *Arsenophonus* je nejen schopna horizontální disperze prostřednictvím fytofágních vektorů, ale i vertikálního přenosu z mateřské na dceřinné rostliny (Dittmer et al., 2021). Detailněji studován je přenos symbiontů *Arsenophonus* zejména u hospodářsky významných škůdců, například molice bavlníkové (*Bemisia tabaci*), kde zastávají bakterie *Arsenophonus* funkci sekundárního symbionta ovlivňujícího tepelnou toleranci a odolnost hostitele vůči parazitoidům (Paredes-Montero et al., 2020).

V obou rodech bakterií, *Wolbachia* a *Arsenophonus*, jsou známé i koevolující linie, které se v rámci svých hostitelských druhů přenášejí výhradně vertikální cestou, tj. ze samic na potomky. V takovém případě jsou tyto bakterie pro hostitele nepostradatelné a zastávají funkci primárního nutričního symbionta, například *Wolbachia* u štěnic *Cimex lecticularius* (Moran et al., 2008; Nikoh et al., 2014) nebo *Arsenophonus* u kloše (*Lipoptena cervi*, Diptera: Hippoboscidae; Nováková et al., 2009; Morse et al. 2013; Nováková et al., 2016). Trasy vertikálního přenosu se u symbiotických systémů liší. Primární symbionti mšic, mravenců a několika dalších hmyzích taxonů nejsou schopné přežít mimo buňky a musí být přeneseny transovariálně, tedy přes vajíčka (Buchner, 1965; Douglas, 1998;) nebo přes mléčné žlázy k vyvíjejícím se larvám, jak je to například u much tse tse a jim příbuzných zástupců skupiny Hippoboscidae (Buchner, 1965; Aksoy et al., 1997). U hmyzu ze skupiny Hemiptera bylo popsáno několik mechanismů nepřímého vertikálního přenosu. Nymfy některých druhů mohou získávat symbionty požitím exkrementů od dospělých jedinců (Baines, 1956; Buchner, 1965; Beard et al., 2002), jiní přijímají symbiotické bakterie tak, že matky při kladení vajíček potírají sekrety s bakteriemi povrch svých vajíček. (Rosenkranz, 1939; Buchner, 1965; Kaltenpoth et al., 2009). Obzvláště zajímavý mechanismus přenosu využívá čeleď kněžicovití (Pentatomidae), kteří vytvoří speciální kapsli se symbionty a uloží ji k nakladeným vajíčkům tak, aby ji čerstvě vylíhlá mláďata našla a jejím pozřením získala symbiotické bakterie (Fukatsu & Hosokawa, 2002; Hosokawa et al., 2005). Ve srovnání se savci či ptáky je přímý přenos hmyzích střevních symbiontů mnohem omezenější vzhledem k tomu, že po nakladení vajíček samice zpravidla opouští své budoucí potomstvo. To neplatí pro některé sociální druhy hmyzu, jako jsou šváby, termity, mravenci, vosy a včely, jejichž potomstvo získává střevní mikrobiom pomocí tropholaxe nebo koprofágie (Hongoh et al., 2005; 2006; Martinson et al., 2012).

Mikroorganismy jsou přítomny všude kolem nás. Prostředí, ve kterém organismus žije, obsahuje specifické bakterie související s daným místem. Díky moderním metodám

molekulární biologie je možné charakterizovat komplexní bakteriální komunity spojené s různými environmentálními stanovišti či hostitelskými organismy. Půdní mikrobiomy obsahují mimořádně bohatá a rozmanitá společenství bakterií (Lozupone & Knight, 2019). Rostliny mají také specifické mikrobiomové složení (Bulgarelli et al., 2012). Bylo dokonce potvrzeno, že housenky herbivorního hmyzu mohou získávat bakterie nejen z rostliny, kterou se živí, ale i z půdy, v které žije daná rostlina (Hannula et al., 2019). Specifické prostředí, ze kterého mohou zejména parazitické organismy včetně všenek přijímat bakterie, je peří. Mikrobiom peří, konkrétně z rorýsů obecných (*Apus apus*), už byl také molekulárně analyzován (Musitelli et al., 2018). Otevřenost velké většiny symbiotických systémů nabízí hostitelským organismům nespočet cest a možností, jak získat širokou škálu symbiontů, kteří přináší řadu výhod a mohou zásadně ovlivňovat jejich evoluci.

1.4 Diverzita vnitrobuněčných bakteriálních symbiontů

Převážná většina diverzity vnitrobuněčných bakteriálních symbiontů se nachází v uzavřených symbiotických systémech. Některé z nich, jako jsou zástupci rodů *Wolbachia*, *Cardinium*, *Spiroplasma* a *Arsenophonus* lze ovšem nalézt i v otevřených symbiotických systémech, u kterých mohou do různé míry měnit strukturu populací. Někteří zástupci výše zmíněných rodů jsou známí jako reprodukční manipulátoři, kteří dokážou změnit poměry pohlaví v hostitelské populaci. Bakterie *Wolbachia* je nejen nejčastějším reprodukčním manipulátorem, ale také jedinou skupinou bakterií schopnou indukovat všechny čtyři známé typy reprodukčních manipulací (Werren et al., 2008; Cordaux et al., 2011; Sanaei et al., 2021), kterými jsou: zabíjení samců, genetická feminizace, cytoplazmatická inkompatibilita a parthenogeneze (Harcombe & Hoffmann, 2004; Mateos et al., 2006; Duron et al., 2008; Werren et al., 2008; White et al., 2011; Sanaei et al., 2021).

Podobně mohou fitness hostitele, za určitých ekologických podmínek, zvyšovat i takzvaní fakultativní neboli sekundární symbionti, kteří nejsou pro hostitele životně nezbytní a v populaci hostitele nejsou fixovaní. Fakultativní symbionti poskytují například ochranu před parazitoidy, houbami, nematodami, regulují imunitu i tepelnou toleranci svých hostitelů (Fytrou et al., 2006; Vorburger et al., 2010; Xie et al., 2010; Brumin et al., 2011; Parker et al., 2013; Xie et al., 2014; Haselkorn et al., 2015). Zajímavým příkladem je bakterie *Hamiltonella defensa*, u které bylo prokázáno, že poskytuje mšicím ochranu před parazitoidy (Oliver et al., 2003) uvolňováním těkavých látek z rostlin (Parker et al., 2013; Imler Jean-Luc, 2014). Další fakultativní endosymbionti, jako je *Regiella insecticola* a různé linie rodů *Wolbachia*, *Spiroplasma* a *Rickettsia*, také poskytují svým hostitelům ochranu před parazitoidy, houbami

a nematody (Fytrou et al., 2006; Vorburger et al., 2010; Xie et al., 2010; Parker et al., 2013; Xie et al., 2014; Haselkorn et al., 2015). Změny ve složení vnitrobuněčné mikrobioty mají za následek prokazatelné snížení či zvýšení imunity a rezistence hostitele vůči parazitoidům (Chaplinska et al., 2016; Ferguson et al., 2018). U molice *Bemisia tabaci* (Hemiptera: Aleyrodidae) dochází k toleranci tepelného šoku snížením počtu *Rickettsii* a expresí genů symbionta spojených se stresovou reakcí (Brumin et al., 2011).

Primární nebo také obligátní symbionti, vyskytující se ve specializovaných symbiotických orgánech u každého jedince hostitelské populace, jsou vertikálně přenášené bakterie, které pro hostitele zajišťují životně důležité funkce (Lo et al., 2016; Amparo & Manzano-Marin, 2017). Obligátní symbionti jsou podmínkou pro fungování mnoha skupin hmyzu závislých na nevyvážené potravě, se kterými sdílí evoluční historii. Mohou být vnímáni jako analogie mikrobiálních komunit otevřených symbióz, jelikož plní jak nutriční, tak imunitní funkce, respektive se na imunitě svých hostitelů mohou zásadně podílet (Shigenobu et al., 2000; Akman et al., 2002). Mezi nutričně nevyvážené zdroje potravy patří dřevěné materiály, rostlinné šťávy a krev obratlovců. Zatímco u dřevokazného hmyzu pomáhají bakterie v mikrobiomu střeva trávit rostlinné polysacharidy a doplňovat dusík (Breznak & Brune 1994; 2003), u hmyzu přijímajícího pouze rostlinné šťávy (fytofágové) nebo krev (hematofágové) zajišťují nutriční funkci obligátní intracelulární symbionti. Floem a xylem je chudý zejména na esenciální aminokyseliny. Krev obratlovců, jako výhradní zdroj potravy hematofágních členovců, je typická nízkým obsahem vitamínů skupiny B. Právě tyto látky syntetizují obligátní (primární) symbionti a poskytují je svým hostitelům (Campbell & Bernays, 1990; Douglas, 2013). Jeden z nejvíce prozkoumaných endosymbiotických vztahů je mezi mšicemi a bakteriemi druhu *Buchnera aphidicola*. Tato bakterie produkuje esenciální aminokyseliny, které chybí ve stravě mšic, pomocí doplňkových enzymů kódovaných mšicemi. Neesenciální aminokyseliny, které nejsou syntetizovány *Buchnera aphidicola*, jsou syntetizovány bakteriocyty mšic. Jedná se o příklad vzájemné závislosti metabolických aktivit hostitele a jeho endosymbiontů (Liadouze et al., 1996; Shigenobu et al., 2000, Zientz et al., 2004; Hansen et al., 2011). Typickým příkladem obligátní symbiózy hematofágního hmyzu jsou mouchy tse tse a jejich endosymbiotické bakterie *Wigglesworthia glossinidia*, které doplňují hostiteli vitamíny B1, B2, a B6 (Noggi, 1981; Akman et al., 2002, Bing et al., 2017). U Phthiraptera je nejznámějším příkladem vztah mezi vši rodu *Pediculus* a bakterií *Riesia pediculicola*, která doplňuje především kyselinu pantothenovou (vitamin B5; Perotti et al., 2008).

