

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta



Kokcidie ptáků Galapág

Bakalářská práce

Lucie Kordíková

Školitel: MVDr. Jana Kvičarová, Ph.D.

Školitel specialista: doc. RNDr. Jan Štefka, Ph.D.

České Budějovice 2021

Kordíková L., 2021: Kokcidie ptáků Galapág [Coccidia of the Galapagos birds. Bc. Thesis, in Czech.] – 51 p., Faculty of Science, University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Anotace:

Tato práce se zabývá kokcidiemi rodu *Eimeria* a *Isospora* nalezenými v trusu ptáků z Galapážských ostrovů. Práce popisuje prevalenci těchto parazitů mezi jednotlivými ostrovy a druhy ptáků. Popis nalezených kokcidií se zakládá na morfologických znacích parazitů a na jejich fylogenetických vztazích.

Klíčová slova: kokcidie, *Eimeria*, *Isospora*, ptáci, Galapážské ostrovy, morfologie, fylogenetické vztahy

Annotation:

This study investigates coccidian parasites of the genera *Eimeria* and *Isospora* in faecal samples of birds from the Galapagos Islands. The study determines prevalence of coccidia on individual islands and bird species. Description of recorded coccidian parasites is based on morphological features of their oocysts as well as on phylogenetic relationships.

Keywords: Coccidia, *Eimeria*, *Isospora*, birds, Galapagos Islands, morphology, phylogenetic relationships

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

V Českých Budějovicích dne 17.11. 2021

.....

Lucie Kordíková

Poděkování

Největší poděkování patří MVDr. Janě Kvičerové, Ph.D. za odborné vedení, cenné rady a ochotu během zpracovávání této práce. Dále bych chtěla poděkovat doc. RNDr. Janu Štefkovi, Ph.D. a Mgr. Jakubu Vlčkovi za poskytnutí materiálu pro tuto práci. Děkuji také celé laboratoři Katedry parazitologie PřF JU za poskytnuté zázemí. Velké díky však patří i mé rodině a nejbližším, za podporu při psaní této práce a během celého studia.

1. ÚVOD	1
1.1. Kokcidie.....	2
1.1.1. Taxonomické zařazení kokcií a obecná charakteristika	2
1.1.2. Rodová a druhová determinace kokcií – konflikt morfologie a fylogeneze	4
1.2. Galapágy.....	6
1.2.1. Ostrovy studované v této práci	7
1.2.2. Kokcidie zjištěné na Galapágách – dostupná literatura	8
1.3. Ptáci jako hostitelé kokcií.....	9
1.3.1. Druhy ptáků studované v rámci této práce	10
2. CÍLE PRÁCE.....	14
3. METODIKA.....	15
3.1. Koprologické vyšetření.....	15
3.2. Determinace kokcií.....	16
3.3. Izolace DNA	16
3.4. Analyzované geny, primery použité pro PCR.....	17
3.5. Polymerázová řetězová reakce (PCR)	18
3.6. Elektroforéza a vizualizace PCR produktů.....	19
3.7. Enzymatické čištění PCR produktů	19
3.8. Sekvence a zpracování sekvencí	20
3.9. Fylogenetické analýzy	20
4. VÝSLEDKY.....	22
4.1. Koprologické vyšetření a mikroskopie.....	22
4.2. Fylogenetické analýzy	24
5. DISKUZE	33
6. ZÁVĚR.....	40
7. POUŽITÁ LITERATURA	41
8. INTERNETOVÉ ZDROJE	50
9. PŘÍLOHY.....	51