Nejen v rámci diverzity bakteriálních symbiontů, ale i v rámci jednotlivých bakteriálních rodů najdeme širokou škálu symbiotických fenotypů, pro které jsou dvě výše popsané kategorie primárních a sekundárních symbiontů často nedostačující. Typicky diverzifikovanými jsou bakterie z rodů *Wolbachia* a *Arsenophonus*. U většiny členovců je vztah s těmito symbionty fakultativní případně až parazitický (reprodukční manipulátoři). Bakterie *Wolbachia* jsou symbionty mnoha skupin členovců a hlístic, které nalezneme až v 66 % hostitelských druhů po celém světě (Zug & Hammerstein, 2012). Jedná se o velmi různorodou bakterii, která je fylogeneticky rozdělena na 17 „superskupin“ (Wang et al., 2016). Rozmanitost fenotypů těchto skupin zahrnuje reprodukční manipulace (Hurst et al., 2000), vlivy na změny fyziologické i behaviorální (Beltran-Bech & Richard, 2014, Truitt et al., 2019) změny citlivosti na patogeny (Hedges et al., 2008; Kambris et al., 2009; Ekwudu et al., 2020) i obligátní vztahy se syntézou živin (Moriyama et al., 2015), například u hlístic a štěnic si bakterie *Wolbachia* vytvořily obligátní vztah se svým hostitelem. U krevsajících štěnic zastává *Wolbachia* nutriční funkci doplňováním vitamínů skupiny B (Nikoh, et al., 2014, Pietri et al., 2016, Fisher et al., 2018). Podobně jako *Wolbachia* má i rod *Arsenophonus* několik rolí od obligátních až po parazitické. O obligátního symbionta se jedná u čeledi Hippoboscidae s nutriční funkcí (Trowbridge et al., 2006; Nováková et al., 2009). Na rozdíl od bakterie *Wolbachia*, *Arsenophonus* nevykazuje všechny čtyři formy reprodukční manipulace, ale zaměřuje se pouze na zabíjení samců (Cordaux et al., 2011). Široká distribuce těchto bakterií může být způsobena právě schopností měnit reprodukci hostitele (Novakova et al., 2009; Zug & Hammerstein, 2012). Tyto dva široce distribuované symbiotické rody mohou být přítomni ve stejném hostiteli. Například u hmyzu *Nilaparvata lugens* je vysoké zastoupení obou těchto bakterií (Guo et al., 2021). Interakce mezi koexistujícími symbionty může ovlivnit mikrobiální komunitu daného hostitele, protože bakterie mohou soutěžit o zdroje potravy či prostor v hostitelském těle (Koga et al., 2003; Choisy et al., 2010). U mšic je hustota obligátního symbionta *Buchnera aphidicola* snížena, když je v hostiteli zastoupena bakterie *Serratia symbiotica* nebo *Rickettsia* (Koga et al., 2003; Sekurai et al., 2005), ale v případě výše zmíněné koexistence linií *Wolbachia* a *Arsenophonus* v *N. lugens* (Guo et al., 2021) nebyla zjištěna žádná negativní interakce.

2 Cíle práce

1. Determinovat hlavní funkční složky mikrobiomů vybraných druhů všenek rodu *Menacanthus* s odlišnou potravní preferencí.
2. Posoudit možnou konvergenci mezi mikrobiomy všenek žívících se krví hostitele (*Menacanthus eurysternus*) a vybraných druhů vší.

3 Materiál a metody

3.1 Materiál

Tato studie je součástí komplexního výzkumného projektu zaměřeného na všenky rodu *Menacanthus* (Menoponidae). V předchozích fázích projektu byl proveden sběr, izolace a identifikace materiálu. Analyzované vzorky použité v této studii pochází ze 17 států napříč čtyřmi světadíly (viz Tab. I a Obr. 1). Jedná se o 157 jedinců získaných z 65 druhů ptačích hostitelů (viz sekce přílohy Obr. P1). Z 98 popsáných druhů rodu *Menacanthus* bylo analyzováno 15 druhů s odlišnou hostitelskou specifitou (viz Tab. II) i potravní specializací a několik fylogenetických linií všenek rodu *Menacanthus*, souhrnně označených jako *Menacanthus* sp., u kterých není jasné druhové zařazení. Druhové zařazení vzorků se v některých případech neshoduje s dosud publikovaným fylogenetickým pozadím (Martinů et al., 2015; Příloha Obr. P2). Druhy *M. orioli*, *M. currucae* a *M. takamayai* jsou pravděpodobně parafyletické (rozpadají se do hostitelsky či geograficky specifických linií, viz sekce přílohy Obr. P2; Martinů et al., 2015). Nejpočetněji zastoupeným druhem v datasetu byl *Menacanthus eurysternus*, zahrnující 56 jedinců. Vzorky tohoto druhu, jakožto hostitelského generalisty, pocházejí z širokého spektra hostitelů (27 druhů ptáků, viz sekce přílohy Obr. P1). V datasetu jsou rovněž zastoupeni hostitelští specialisté a druhy parazitující několik málo hostitelů (viz Tab. II). Většina z analyzovaných druhů jsou okusovači živící se převážně peřím. Dva druhy, *M. eurysternus* a *M. stramineus* jsou považovány za hematofágy (Atkinson et al., 2009; Marcondes et al., 2017). Materiál v podobě DNA templátů (sesbírán a pourčován Danielem L. Gustafssonem a Oldřichem Sychrou a izolován Janou Martinů) byl poskytnut školitelem.

3.2 Amplikonové knihovny genu pro 16S rRNA

DNA templáty byly jednotlivě amplifikovány pomocí fúzních barcodovaných primerů dle zavedeného protokolu (Brown et al. 2020). Spolu s DNA všenek byly amplifikovány i 4 vzorky uměle vytvořených mikrobiálních komunit sloužící jako pozitivní kontrola. Takzvané „mock community“ jsou komunity se známým složením pocházející ze směsi bakteriálních kultur. Zahrnutí těchto kultur do fáze amplifikace umožňuje vyhodnotit případný amplifikační bias, kvalitu a citlivost sekvenace zejména u bakterií s minimálním zastoupením (Bakker, 2018). Vzorky s mock komunitami jsou obvykle klasifikovány jako „even“ a „staggered“, což odpovídá poměrům jednotlivých druhů bakterií. U „even“ komunit je koncentrace všech složek rozvržena rovnoměrně. „Staggered“ komunity mají koncentraci

některých bakterií velmi nízkou a poskytují tak lepší test citlivosti sekvenování (https://drive5.com/usearch/manual/otu_qc_controls.html). Knihovna obsahovala 2 vzorky mock komunit even (ATCC MSA1000) a 2 vzorky mock komunit staggerred (ATCC MSA1001) s deseti druhy bakterií. Do amplifikace byly zahrnuty i dvě negativní kontroly v podobě chybějícího templátu, díky kterým jsme mohli identifikovat případné kontaminace. PCR produkty byly následně přečištěny, ekvimolárně smíchány do společné multiplexové knihovny, a odeslány na sekvenování na platformě Illumina MiSeq s použitím v2 sekvenační chemie a 500 cyklů čtení. Knihovna byla vytvořena technickým pracovníkem laboratoře, Janem Zimou.

Tab. I: Přehled původu všech vzorků rozdělených podle druhu (čísla u názvů představují počty vzorků).

		<i>M. euryastermus</i>	<i>M. camelinus</i>	<i>M. orioli</i>	<i>M. currucae</i>	<i>M. sinuatus</i>	<i>M. stramineus</i>	<i>M. brelihi</i>	<i>M. chrysophaeus</i>	<i>M. takayamai</i>	<i>M. obrtelii</i>	<i>M. alaudae</i>	<i>M. nogoma</i>	<i>M. pici</i>	<i>M. pusillus</i>	<i>M. gonophaeus</i>	<i>M. sp.</i>
		56	11	15	20	6	4	4	3	6	4	2	6	2	2	1	15
Bulharsko	3	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Švédsko	43	17	7	0	9	3	0	0	0	0	0	0	0	2	2	1	3
Č. republika	3	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Řecko	9	0	1	0	4	0	4	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Francie	2	2	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
S. republika	11	0	0	0	4	0	0	3	0	0	4	0	0	0	0	0	0
Keňa	9	0	0	5	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0	0	0	1
Kamerun	8	3	0	2	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	2
Jižní Afrika	12	5	0	4	0	0	0	0	0	0	0	2	1	0	0	0	0
Azory	6	6	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0
Paraguay	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
Kostarika	10	7	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	3
Mexiko	3	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	3
Honduras	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	0	1
Japonsko	17	9	0	0	0	0	0	0	3	3	0	0	2	0	0	0	0
Vietnam	6	0	0	3	0	0	0	0	0	0	0	0	3	0	0	0	0
Čína	10	7	0	0	2	0	0	1	0	0	0	0	0	0	0	0	0



Obr. 1: Geografický přehled původu analyzovaných jedinců (čísla v závorce jsou počty jedinců pocházející z dané země).

Tab. II: Přehled analyzovaných druhů rodu *Menacanthus* a jejich hostitelské spektrum (čísla u názvů jsou počty jedinců z daného hostitelského spektra, v tabulce není *M. gonophaeus*, kvůli nízkému počtu vzorků (1))

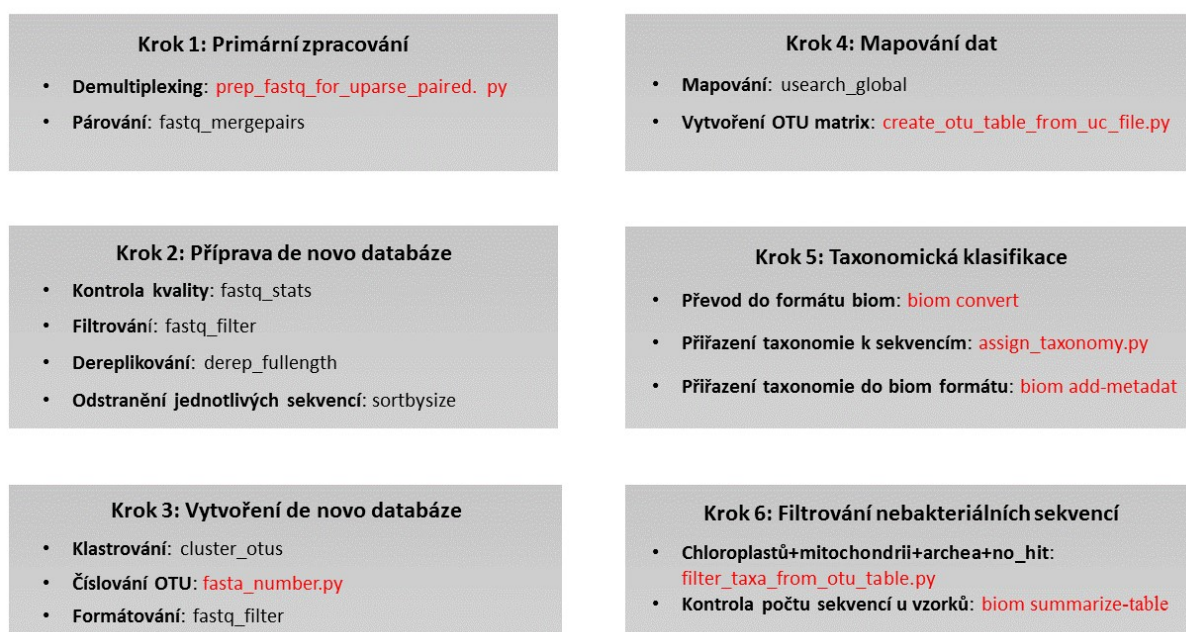
	Monoxenní (specialisti) 43	Monoxenní/ stenoxenní 7	Stenoxenní 14	Stenoxenní/ euryxenní 3	Euryxenní (generalisti) 68
<i>M. eurysternus</i>	0	0	0	0	56
<i>M. alaudae</i>	2	0	0	0	0
<i>M. brelihi</i>	2	0	0	0	0
<i>M. camelinus</i>	11	0	0	0	0
<i>M. currucae</i> *	2	7	0	3	7
<i>M. chrysophaeus</i>	3	0	0	0	0
<i>M. nogoma</i>	4	0	0	0	0
<i>M. pici</i>	2	0	0	0	0
<i>M. pusillus</i>	2	0	0	0	0
<i>M. sinuatus</i>	6	0	0	0	0
<i>M. stramineus</i>	4	0	0	0	0
<i>M. takayamai</i>	5	0	0	0	0
<i>M. orioli</i> *	0	0	14	0	1
<i>M. obrteli</i>	0	0	0	0	4

* Druhy *M. currucae* a *M. orioli* jsou parafyletické a rozpadají se na jednotlivé fylogenetické linie s odlišnou hostitelskou specifitou, viz sekce přílohy (Obr. P2).

3.3 Zpracování 16S rRNA amplikonových dat

Soubor hrubých dat byl zpracován do podoby taxonomické tabulky OTU (Operation Taxonomic Unit) pomocí vybraných příkazů programu Usearch (<http://drive5.com/usearch/>) a Qiime (<http://qiime.org/>). Zpracování dat zahrnovalo několik kroků. Prvním krokem bylo demultiplexování, kdy došlo k rozřídění dat a rozdělení jednotlivých readů ke konkrétním vzorkům na základě unikátního barcodu. Dalším krokem bylo párování forwardových a reverzních readů, které se překrývaly úsekem o minimální délce 20bp tak, aby minimální délka výsledné spárované sekvence byla alespoň 400bp. V dalším kroku proběhlo filtrování sekvencí dle kvality. Dále byla vytvořena na základě 100% sekvenční shody de novo databáze,

tzv. reprezentativní set, v němž každá sekvence byla označena jako unikátní OTU. Demultiplexovaná data byla následně přiřazena k reprezentativnímu setu sekvencí na základě 97% sekvenční shody. Výsledkem tohoto kroku byla OTU tabulka, která obsahovala informace o počtu jednotlivých OTU pro každý vzorek. S pomocí blast algoritmu (<http://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>) a databáze SILVA 138 (February 2021, <https://www.arb-silva.de/download/archive/qiime/>) byla jednotlivá OTU taxonomicky zařazena. V posledním kroku došlo k odstranění všech sekvencí, které byly taxonomicky identifikovány jako nebakteriální, tj. chloroplasty, mitochondrie a Archea.



Obr. 2: Znárodnění postupu bioinformatického zpracování ampliconových dat. Program Qiime byl použit u příkazů označených červeně a Usearch u černých příkazů (Žižková, 2017).

3.4 Dekontaminace dat

Negativní kontroly obsahovaly nezanedbatelné množství readů (NK3 obsahovala 4051 readů a NK4 2705 readů). Z datasetu bylo odstraněno celkem 12 OTU, které se vyskytovaly u obou negativních kontrol, a jedno OTU nalezené ve vzorku mock komunit, které neodpovídalo originálnímu složení použitého DNA templátu. Taxony kontaminovaných OTU patří do rodů *Massilia*, *Sphingomonas*, *Arthrobacter*, *Brevundimonas*, *Cutibacterium*, *Methylobacterium*, *Methylorubrum* OTU150 i OTU142, *Micrococcus*, *Pusillimonas*, *Sphingomonas*, *Rhodococcus*, *Cedecea*, *Granulicatella*.

3.5 Analýzy v R studiu

Analýzy dekontaminovaného datasetu v podobě OTU tabulky byly prováděny v R studiu (<https://www.rstudio.com/>). K vyhodnocení mikrobiální diverzity na různých úrovních byly použity moduly `vegan` a `phyloseq` navržené pro účely mikrobiální ekologie (McMurdie & Holmes, 2013, <https://www.rdocumentation.org/packages/vegan/versions/2.4-2/topics/vegan-package>). K vyhodnocení alpha diverzity byly použity kvantitativní indexy Richness a Shannon. Pro účely analýzy podobností mezi různými skupinami mikrobiomů byly vypočítány Bray-Curtis vzdálenosti mezi jednotlivými vzorky, s kterými byly následně provedeny klastrovací analýzy NMDS (Non-metric multidimensional scaling) a PCoA (Principal Coordinate(s) Analysis). S pomocí funkce `Adonis` byla posouzena signifikance rozdílů mezi skupinami mikrobiomů sružených jednotlivými faktory. Konkrétně byly testovány vlivy druhového zařazení všenek a jejich geografického původu, potravní preference všenek, rozsahu spektra ptačích hostitelů, které všenky přirozeně parazitují, a vliv taxonomické identity ptačího hostitele. Potenciální rozdíly v homogenitě analyzovaných skupin byly testovány pomocí funkce `beta`, dostupné v modulu `phyloseq`. Grafická podoba výsledků byla vytvořena pomocí modulu `ggplot` (<https://rstudio.com/wpcontent/uploads/2015/03/ggplot2-cheatsheet.pdf>).

4 Výsledky

Výsledky této práce budou zahrnuty v publikaci, která vyjde do konce roku 2021.

6 Literatura

Adair, Karen L., and Angela E. Douglas. "Making a microbiome: the many determinants of host-associated microbial community composition." *Current Opinion in Microbiology* 35 (2017): 23-29.

Adair, Karen L., et al. "Host determinants of among-species variation in microbiome composition in drosophilid flies." *The ISME journal* 14.1 (2020): 217-229.

Agarwal, G. P., A. K. Saxena, and S. Chandra. "Haematophagous behaviour of *Menacanthus eurysternus* (Mallophaga, Amblycera)." *Angewandte Parasitologie* 24.1 (1983): 55-59.