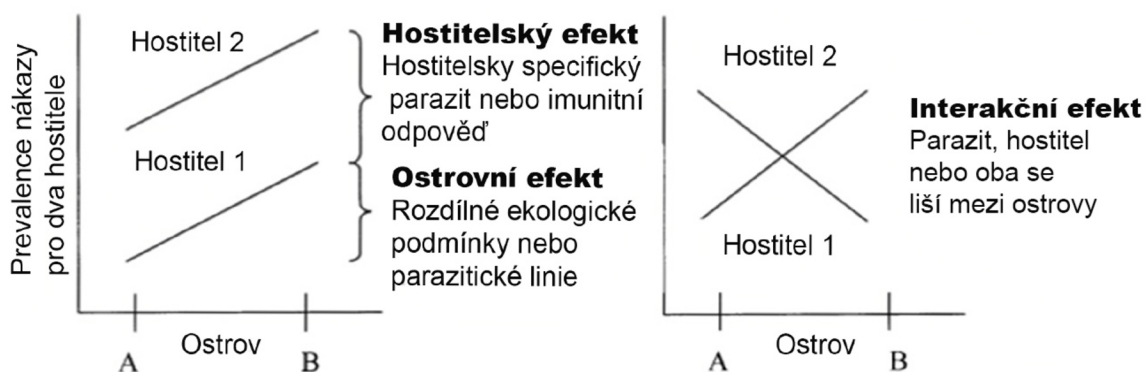
1. Úvod

Parazitický způsob života je jednou z neúspěšnějších životních strategií, pokud si představíme, kolik způsobů parazitismu bylo vyvinuto a kolik druhů parazitů existuje. Studium parazitů není přínosné jen pro medicínské a veterinární účely nebo z hlediska získávání informací o jednotlivých parazitických skupinách; díky mnoha nezávislým přechodům organismů k parazitismu paraziti umožňují studium evolučních procesů. Evoluce samotných parazitů dokáže napovědět i mnoho o evoluci jejich hostitelů. Paraziti se tak stávají zajímavým biologickým modelem pro studium ekologické specializace, specializačních mechanismů a diverzifikace (Poulin a Morand 2000).

Ostrovy a souostrovní jsou taktéž velice zajímavými a důležitými místy pro studium evolučních procesů, a to díky izolaci od pevniny, ale i izolaci jednotlivých ostrovů mezi sebou. Jsou to místa, kde se velice často objevují genetické a/nebo morfologické odlišnosti (Santiago-Alarcon *et al.* 2006).

Souostrovní slouží jako velmi zajímavý a důležitý systém pro zkoumání interakcí mezi parazity, hostiteli, i samotnými ostrovy – obzvláště tehdy, když se na jednotlivých ostrovech vyskytují stejné hostitelské druhy. Pokud analýzy hodnot prevalencí parazitů mezi jednotlivými ostrovy prokáží ostrovní efekt, znamená to, že na přenos parazitů mají vliv různé ekologické faktory, a to bez ohledu na linii parazita či druh hostitele. Pokud prokáží hostitelský efekt, poukazují tak na unikátní genetické a ekologické vlastnosti hostitele, či hostitelsky specifických parazitů. Pokud nejsou prokázány žádné z výše uvedených interakcí, vztah mezi hostitelem a parazitem je pak na každém ostrově individuální (Obr. 1) (Fallon *et al.* 2003).

Vědecky dosud nedostatečně ověřená hypotéza související s parazitací na ostrovech je taková, že počet druhů parazitů na ostrovech by měl být nižší, než je tomu na pevnině - a to z mnoha důvodů. Nízký počet původních druhů hostitelů, kteří osídlili nové území, s sebou nesl pravděpodobně i nižší počet parazitů. Dalším důvodem může být celkový nižší počet potenciálních hostitelů na ostrově, který nestačí k udržení populace parazitů (Goüy de Bellocq *et al.* 2002). Druhy žijící na ostrovech mají tendenci k nižší genetické diverzitě než druhy, které žijí na pevnině (efekt zakladatele v populační genetice) (Santiago-Alarcon *et al.* 2006).



Obr. 1 Schématické zobrazení hostitelského, ostrovního a interakčního efektu (převzato z Fallon *et al.*. 2003, upraveno).

1.1. Kokcidie

1.1.1. Taxonomické zařazení kokcidií a obecná charakteristika

Kokcidie patří mezi Eukaryota. Taxonomie eukaryot byla dříve založena převážně na fenotypových znacích jednotlivých organismů. S rozvojem molekulárních metod, a tím i nově vzniklé možnosti porovnávání skupin z genetického hlediska, došlo v taxonomii k velkým změnám. Celý systém eukaryot se dynamicky vyvíjí a mění, a doposud není ustálen.

K jeho posledním revizím došlo v letech 2012 a 2019 (Adl *et al.* 2012, 2019). Revize z roku 2012 zavedla takzvané „volné členění“. To znamená, že až po úroveň čeledi se jednotlivé taxonomické jednotky nazývají pouze „clades“ a „groups“ (Adl *et al.* 2012), tedy „skupiny“. Revize z roku 2019 je rozšířením revize z roku 2012, kdy s přibývajícimi genetickými informacemi došlo k upřesnění taxonomického zařazení některých skupin a potvrzení domněnky, že samotná Eukaryota jsou tvořena nejméně dvěma doménami. Ve své bakalářské práci jsem se zabývala kokcidiemi; jejich současné taxonomické zařazení je následující (dle Adl *et al.* 2019):

Diaphoretickes Adl *et al.*, 2012

SAR Burki *et al.*, 2008

Alveolata Cavalier-Smith, 1991

Apicomplexa Levine, 1970

Conoidasida Levine, 1988

Coccidia Leuckart, 1879

Eimeriorina Léger, 1911

Čeleď: Eimeriidae Minchin, 1903

Apicomplexa zahrnují několik skupin obligátně intracelulárních parazitů. Pro všechny skupiny je charakteristická přítomnost apikálního komplexu v infekčních vývojových stádiích parazita, tzv. zoitech (Tenter 2002). Apikální komplex slouží k pohybu a pronikání zoitů do hostitelských buněk. Tento komplex se skládá z cytoskeletárních struktur, mezi které patří konoid (tvořený spirálovitě seskupenými mikrofibrilami) a polární prstenec. Další částí tohoto komplexu jsou sekreční orgány – mikronémy a rhoptrie, které při invazi vylučují specifické látky zprostředkovávající interakci s hostitelskou buňkou a její invazi (Katris *et al.* 2014).

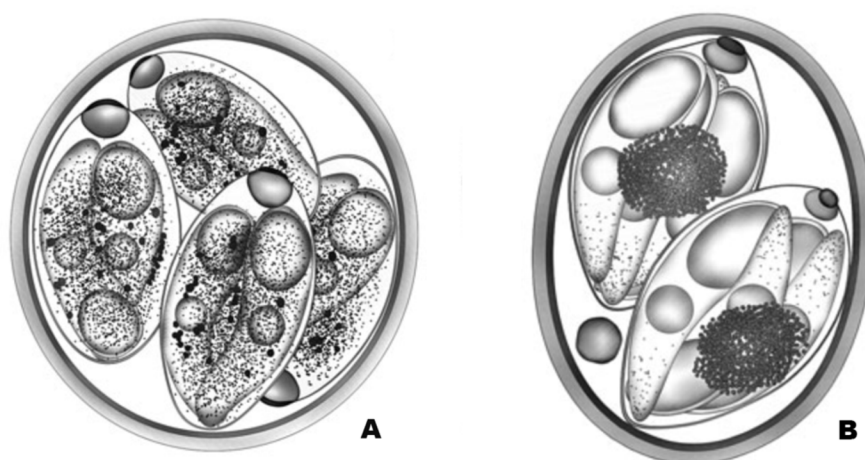
Podle přítomnosti a struktury konoidu dělíme Apicomplexa na dvě skupiny: Aconoidasida s absencí konoidu a Conoidasida, do které řadíme kokcidie a je pro ně charakteristická kompletní stavba konoidu.

Skupina Conoidasida je dále dělena na Gregarinasina a Coccidia. Gregariny se nejčastěji vyskytují u bezobratlých či nižších obratlovců, a jejich zralí gamonti se vyvíjejí extracelulárně. Kokcidie naopak parazitují zpravidla u obratlovců, a vývoj gamontů probíhá intracelulárně.

Skupina Coccidia se dělí na Adeleorina a Eimeriorina. Toto rozdělení spočívá na přítomnosti či absenci jednotlivých vývojových stádií (Adl *et al.* 2019).

Vývojový cyklus skupiny Eimeriorina zahrnuje tři fáze. Merogonii a gametogonii, které nejčastěji probíhají v buňkách trávicího traktu hostitele, a dále sporogonii (sporulaci). Parazit opouští hostitele ve stádiu oocysty, která za přístupu kyslíku a vhodné teploty sporuluje (tj. tvoří se v ní sporocysty a sporozoiti), a tím se stává infekční. Morfologie vysporulované oocysty (Obr. 2) slouží jako hlavní vodítko pro rodovou a druhovou determinaci kokcií (Duszynski a Upton 2001, Berto *et al.* 2014).

Zástupci čeledi Eimeriidae nejčastěji parazitují v trávicím traktu savců, ptáků a plazů (Duszynski a Upton 2001). Tato práce se zabývá zejména dvěma rody této čeledi – *Eimeria* a *Isospora*.



Obr. 2 Morfologie oocyst kokcií. (A) vysporulovaná oocysta rodu *Eimeria* (B) vysporulovaná oocysta rodu *Isospora* (převzato z Duszynski a Upton 2001, upraveno).