- Akhter, Mursheda, et al. "Microbial bioremediation of feather waste for keratinase production: an outstanding solution for leather dehairing in tanneries." *Microbiology insights* 13 (2020): 1178636120913280.
- Akman, Leyla, et al. "Genome sequence of the endocellular obligate symbiont of tsetse flies, *Wigglesworthia glossinidia*." *Nature genetics* 32.3 (2002): 402-407.
- Akram, Fatima, et al. "Keratinolytic Enzyme from a Thermotolerant Isolate *Bacillus* sp. NDS-10: An Efficient Green Biocatalyst for Poultry Waste Management, Laundry and Hide-dehairing Applications." *Waste and Biomass Valorization* (2021): 1-18.
- Aksoy, S., Xiao-ai Chen, and V. Hypsa. "Phylogeny and potential transmission routes of midgut-associated endosymbionts of tsetse (Diptera: Glossinidae)." *Insect molecular biology* 6.2 (1997): 183-190.
- Allpress, J. D., G. Mountain, and P. C. Gowland. "Production, purification and characterization of an extracellular keratinase from *Lysobacter* NCIMB 9497." *Letters in Applied Microbiology* 34.5 (2002): 337-342.
- Andrew W. Bartlow, Scott M. Villa, Michael W. Thompson, Sarah E. Bush, Walk or ride? Phoretic behaviour of amblyceran and ischnoceran lice, *International Journal for Parasitology*, Volume 46, Issue 4, 2016, Pages 221-227.
- Ash, J. S. "A study of the Mallophaga of birds with particular reference to their ecology." *Ibis* 102.1 (1960): 93-110.
- Atkinson, Carter T., Nancy J. Thomas, and D. Bruce Hunter, eds. *Parasitic diseases of wild birds*. John Wiley & Sons, 2009.
- Bach, Evelise, et al. "Production, one-step purification, and characterization of a keratinolytic protease from *Serratia marcescens* P3." *Process Biochemistry* 47.12 (2012): 2455-2462.
- Baines, S. "The role of the symbiotic bacteria in the nutrition of *Rhodnius prolixus* (Hemiptera)." *Journal of Experimental Biology* 33.3 (1956): 533-541.
- Bakker, Matthew G. "A fungal mock community control for amplicon sequencing experiments." *Molecular ecology resources* 18.3 (2018): 541-556.

- Bansal, Nayanci, et al. "Menacanthus palmai, a new species of chewing louse (Menoponidae: Amblycera: Phthiraptera) from the Coturnix coromandelica." *Journal of parasitic diseases* 37.2 (2013): 276-280.
- Bartlett, Cheryl M. "Lice (Amblycera and Ischnocera) as vectors of Eulimdana spp. (Nematoda: Filarioidea) in charadriiform birds and the necessity of short reproductive periods in adult worms." *The Journal of parasitology* (1993): 85-91.
- Beard, C. Ben, Celia Cordon-Rosales, and Ravi V. Durvasula. "Bacterial symbionts of the triatominae and their potential use in control of Chagas disease transmission." *Annual review of entomology* 47.1 (2002): 123-141.
- Benelli, Giovanni, et al. "Control of biting lice, Mallophaga a review." *Acta tropica* 177 (2018): 211-219.
- Beltran-Bech, Sophie, and Freddie-Jeanne Richard. "Impact of infection on mate choice." *Animal Behaviour* 90 (2014): 159-170.
- Berg, Gabriele, et al. "Microbiome definition re-visited: old concepts and new challenges." *Microbiome* 8.1 (2020): 1-22.
- Biggs, Rosemary. "OF BLOOD COAGULATION." *Biological Aspects of Occlusive Vascular Disease* (1962): 259.
- Bing, XiaoLi, et al. "Unravelling the relationship between the tsetse fly and its obligate symbiont Wigglesworthia: transcriptomic and metabolomic landscapes reveal highly integrated physiological networks." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 284.1857 (2017): 20170360.
- Blum, Jessamina E., et al. "Frequent replenishment sustains the beneficial microbiome of Drosophila melanogaster." *MBio* 4.6 (2013): e00860-13.
- Booth, David T., Dale H. Clayton, and Barbara A. Block. "Experimental demonstration of the energetic cost of parasitism in free-ranging hosts." *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 253.1337 (1993): 125-129.
- Bourguignon, Thomas, et al. "Rampant host switching shaped the termite gut microbiome." *Current biology* 28.4 (2018): 649-654.

- Boyd, B. M., and D. L. Reed. "Taxonomy of lice and their endosymbiotic bacteria in the post-genomic era." *Clinical microbiology and infection* 18.4 (2012): 324-331.
- Boyd, Elizabeth M. "A survey of parasitism of the starling *Sturnus vulgaris* L. in North America." *The Journal of parasitology* 37.1 (1951): 56-84.
- Brandelli, Adriano. "Bacterial keratinases: useful enzymes for bioprocessing agroindustrial wastes and beyond." *Food and Bioprocess Technology* 1.2 (2008): 105-116.
- Brandelli, Adriano, Luisa Sala, and Susana Juliano Kalil. "Microbial enzymes for bioconversion of poultry waste into added-value products." *Food Research International* 73 (2015): 3-12.
- Braendle, Christian, et al. "Developmental origin and evolution of bacteriocytes in the aphid–*Buchnera* symbiosis." *PLoS Biol* 1.1 (2003): e21.
- Bressan, Alberto. "Emergence and evolution of *Arsenophonus* bacteria as insect-vectored plant pathogens." *Infection, Genetics and Evolution* 22 (2014): 81-90.
- Breznak, John A., and Andreas Brune. "Role of microorganisms in the digestion of lignocellulose by termites." *Annual review of entomology* 39 (1994): 453-487.
- Brooks, Andrew W., et al. "Phylosymbiosis: relationships and functional effects of microbial communities across host evolutionary history." *PLoS biology* 14.11 (2016): e2000225.
- Brumin, Marina, Svetlana Kontsedalov, and Murad Ghanim. "Rickettsia influences thermotolerance in the whitefly *Bemisia tabaci* B biotype." *Insect Science* 18.1 (2011): 57-66.
- Brown, Amy N., and Vett K. Lloyd. "Evidence for horizontal transfer of *Wolbachia* by a *Drosophila* mite." *Experimental and Applied Acarology* 66.3 (2015): 301-311.
- Brown, Joel J., et al. "Ontogeny, species identity, and environment dominate microbiome dynamics in wild populations of kissing bugs (Triatominae)." *Microbiome* 8.1 (2020): 1-16.
- Buchner, Paul. *Endosymbiosis of animals with plant microorganisms*. No. QH548 B743. 1965.
- Bueter, Chelsea, et al. "Comparative phylogenetic histories of two louse genera found on *Catharus* thrushes and other birds." *Journal of Parasitology* 95.2 (2009): 295-307.

- Bulgarelli, Davide, et al. "Revealing structure and assembly cues for Arabidopsis root-inhabiting bacterial microbiota." *Nature* 488.7409 (2012): 91-95.
- Bush, Sarah E., et al. "Evolution of cryptic coloration in ectoparasites." *The American Naturalist* 176.4 (2010): 529-535.
- Bush SE, Villa SM, Altuna JC, Johnson KP, Shapiro MD, Clayton DH. Host defense triggers rapid adaptive radiation in experimentally evolving parasites. *Evol Lett.* 2019 Mar 5;3(2):120-128. doi: 10.1002/evl3.104. PMID: 31007943; PMCID: PMC6457392.
- Campbell, Bruce C., and E. A. Bernays. "On the role of microbial symbiotes in herbivorous insects." (1990).
- Carriker Jr, Melbourne A. "Studies in Neotropical Mallophaga, XVII: a new family (Trochiliphagidae) and a new genus of the lice of hummingbirds." *Proceedings of the United States National Museum* (1960).
- Cicchino, Armando C. "Menacanthus bonariensis new species (Phthiraptera: Menoponidae), parasitic on the White-bellied Sparrow, Zonotrichia capensis hypoleuca (Todd, 1915) (Aves: Passeriformes: Fringillidae) in Buenos Aires Province, Argentina." *Zootaxa* 358.1 (2003): 1-11.
- Clay, Theresa. "Key to the genera of the Menoponidae (Amblycera: Mallophaga: Insecta)." *Brit Mus Natur Hist Bull Entomol* (1969).
- Clay, Theresa. "Louse". *Encyclopedia Britannica*, 2 Nov. 2017, <https://www.britannica.com/animal/louse>. Accessed 9 April 2021.
- Clayton, Dale H., et al. "Adaptive significance of avian beak morphology for ectoparasite control." *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 272.1565 (2005): 811-817.
- Clayton, Dale H., and Daniel M. Tompkins. "Ectoparasite virulence is linked to mode of transmission." *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 256.1347 (1994): 211-217.
- Clayton, DALE H. "Coevolution of avian grooming and ectoparasite avoidance." *Bird-Parasite Interactions: Ecology, Evolution and Behaviour* 14 (1991): 258-289.

- Clayton, Dale H., et al. "Host defense reinforces host–parasite cospeciation." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100.26 (2003): 15694-15699.
- Comandatore, Francesco, et al. "Supergroup C Wolbachia, mutualist symbionts of filarial nematodes, have a distinct genome structure." *Open biology* 5.12 (2015): 150099.
- Cordaux, Richard, Didier Bouchon, and Pierre Grève. "The impact of endosymbionts on the evolution of host sex-determination mechanisms." *Trends in Genetics* 27.8 (2011): 332-341.
- Covacin, Catherine, and Stephen C. Barker. "Supergroup F Wolbachia bacteria parasitise lice (Insecta: Phthiraptera)." *Parasitology research* 100.3 (2007): 479-485.
- Daroit, Daniel Joner, and Adriano Brandelli. "A current assessment on the production of bacterial keratinases." *Critical reviews in biotechnology* 34.4 (2014): 372-384.
- Darolova, Alzbeta, et al. "Horizontal and vertical ectoparasite transmission of three species of malophaga, and individual variation in European bee-eaters (*Merops apiaster*)." *Journal of Parasitology* 87.2 (2001): 256-262.
- Devine, Gregor J., John G. Aaskov, and Francesca D. Frentiu. "Wolbachia strain wAlbB blocks replication of flaviviruses and alphaviruses in mosquito cell culture." *Parasites & vectors* 13.1 (2020): 54.
- Dillon, Rod J., and V. M. Dillon. "The gut bacteria of insects: nonpathogenic interactions." *Annual Reviews in Entomology* 49.1 (2004): 71-92.,
- Dittmer, Jessica, et al. "Skipping the Insect Vector: Plant Stolon Transmission of the Phytopathogen ‘*Ca. Phlomobacter fragariae*’ from the Arsenophonus Clade of Insect Endosymbionts." *Insects* 12.2 (2021): 93.
- Doña, Jorge, et al. "Patterns of microbiome variation among infrapopulations of permanent bloodsucking parasites." *bioRxiv* (2020).
- Douglas, Angela E. "Microbial brokers of insect-plant interactions revisited." *Journal of chemical ecology* 39.7 (2013): 952-96
- Douglas, A. E. "Nutritional interactions in insect-microbial symbioses: aphids and their symbiotic bacteria *Buchnera*." *Annual review of entomology* 43.1 (1998): 17-37.