1.1.2. Rodová a druhová determinace kokcií – konflikt morfologie a fylogeneze

K rodové a druhové determinaci kokcií na základě morfologie se využívají znaky vysporulovaných oocyst. Jde zejména o délku a šířku oocyst a sporocyst, poměr těchto hodnot (tzv. Shape index), počet sporocyst v oocystě, a počet sporozoitů ve sporocystě. Dále se sleduje charakter povrchu stěny oocysty (hladký, drsný), přítomnost/nepřítomnost jednotlivých vnitřních struktur oocysty (mikropyle, pólová čepička, polární granulum, residuum oocysty), a případně jejich velikost, tvar a umístění. U sporocyst se popisuje zejména tvar a velikost sporozoitů, a přítomnost/absence Stiedova tělíska, substiedálního

a parastiedálního tělíska, a residua sporocysty (Obr. 3) (Duszynski a Wilber 1997, Berto *et al.* 2014).

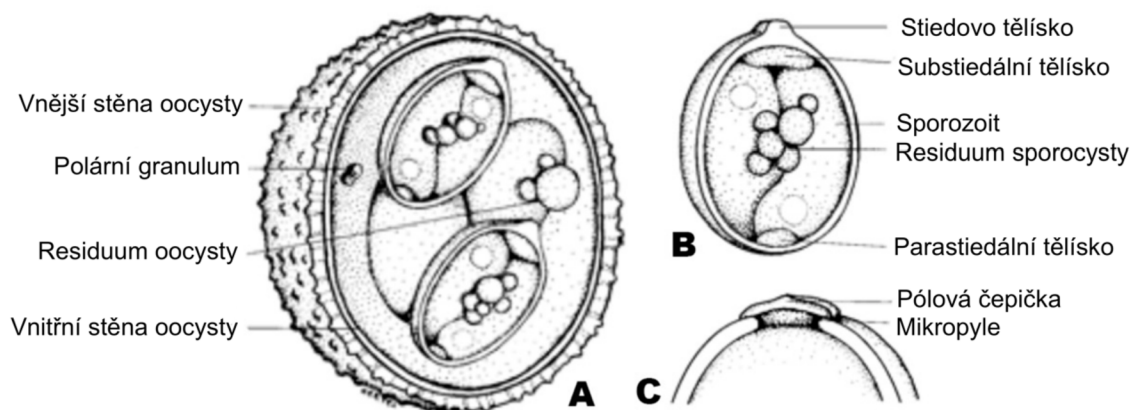
S rostoucím využitím molekulárních metod v taxonomii kokcií se začalo ukazovat, že morfologické rozlišení jednotlivých rodů a druhů nekoreluje s jejich rozlišením na základě fylogeneze, a to především u kokcií parazitujících u volně žijících hostitelů. Ukazuje se, že například oocysty rozdílných druhů kokcií mohou mít stejné vnitřní struktury v rámci parazitace blízké přítomných druhů hostitelů, nebo naopak oocysty jednoho druhu kokcií mohou vykazovat značný polymorfismus, přestože parazitují na hostitelích stejného druhu (Parker a Duszynski 1986, Gardner a Duszynski 1990, Zhao a Duszynski 2001, Ogedengbe *et al.* 2008, Berto *et al.* 2014, Mácová *et al.* 2018, Trefancová *et al.* 2021).

Skupina Apicomplexa byla prokázána jako monofyletická (Barta *et al.* 1991). S přibývajícimi informacemi z fylogenetických analýz se však začíná ukazovat, že jednotlivé rody v rámci této skupiny již monofyletické nejsou.

Na základě morfologie byly například do rodu *Isospora* zahrnuty kokcie, jejichž oocysty obsahují dvě sporocysty, v nichž se nacházejí čtyři sporozoiti (Berto *et al.* 2014). Fylogenetické analýzy však rozdělily tento rod na dva samostatné rody: rod *Isospora* (čeleď Eimeriidae), pro který je charakteristická přítomnost Stiedova tělíska, a parazituje nejčastěji u ptačích hostitelů; a rod *Cystoisospora* (čeleď Sarcocystidae) postrádající Stiedovo tělísko a parazitující především u savců (Frenkel 1977, Franzen *et al.* 2000, Barta *et al.* 2005).

Do rodu *Eimeria* jsou řazeny kokcie se čtyřmi sporocystami, v každé se nacházejí dva sporozoiti (Berto *et al.* 2014). Jak již bylo řečeno výše, ve fylogenetických analýzách se mezi něj však řadí i rod *Isospora* (Eimeriidae), ale také někteří zástupci rodu *Cyclospora* (Relman *et al.* 1996, Pieniazek 1997, Tang *et al.* 2015). Rod *Eimeria* je tedy polyfyletický.