- Douglas, Angela E. "Multiorganismal insects: diversity and function of resident microorganisms." *Annual review of entomology* 60 (2015): 17.
- Duron, Olivier, and Yuval Gottlieb. "Convergence of nutritional symbioses in obligate blood feeders." *Trends in Parasitology* (2020).
- Duron, Olivier, et al. "The diversity of reproductive parasites among arthropods: Wolbachia do not walk alone." *BMC biology* 6.1 (2008): 1-12.
- Engel, Philipp, and Nancy A. Moran. "The gut microbiota of insects—diversity in structure and function." *FEMS microbiology reviews* 37.5 (2013): 699-735.
- Ferguson, Laura V., et al. "Seasonal shifts in the insect gut microbiome are concurrent with changes in cold tolerance and immunity." *Functional Ecology* 32.10 (2018): 2357-2368.
- Fierer, Noah, et al. "From animalcules to an ecosystem: application of ecological concepts to the human microbiome." *Annual Review of Ecology, Evolution, and Systematics* 43 (2012): 137-155.
- Fisher, Michael L., et al. "Growth kinetics of endosymbiont Wolbachia in the common bed bug, *Cimex lectularius*." *Scientific reports* 8.1 (2018): 1-9.
- FRANK, AB. "Ueber die biologischen Verhältnisse des Thallus einiger Krustenflechten. (Cohn's) Beiträge zur Biologie Pflanzen 2: 123–200.1885. Ueber die auf Wurzelsymbiose beruhende Ernährung gewisser Bäume durch unterirdische Pilze." *Berichte der Deutschen Botanischen Gesellschaft* 3 (1877): 128-145.
- Fukatsu, Takema, and Takahiro Hosokawa. "Capsule-transmitted gut symbiotic bacterium of the Japanese common plataspid stinkbug, *Megacopta punctatissima*." *Applied and Environmental Microbiology* 68.1 (2002): 389-396.
- Fukatsu, Takema, et al. "Bacterial endosymbiont of the slender pigeon louse, *Columbicola columbae*, allied to endosymbionts of grain weevils and tsetse flies." *Applied and environmental microbiology* 73.20 (2007): 6660-6668.
- Fukatsu, Takema, et al. "Intestinal endocellular symbiotic bacterium of the macaque louse *Pedicinus obtusus*: distinct endosymbiont origins in anthropoid primate lice and the old world monkey louse." *Applied and environmental microbiology* 75.11 (2009): 3796-3799.

- Fytrou, Anastasia, et al. "Wolbachia infection suppresses both host defence and parasitoid counter-defence." *Proceedings of the Royal Society b: biological Sciences* 273.1588 (2006): 791-796.
- Gauthier, Jean-Pierre, et al. "Bacterial communities associated with host-adapted populations of pea aphids revealed by deep sequencing of 16S ribosomal DNA." *PloS one* 10.3 (2015): e0120664.
- Gerth, Michael, and Christoph Bleidorn. "Comparative genomics provides a timeframe for Wolbachia evolution and exposes a recent biotin synthesis operon transfer." *Nature Microbiology* 2.3 (2016): 1-7.
- Gerhart, Jonathan G., Abraham S. Moses, and Rahul Raghavan. "A Francisella-like endosymbiont in the Gulf Coast tick evolved from a mammalian pathogen." *Scientific reports* 6.1 (2016): 1-6.
- Grandi, Guido. *Introduzione allo studio dell'entomologia: Organizzazione, sviluppo, vita. Apterigoti ed Esopterigoti*. Vol. 1. Edizioni agricole, 1951.
- Guimarães, Lindolpho R. "Ischnocera (Mallophaga) infesting parrots (Psittaciformes) I: Genera Neopsittaconirmus Conci, 1942, and Psittaconirmus Harrison, 1915." *Arquivos de Zoologia* 25.3 (1974): 121-201.
- Guo, Huifang, et al. "Interaction of Arsenophonus with Wolbachia in Nilaparvata lugens." *BMC Ecology and Evolution* 21.1 (2021): 1-6.
- Gupta, Rani, and Priya Ramnani. "Microbial keratinases and their prospective applications: an overview." *Applied microbiology and biotechnology* 70.1 (2006): 21.
- Hammer, Tobin J., et al. "Caterpillars lack a resident gut microbiome." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 114.36 (2017): 9641-9646.
- Hansen, Allison K., and Nancy A. Moran. "Aphid genome expression reveals host-symbiont cooperation in the production of amino acids." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108.7 (2011): 2849-2854.
- Hannula, S. Emilia, et al. "Foliar-feeding insects acquire microbiomes from the soil rather than the host plant." *Nature communications* 10.1 (2019): 1-9.

- Harcombe, W., and A. A. Hoffmann. "Wolbachia effects in *Drosophila melanogaster*: in search of fitness benefits." *Journal of Invertebrate Pathology* 87.1 (2004): 45-50
- Haselkorn, Tamara S., and John Jaenike. "Macroevolutionary persistence of heritable endosymbionts: acquisition, retention and expression of adaptive phenotypes in *S. piroplasma*." *Molecular ecology* 24.14 (2015): 3752-3765.
- Haq, Ikram Ul, Fatima Akram, and Zuriat Jabbar. "Keratinolytic enzyme-mediated biodegradation of recalcitrant poultry feathers waste by newly isolated *Bacillus* sp. NKSP-7 under submerged fermentation." *Folia microbiologica* 65 (2020): 823-834.
- Heath, Benjamin D., et al. "Horizontal transfer of Wolbachia between phylogenetically distant insect species by a naturally occurring mechanism." *Current Biology* 9.6 (1999): 313-316.
- Hedges, Lauren M., et al. "Wolbachia and virus protection in insects." *Science* 322.5902 (2008): 702-702.
- Henry, Lee M., et al. "Horizontally transmitted symbionts and host colonization of ecological niches." *Current biology* 23.17 (2013): 1713-1717.
- Hongoh, Yuichi, et al. "Intra-and interspecific comparisons of bacterial diversity and community structure support coevolution of gut microbiota and termite host." *Applied and environmental microbiology* 71.11 (2005): 6590-6599.
- Hongoh, Y., et al. "Intracolony variation of bacterial gut microbiota among castes and ages in the fungus-growing termite *Macrotermes gilvus*." *Molecular ecology* 15.2 (2006): 505-516.
- Hosokawa, Takahiro, et al. "The making of symbiont capsule in the plataspid stinkbug *Megacopta punctatissima*." *FEMS microbiology ecology* 54.3 (2005): 471-477.
- Huigens, M. E., et al. "Natural interspecific and intraspecific horizontal transfer of parthenogenesis-inducing Wolbachia in *Trichogramma* wasps." *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 271.1538 (2004): 509-515.
- Hurst, Gregory DD, et al. "Male-killing Wolbachia in *Drosophila*: a temperature-sensitive trait with a threshold bacterial density." *Genetics* 156.2 (2000): 699-709.
- Hypša, Václav, and Jaroslav Křížek. "Molecular evidence for polyphyletic origin of the primary symbionts of sucking lice (Phthiraptera, Anoplura)." *Microbial Ecology* 54.2 (2007): 242-251.

- Chandra, S., et al. "Seasonal changes in a population of *Menacanthuseurysternus* (mallophaga, amblycera) on the common myna *Acridotheres tristis*." *International journal for parasitology* 20.8 (1990): 1063-1065.
- Chaplinska, Mariia, et al. "Bacterial communities differ among *Drosophila melanogaster* populations and affect host resistance against parasitoids." *PloS one* 11.12 (2016): e0167726.
- Chen, Brian L., and Bradley A. Mullens. "Temperature and humidity effects on off-host survival of the northern fowl mite (Acari: Macronyssidae) and the chicken body louse (Phthiraptera: Menoponidae)." *Journal of economic entomology* 101.2 (2014): 637-646.
- Chen, Xiaoi, Song Li, and Serap Aksoy. "Concordant evolution of a symbiont with its host insect species: molecular phylogeny of genus *Glossina* and its bacteriome-associated endosymbiont, *Wigglesworthia glossinidia*." *Journal of molecular evolution* 48.1 (1999): 49-58.
- Choisy, Marc, and Jacobus C. de Roode. "Mixed infections and the evolution of virulence: effects of resource competition, parasite plasticity, and impaired host immunity." *The American Naturalist* 175.5 (2010): E105-E118.
- Christian, Natalie, Briana Kathleen Whitaker, and Keith Clay. "Microbiomes: unifying animal and plant systems through the lens of community ecology theory." *Frontiers in microbiology* 6 (2015): 869.
- Imler, Jean-Luc. "Overview of *Drosophila* immunity: a historical perspective." *Developmental & Comparative Immunology* 42.1 (2014): 3-15.
- Inácio da Silva, Luísa Maria, et al. "Systematic Review of *Wolbachia* Symbiont Detection in Mosquitoes: An Entangled Topic about Methodological Power and True Symbiosis." *Pathogens* 10.1 (2021): 39.
- Ivens, Aniek BF, et al. "Can social partnerships influence the microbiome? Insights from ant farmers and their trophobiont mutualists." *Molecular ecology* 27.8 (2018): 1898-1914.
- Janiga, M., and Ľ. Kubašková. "The biology of the Alpine Accentor *Prunella collaris*. III. The coevolution of Alpine Accentors and lice (Phthiraptera)." *Oecologia Montana* 9.1-2 (2000): 24-28.

- Johnson, K. P., and D. H. Clayton. "The chewing lice: world checklist and biological overview." *Illinois Natural History Survey Special Publication* 24 (2003).
- Johnson, Kevin P., R. J. Adams, and Dale H. Clayton. "The phylogeny of the louse genus *Brueelia* does not reflect host phylogeny." *Biological Journal of the Linnean Society* 77.2 (2002): 233-247.
- Johnson, Kevin P., Scott M. Shreve, and Vincent S. Smith. "Repeated adaptive divergence of microhabitat specialization in avian feather lice." *BMC biology* 10.1 (2012): 1-11.
- Johnson, Kevin P., Kazunori Yoshizawa, and Vincent S. Smith. "Multiple origins of parasitism in lice." *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 271.1550 (2004): 1771-1776.
- Jooste, P. J., and T. J. Britz. "The significance of flavobacteria as proteolytic psychrotrophs in milk." *Milchwissenschaft* 41.10 (1986): 618-621.
- Kaltenpoth, Martin, Sigrid A. Winter, and Aljoscha Kleinhammer. "Localization and transmission route of *Coriobacterium glomerans*, the endosymbiont of pyrrhocorid bugs." *FEMS Microbiology Ecology* 69.3 (2009): 373-383.
- Kambris, Zakaria, et al. "Immune activation by life-shortening *Wolbachia* and reduced filarial competence in mosquitoes." *Science* 326.5949 (2009): 134-136.
- Keirans, James E. "A review of the phoretic relationship between Mallophaga (Phthiraptera: Insecta) and Hippoboscidae (Diptera: Insecta)." *Journal of medical entomology* 12.1 (1975): 71-76.
- Kikuchi, Yoshitomo, and Takema Fukatsu. "Endosymbiotic bacteria in the esophageal organ of glossiphoniid leeches." *Applied and Environmental Microbiology* 68.9 (2002): 4637-4641.
- Kikuchi, Yoshitomo, Takahiro Hosokawa, and Takema Fukatsu. "Insect-microbe mutualism without vertical transmission: a stinkbug acquires a beneficial gut symbiont from the environment every generation." *Appl. Environ. Microbiol.* 73.13 (2007): 4308-4316.
- Klepzig, Kier D., et al. "Symbiosis and competition: complex interactions among beetles, fungi, and mites." *Symbiosis*. 30: 83-96 (2001).

Koga, Ryuichi, Tsutomu Tsuchida, and Takema Fukatsu. "Changing partners in an obligate symbiosis: a facultative endosymbiont can compensate for loss of the essential endosymbiont *Buchnera* in an aphid." *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 270.1533 (2003): 2543-2550.

Kose, Mati, Raivo Mänd, and Anders Pape Møller. "Sexual selection for white tail spots in the barn swallow in relation to habitat choice by feather lice." *Animal Behaviour* 58.6 (1999): 1201-1205.

Landesman, William J., et al. "Potential effects of blood meal host on bacterial community composition in *Ixodes scapularis* nymphs." *Ticks and tick-borne diseases* 10.3 (2019): 523-527.

Latorre, Amparo, and Alejandro Manzano-Marín. "Dissecting genome reduction and trait loss in insect endosymbionts." *Annals of the New York Academy of Sciences* 1389.1 (2017): 52-75.

Lee, Seogwon, et al. "Comparative microbiomes of ticks collected from a black rhino and its surrounding environment." *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* 9 (2019): 239-243.

Leung, T. L. F., and R. Poulin. "Parasitism, commensalism, and mutualism: exploring the many shades of symbioses." *Vie et Milieu* 58.2 (2008): 107.

Lindholm, Anna K., Gert J. Venter, and Edward A. Ueckermann. "Persistence of passerine ectoparasites on the diderik cuckoo *Chrysococcyx caprius*." *Journal of Zoology* 244.1 (1998): 145-153.

Lo, Wen-Sui, Ya-Yi Huang, and Chih-Horng Kuo. "Winding paths to simplicity: genome evolution in facultative insect symbionts." *FEMS microbiology reviews* 40.6 (2016): 855-874.

Lozupone, Catherine A., and Rob Knight. "Global patterns in bacterial diversity." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 104.27 (2007): 11436-11440.

Manzano-Marín, Alejandro, et al. "Solving a bloody mess: B-vitamin independent metabolic convergence among gammaproteobacterial obligate endosymbionts from blood-feeding arthropods and the leech *Haementeria officinalis*." *Genome biology and evolution* 7.10 (2015): 2871-2884.

- Marcondes, Carlos Brisola, and Pedro Marcos Linardi. "Sucking and Chewing Lice." *Arthropod Borne Diseases*. Springer, Cham, 2017. 503-515.
- Marshall, Adrian G. *The ecology of ectoparasitic insects*. Academic Press Inc. (London) Ltd., 1981.
- Marshall, Isabel K. "A morphological phylogeny for four families of amblyceran lice (Phthiraptera: Amblycera: Menoponidae, Boopiidae, Laemobothriidae, Ricinidae)." *Zoological Journal of the Linnean Society* 138.1 (2003): 39-82.
- Martins, Cíntia, and Corrie S. Moreau. "Influence of host phylogeny, geographical location and seed harvesting diet on the bacterial community of globally distributed Pheidole ants." *PeerJ* 8 (2020): e8492.
- Martinson, Vincent G., Angela E. Douglas, and John Jaenike. "Community structure of the gut microbiota in sympatric species of wild *Drosophila*." *Ecology Letters* 20.5 (2017): 629-639.
- Martinson, Vincent G., Jamie Moy, and Nancy A. Moran. "Establishment of characteristic gut bacteria during development of the honeybee worker." *Applied and environmental microbiology* 78.8 (2012): 2830-2840.
- Martinů, Jana, et al. "Host generalists and specialists emerging side by side: an analysis of evolutionary patterns in the cosmopolitan chewing louse genus *Menacanthus*." *International Journal for Parasitology* 45.1 (2015): 63-73.
- Mateos, Mariana, et al. "Heritable endosymbionts of *Drosophila*." *Genetics* 174.1 (2006): 363-376.
- Mazel, Florent, et al. "Is host filtering the main driver of phyllosymbiosis across the tree of life?." *Msystems* 3.5 (2018).
- McMurdie, Paul J., and Susan Holmes. "phyloseq: an R package for reproducible interactive analysis and graphics of microbiome census data." *PloS one* 8.4 (2013): e61217.
- Moran, Nancy A., John P. McCutcheon, and Atsushi Nakabachi. "Genomics and evolution of heritable bacterial symbionts." *Annual review of genetics* 42 (2008): 165-190.

- Moran, Nancy A., et al. "A molecular clock in endosymbiotic bacteria is calibrated using the insect hosts." *Proceedings of the Royal Society of London. Series B: Biological Sciences* 253.1337 (1993): 167-171.
- Moriyama, Minoru, et al. "Riboflavin provisioning underlies Wolbachia's fitness contribution to its insect host." *MBio* 6.6 (2015).
- Morse, Solon F., et al. "Evolution, multiple acquisition, and localization of endosymbionts in bat flies (Diptera: Hippoboscoidea: Streblidae and Nycteribiidae)." *Applied and environmental microbiology* 79.9 (2013): 2952-2961.
- Moyer, B. R., and D. H. Clayton. "Avian defenses against ectoparasites." *Insect and bird interactions (van Emden HF, Rothschild M, eds). Andover, UK: Intercept* (2004).
- Mullens, B. A., B. L. Chen, and J. P. Owen. "Beak condition and cage density determine abundance and spatial distribution of northern fowl mites, *Ornithonyssus sylviarum*, and chicken body lice, *Menacanthus stramineus*, on caged laying hens." *Poultry science* 89.12 (2010): 2565-2572.
- Musitelli, Federica, et al. "Ecological features of feather microbiota in breeding common swifts." *Ethology Ecology & Evolution* 30.6 (2018): 569-581.
- Naz, S., S. A. Rizvi, and O. Sychra. "The high rate of infestation of chewing lice (Phthiraptera) in Rock Pigeons (*Columba livia* Gmelin 1789) in Pakistan." *Tropical Zoology* 23.1 (2010): 21.
- Naz, Saima, Farheen Shaikh, and N. Ali Birmani. "Incidence of chewing lice (Phthiraptera: Insecta) on common mallard, *Anas platyrhynchos* (Anatidae: Anseriformes: Aves) in Karachi region, Pakistan." *Middle-East J of Scientific Reseach* 24.7 (2016): 2260-2265.
- Naz, Saima, et al. "Epidemiological and spatial-temporal analysis of chewing lice (Insecta: Phthiraptera) on the house sparrow, *Passer domesticus*, in different regions of the Sindh Province, Pakistan." *International Journal for Parasitology: Parasites and Wildlife* (2021).
- Nelson. 1972. Univ. California Publ. Entomol. No. 68. Pp. v + 130.
- Ngalimat, Mohamad Syazwan, et al. "Characterisation of bacteria isolated from the stingless bee, *Heterotrigona itama*, honey, bee bread and propolis." *PeerJ* 7 (2019): e7478.