Celkově, ať už v rámci rodu *Isospora* nebo *Eimeria*, závisí příbuznost jednotlivých druhů kokcií více na hostitelské specifitě, než na jejich morfologických znacích (Morrison *et al.* 2004, Power *et al.* 2009, Kvičerová a Hypša 2013, Ogedengbe *et al.* 2017).



Obr. 3 Morfologické znaky oocyst kokcií. (A) Vysporulovaná oocysta kokcie rod *Eimeria* (B) Sporocysta kokcie rod *Eimeria* (C) Pól oocysty s přítomností mikropyle (převzato z Duszynski a Upton 2001, upraveno).

1.2. Galapágy

Souostroví Galapág se rozkládá podél rovníku, 1 000 km západně od Jižní Ameriky v Tichém oceánu. Tak, jako například Havajské ostrovy, je celé souostroví sopečného původu a jeho nejstarší ostrovy vystoupaly nad hladinu moře přibližně před 3 miliony lety (Harpp a Geist 2021). Celé souostroví čítá přes sto ostrovů a ostrůvků, přičemž 19 z nich má větší rozlohu než 1 km² a 4 z nich jsou trvale obydleny.

Souostroví Galapág nejvíce proslavila návštěva Charlese Darwina v roce 1835, která ho inspirovala k myšlence Evoluční teorie. Od té doby se toto souostroví stalo významným místem pro studium mnoha vědeckým oborům. Bohatá seismická a sopečná činnost pokračující dodnes, extrémní izolace, poloha na soutoku tří oceánských proudů, a měnící se klimatické podmínky (El Niño) dávají jedinečný prostor pro studium toho, jak biogeografické, ekologické a evoluční procesy ovlivňují flóru a faunu na jednotlivých ostrovech či v celém souostroví. Celé souostroví nabízí velkou druhovou diverzitu a výskyt unikátních taxonů a endemitů – například želva sloní, „Darwinovy pěnkavky“, nejseverněji se vyskytující tučňáci na světě, mořští leguáni, a další. Ostrovy jsou však významné i z hlediska flóry – z celkového počtu 500 druhů cévnatých rostlin je 180 endemických (UNESCO [online]).

1.2.1. Ostrovy studované v této práci

Vzorky studované v rámci této práce pocházejí z celkem 5 ostrovů ze souostroví Galapág - Darwin, Genovesa, Pinta, Santa Cruz a Wolf (Obr. 4).

Ostrov Darwin je nejseverněji položeným ostrovem z celého souostroví. Leží přibližně 160 km severozápadně od největšího ostrovu Isabela, což ho činí nejvíce izolovaným ostrovem Galapág. S rozlohou 1 km² je považován za nejmenší ostrov tohoto souostroví. Je obýván pouze ptactvem.

Genovesa se nachází v severovýchodní části souostroví. Jeho rozloha činí 14 km². Je přezdíván „ptačím ostrovem“ díky velkému počtu a rozmanitosti zde hnízdícího ptactva.

Ostrov Pinta s rozlohou 60 km² je nejsevernější ze všech větších ostrovů a je relativně izolován od zbytku souostroví.

Rozloha 986 km² činí ostrov Santa Cruz druhým největším ostrovem Galapág. Tento ostrov je již dlouhou dobu osídlen člověkem, a tak je jeho krajina značně pozměněna zemědělstvím a výskytem invazivních druhů.

Ostrov Wolf je podobně jako Darwin velmi izolovaný – leží přibližně 100 km od ostrovu Isabela a je také obýván pouze ptactvem. Jeho rozloha je necelé 3 km² (Galapagos [online]).



Obr. 4 Mapa souostroví Galapág - ostrovy studované v rámci této práce jsou označeny černou barvou a tučným písmem (převzato z Palacios 2003, upraveno).

1.2.2. Kokcidie zjištěné na Galapágách – dostupná literatura

Všechny doposud dostupné studie týkající se kokcií parazitujících hostitele na souostroví Galapág jsou pilotní a spíše popisného charakteru – zahrnují jen některé druhy hostitelů a některé ostrovy.

První studie zmiňující kokcidie na Galapágách byla zveřejněna roku 1988, kdy McQuiston a Wilson popsali 4 nové druhy isospor z pěnkavky malinké (*Camarhynchus parvulus*) - *Isospora exigua* n. sp., *Isospora fragmenta* n. sp., *Isospora rotunda* n. sp., a *Isospora temeraria* n. sp. (McQuiston a Wilson 1988).