- Nikoh, Naruo, et al. "Evolutionary origin of insect–Wolbachia nutritional mutualism." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111.28 (2014): 10257-10262.
- Nnolim, Nonso E., and Uchechukwu U. Nwodo. "Bacillus sp. CSK2 produced thermostable alkaline keratinase using agro-wastes: keratinolytic enzyme characterization." *BMC biotechnology* 20.1 (2020): 1-14.
- Nobles, Sarah, and Colin R. Jackson. "Effects of life stage, site, and species on the dragonfly gut microbiome." *Microorganisms* 8.2 (2020): 183.
- Noda, H., et al. "Wolbachia infection shared among planthoppers (Homoptera: Delphacidae) and their endoparasite (Strepsiptera: Elenchidae): a probable case of interspecies transmission." *Molecular Ecology* 10.8 (2001): 2101-2106.3.
- Noggi, G. "Significance of symbionts for the maintenance of an optimal nutritional state of successful reproduction in hematophagous arthropods." *Parasitology* 82 (1981): 299-304.
- Nováková, Eva, et al. "Genome sequence of *Candidatus Arsenophonus lipopteni*, the exclusive symbiont of a blood sucking fly *Lipoptena cervi* (Diptera: Hippoboscidae)." *Standards in genomic sciences* 11.1 (2016): 1-7.
- Nováková, Eva, Václav Hypša, and Nancy A. Moran. "Arsenophonus, an emerging clade of intracellular symbionts with a broad host distribution." *BMC microbiology* 9.1 (2009): 1-14.
- Ohkuma, M. "Termite symbiotic systems: efficient bio-recycling of lignocellulose." *Applied microbiology and biotechnology* 61.1 (2003): 1-9.
- Oliver, Kerry M., et al. "Facultative bacterial symbionts in aphids confer resistance to parasitic wasps." *Proceedings of the National Academy of Sciences* 100.4 (2003): 1803-1807.
- Palma, Ricardo L., and Roger D. Price. "Menacanthus rhipidurae, a new species of chewing louse (Insecta: Phthiraptera: Menoponidae) from South Island fantails, *Rhipidura fuliginosa fuliginosa* (Aves: Passeriformes: Dicuridae)." *New Zealand Journal of Zoology* 32.2 (2005): 111-115.
- Paracer, Surindar, and Vernon Ahmadjian. *Symbiosis: an introduction to biological associations*. Oxford University Press on Demand, (2000): 1-9

- Paredes-Montero, Jorge R., et al. "Genetic variability, community structure, and horizontal transfer of endosymbionts among three Asia II-Bemisia tabaci mitotypes in Pakistan." *Ecology and evolution* 10.6 (2020): 2928-2943.
- Parker, Benjamin J., et al. "Symbiont-mediated protection against fungal pathogens in pea aphids: a role for pathogen specificity?." *Appl. Environ. Microbiol.* 79.7 (2013): 2455-2458.
- Parkinson, Gerald. "A higher use for lowly chicken feathers?." *Chemical Engineering* 105.3 (1998): 21.
- Peng, Zheng, et al. "Keratin waste recycling based on microbial degradation: mechanisms and prospects." *ACS Sustainable Chemistry & Engineering* 7.11 (2019): 9727-9736.
- Pérez-Cobas, Ana Elena, et al. "Diet shapes the gut microbiota of the omnivorous cockroach *Blattella germanica*." *FEMS microbiology ecology* 91.4 (2015): fiv022.
- Perotti, M. Alejandra, et al. "Endosymbionts of lice." *Insect symbiosis* 3 (2008): 205-219.
- Pietri, Jose E., Heather DeBruhl, and William Sullivan. "The rich somatic life of Wolbachia." *Microbiologyopen* 5.6 (2016): 923-936.
- Prelezov, P. N., and V. Ts Koinarski. "Species variety and population structure of Mallophaga (Insecta: Phthiraptera) on chickens in the region of Stara Zagora." *Bulg. J. Vet. Med* 9.3 (2006): 193-200.
- Raju, E. Venkata Naga, and G. Divakar. "Screening and isolation of keratinase producing bacteria from poultry waste." *Int J* 2 (2013): 70-74.
- Ramakrishnan, Navina, et al. "Keratin based bioplastic film from chicken feathers and its characterization." *International journal of biological macromolecules* 111 (2018): 352-358.
- Ries, Erich. "Die symbiose der läuse und federlinge." *Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere* 20.2-3 (1931): 233-367.
- Riffel, Alessandro, et al. "Characterization of a new keratinolytic bacterium that completely degrades native feather keratin." *Archives of Microbiology* 179.4 (2003): 258-265.
- Rigaud, Thierry, and Pierre Juchault. "Success and failure of horizontal transfers of feminizing Wolbachia endosymbionts in woodlice." *Journal of Evolutionary Biology* 8.2 (1995): 249-255.

- Rodríguez-Ruano, Sonia M., et al. "Microbiomes of North American Triatominae: the grounds for Chagas disease epidemiology." *Frontiers in microbiology* 9 (2018): 1167.
- Rosenkranz, Werner. "DIE SYMBIOSE DER PENTATOMIDEN.(HEMIPTERA HETEROPTERA)." *Zeitschrift für Morphologie und Ökologie der Tiere* 36.2 (1939): 279-309.
- Rozsa, Lajos. "Patterns in the abundance of avian lice (Phthiraptera: Amblycera, Ischnocera)." *Journal of Avian Biology* (1997): 249-254.
- Říhová, Jana, et al. "A new symbiotic lineage related to Neisseria and Snodgrassella arises from the dynamic and diverse microbiomes in sucking lice" *Mol Ecol.* (2021) Feb 27. doi: 10.1111/mec.15866. Epub ahead of print. PMID: 33639022.
- Sakurai, Makiko, et al. "Rickettsia symbiont in the pea aphid *Acyrtosiphon pisum*: novel cellular tropism, effect on host fitness, and interaction with the essential symbiont *Buchnera*." *Applied and environmental microbiology* 71.7 (2005): 4069-4075.
- Sanaei, Ehsan, Sylvain Charlat, and Jan Engelstädter. "Wolbachia host shifts: routes, mechanisms, constraints and evolutionary consequences." *Biological Reviews* 96.2 (2021): 433-453.
- Shigenobu, Shuji, et al. "Genome sequence of the endocellular bacterial symbiont of aphids *Buchnera* sp. APS." *Nature* 407.6800 (2000): 81-86.
- Smith, M. Alex, et al. "Wolbachia and DNA barcoding insects: patterns, potential, and problems." *PloS one* 7.5 (2012): e36514.
- Smith, W. A., C. Dale, and D. H. Clayton. "Determining the role of bacterial symbionts with the genus *Columbicola*." *Turkiye Parazitol Derg* 34.suppl 1 (2010): 67.
- SYCHRA, Oldřich. "Morphological variation of *Neopsittaconirmus gracilis* (Phthiraptera, Ischnocera) from budgerigar." *Biologia, Bratislava* 60.2 (2005): 137-142.
- Szathmáry, Eörs, and John Maynard Smith. "The major evolutionary transitions." *Nature* 374.6519 (1995): 227-232.
- Tanada, Y., and H. K. Kaya. "Associations between insects and nonpathogenic microorganisms." *Insect pathology* (1993): 12-51.

- Thao, MyLo Ly, and Paul Baumann. "Evidence for multiple acquisition of Arsenophonus by whitefly species (Sternorrhyncha: Aleyrodidae)." *Current microbiology* 48.2 (2004): 140-144.
- The Chewing Lice: World Checklist and Biological Overview. R. D. Price, R. A. Hellenthal, R. L. Palma, K. P. Johnson, D. H. Clayton. 2003. Illinois Natural History Survey Special Publication 24. x+501 pp. ISBN 1-882932-08-0.
- Thomas, Matthew B., and Simon Blanford. "Thermal biology in insect-parasite interactions." *Trends in Ecology & Evolution* 18.7 (2003): 344-350.
- Tizzani, P., et al. "Description of the parasitic community of mountain Galliformes in the Italian Alps. A large scale and long-term monitoring." (2020): 16-19.
- TL, Anderson CL Karr. "Wolbachia: Evolutionary novelty in a rickettsial bacteria." *BMC Evol Biol* 1.10 (2001).
- Trivedi, M. C., B. S. Rawat, and A. K. Saxena. "The distribution of lice (Phthiraptera) on poultry (Gallus domesticus)." *International journal for parasitology* 21.2 (1991): 247-249.
- Trowbridge, Richard E., Katharina Dittmar, and Michael F. Whiting. "Identification and phylogenetic analysis of Arsenophonus-and Photorhabdus-type bacteria from adult Hippoboscidae and Streblidae (Hippoboscoidea)." *Journal of invertebrate pathology* 91.1 (2006): 64-68.
- Truitt, Amy M., et al. "Wolbachia modifies thermal preference in *Drosophila melanogaster*." *Environmental microbiology* 21.9 (2019): 3259-3268.
- Vorburger, Christoph, Lukas Gehrler, and Paula Rodriguez. "A strain of the bacterial symbiont *Regiella insecticola* protects aphids against parasitoids." *Biology letters* 6.1 (2010): 109-111.
- Wang, Guan-Hong, et al. "Discovery of a new Wolbachia supergroup in cave spider species and the lateral transfer of phage WO among distant hosts." *Infection, Genetics and Evolution* 41 (2016): 1-7.
- Wang, Jingwen, Brian L. Weiss, and Serap Aksoy. "Tsetse fly microbiota: form and function." *Frontiers in cellular and infection microbiology* 3 (2013): 69.

- Weiss, Brian, and Serap Aksoy. "Microbiome influences on insect host vector competence." *Trends in parasitology* 27.11 (2011): 514-522.
- Welch, E. W., J. Macias, and B. Bextine. "Geographic patterns in the bacterial microbiome of the glassy-winged sharpshooter, *Homalodisca vitripennis* (Hemiptera: Cicadellidae)." *Symbiosis* 66.1 (2015): 1-12.
- Werren, John H., Laura Baldo, and Michael E. Clark. "Wolbachia: master manipulators of invertebrate biology." *Nature Reviews Microbiology* 6.10 (2008): 741-751.
- White, J. A., et al. "Endosymbiont costs and benefits in a parasitoid infected with both Wolbachia and Cardinium." *Heredity* 106.4 (2011): 585-591.
- Xie, Jialei, Igor Vilchez, and Mariana Mateos. "Spiroplasma bacteria enhance survival of *Drosophila hydei* attacked by the parasitic wasp *Leptopilina heterotoma*." *Plos one* 5.8 (2010).
- Xie, Jialei, et al. "Male killing Spiroplasma protects *Drosophila melanogaster* against two parasitoid wasps." *Heredity* 112.4 (2014): 399-408.
- Yamada, A., et al. "Evolutionary trend of phylogenetic diversity of nitrogen fixation genes in the gut community of wood-feeding termites." *Molecular ecology* 16.18 (2007): 3768-3777.
- Yañez, Orlando, et al. "Endosymbiotic bacteria in honey bees: *Arsenophonus* spp. are not transmitted transovarially." *FEMS microbiology letters* 363.14 (2016).
- Yun, Ji-Hyun, et al. "Insect gut bacterial diversity determined by environmental habitat, diet, developmental stage, and phylogeny of host." *Appl. Environ. Microbiol.* 80.17 (2014): 5254-5264.
- Zientz, Evelyn, Thomas Dandekar, and Roy Gross. "Metabolic interdependence of obligate intracellular bacteria and their insect hosts." *Microbiology and Molecular Biology Reviews* 68.4 (2004): 745-770.
- Zhang, Xue-Chao, et al. "The composition and transmission of microbiome in hard tick, *Ixodes persulcatus*, during blood meal." *Ticks and tick-borne diseases* 5.6 (2014): 864-870.

Zchori-Fein, Einat, and Kostas Bourtzis, eds. *Manipulative tenants: bacteria associated with arthropods*. CRC press, 2011.

Zolnik, Christine P., et al. "Transient influence of blood meal and natural environment on blacklegged tick bacterial communities." *Ticks and tick-borne diseases* 9.3 (2018): 563-572.

Zug, Roman, and Peter Hammerstein. "Still a host of hosts for Wolbachia: analysis of recent data suggests that 40% of terrestrial arthropod species are infected." *PloS one* 7.6 (2012): e38544.

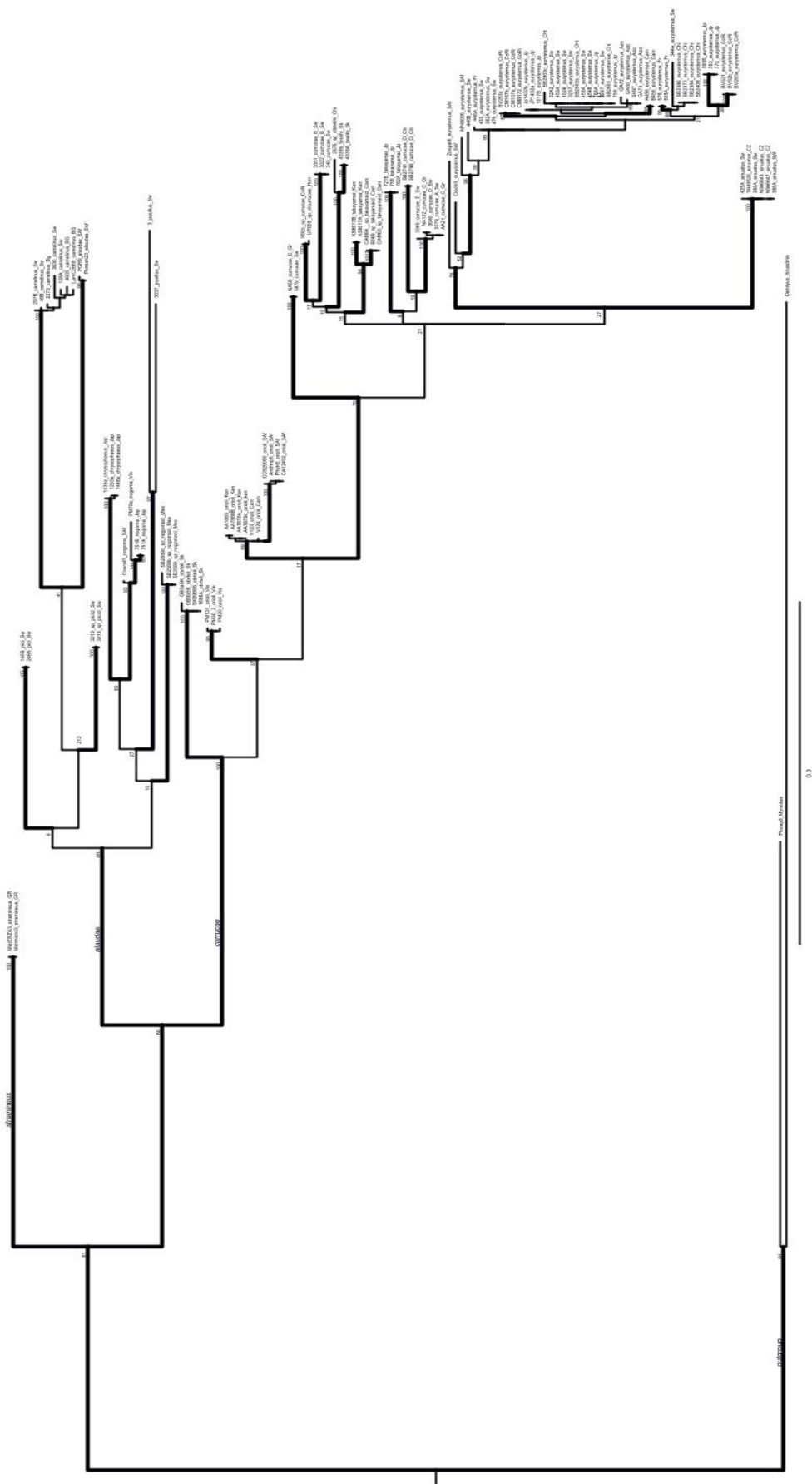
Žižková, Kateřina. "Diverzita a populační struktura bakteriálních symbiontů vší rodu Polyplax". České Budějovice, (2017). Bakalářská práce. Jihočeská univerzita, Přírodovědecká fakulta. Vedoucí práce Doc. RNDr. Nováková Eva, Ph.D.

7 Přílohy

	M. currucae	M. orioli	M. eurysternus	M. breilhi	M. pici	M. pusillus	M. nogoma	M. takayamai	M. sinuatus	M. chrysophaeus	M. stramineus	M. camelinus	M. oberteli	M. alaudae	Menacanthus sp.
Acrocephalus palustris	2														
Acrocephalus scirpaceus	7														
Acrocephalus schoenobaenus	1														
Alauda arvensis			1												
Alcippe morrisonia				1											
Andropadus importunus		4													
Andropadus tephrolaemus			1												
Anthus trivialis						1									
Calliope calliope							2								
Cettia diphone								3							
Cinnyris reichenowi	1														1
Cisticola chiniana			2												
Corvus monedula															
Cossypha caffra							1								
Cyanistes caeruleus									3						
Cyanomitra oritis															1
Dendrocopos major															1
Drepanorhynchus reichenowi								3							1
Emberiza fucata			1												
Emberiza schoeniclus			1							2					
Emberiza spodocephalus										1					
Erithacus rubecula	1														1
Eurillas latirostris		5													
Fringilla coelebs			7												
Gallus gallus											4				
Hemixos castanonotus			3												
Hylophilus decurtatus															3
Hypsipetes mcclellandi			1												
Lanius collurio												10			
Larvivora sibilans							1								
Leithorix lutea	2														
Linurgus olivaceus			2												
Locustella luscinioides													4		
Luscinia calliope							2								
Motacilla alba						1									

Niltava davidi			3											
Panurus biarmicus				3										
Parisoma subcaeruleum			1											
Parus major			1					3						
Passer domesticus			2											
Phyllastrephus terrestris		1												
Phyllastrephus xavieri		2												
Phylloscopus trochilus	3													
Pica pica			2											
Picus viridis				2										
Plocepasser mahali											2			
Pseudoseisura lophotes													3	
Pycnonotus capensis			1											
Pycnonotus finlaysoni		3												
Quiscalus mexicanus														3
Sitta europaea			3											
Sturnus vulgaris			3											
Sylvia borin	2													
Sylvia curruca	1													
Tangara dowii			2											
Turdus grayi			2											
Turdus merula			5											
Turdus nigrescens			3											
Turdus pallidus			1											
Turdus philomelos			3											
Turdus pilaris			1											
Turdus viscivorus			1											
Vireo olivaceus														1
Zosterops japonicus			2											
Zosterops pallidus (capensis)			1											
Unknown host											1			

Obr. P1: Druhy všenek rodu *Menacanthus* a hostitelé, ze kterých pocházejí.



Obr. P2: Fylogenetický strom druhů všenek *Menacanthus* (Martinů et al., 2015)