V roce 1990 byl popsán další druh isospor, *Isospora daphnensis* n. sp., parazitující u 4 druhů galapážských pěnkavek (*Geospiza fortis*, *G. fuliginosa*, *G. magnirostris* a *G. scandens*) (McQuiston 1990).

V letech 1990-1994 probíhalo na Galapágách vyšetření vzorků trusu obřích suchozemských želv (*Geochelone nigra*), ještěrek lávových (*Tropidurus* spp.), suchozemských leguánů (*Conolophus subcristatus*) a mořských leguánů (*Amblyrhynchus cristatus*). Žádný ze vzorků ze 139 suchozemských leguánů a ze 128 mořských leguánů nebyl pozitivní na přítomnost kokcií. Pouze jeden vzorek z 26 suchozemských želv obsahoval jediný druh eimerie, *Eimeria geochelona* n. sp., popsáný jako nový druh. Trus z ještěrek lávových z celkem 715 vzorků byl ve 37 % pozitivní na přítomnost kokcií – obsahoval dva již dříve popsané druhy *Eimeria tropidura* a *Isospora insularius*, a nově popsáný druh *Eimeria albemarlensis* n. sp. v této studii (Couch et al. 1996).

Další studie z roku 2009 se zabývala přítomností roztočů v peří a parazitů v krvi a ve střevech hostitelů. Studie probíhala na pěnkavce malé (*G. fuliginosa*), u které byla prokázána přítomnost isospor (*Isospora exigua*, *Isospora fragmenta*, a *Isospora temeraria*) ve 12 vzorcích z celkem 210 vyšetřených. Studie také poukazuje na rozdíly v prevalenci, které závisely na čase, kdy byly vzorky odebrány. Vzorky odebrané v ranních hodinách vykazovaly prevalenci pouze 0,5 %, zatímco vzorky odebrané v odpoledních hodinách 61 % (Lindström et al. 2009).

V roce 2010 byla zveřejněna studie zaměřená na střevní parazity psů na Galapágách. Celkem bylo vyšetřeno 97 vzorků. Byla u nich prokázána přítomnost různých druhů parazitů, od prvoků (*Giardia* spp., *Sarcocystis canis*, *Cryptosporidium* spp.) po hlístice (*Ancylostoma caninum*, *Toxocara canis*), a ve 4 vzorcích také přítomnost *Isospora canis* (Gingrich et al. 2010).

V roce 2018 byly vyšetřeny vzorky trusu z celkem 15 mořských lachtanů (*Zalophus wolfebaeki*) na přítomnost střevních parazitů. V jednom vzorku byly nalezeny nevysporulované oocysty kokcií. Jde o vůbec první prokázaný výskyt kokcií u mořských lachtanů, avšak autor poukazuje na možnost, že jde pouze o pseudoparazita procházejícího traktem pseudohostitele (tj. lachtana) po pozření ryby, jakožto pravého hostitele (Walden *et al.* 2018).

Další studie z roku 2018 se zabývala nemocemi brojlerů ze slepičích farem na Galapágách. Kokcie (*Eimeria* spp.) byly ve vzorcích trusu běžné, studie však ale neuvádí jednotlivé druhy kokcií. Studie také poukázala na možnost přenosu různých patogenů a parazitů mezi zavlečenými brojlerů a volně žijícím ptactvem (Whitehead *et al.* 2018).

Poslední informace týkající se kokcií Galapág pochází z roku 2019. Studie byla zaměřena na molekulární charakteristiku *Eimeria* spp. z trusu galapážských obřích želv (*Chelonoidis* spp.) chovaných v zajetí na tomto souostroví. Studie neuvádí konkrétní druhy kokcií, jelikož v jejím rámci nebyla provedena morfologická analýza nalezených oocyst. Ostatní studie zaměřené na kokcie z obřích želv však naopak neobsahují molekulární data, a tak nebylo možné jednotlivé výsledky porovnat. Přítomnost zástupců rodu *Eimeria* byla prokázána ve 21 vzorcích ze 110. Autor se domnívá, že infekce kokciemi může u želv způsobovat střevní záněty a zvýšenou mortalitu u mláďat (Sevillano *et al.* 2019).

1.3. Ptáci jako hostitelé kokcií

Výzkum kokcií byl v minulosti zaměřen převážně na veterinárně a medicínsky významné druhy hostitelů; v současné době se však začíná pozornost obracet i na studium kokcií u volně žijícího ptactva, jelikož tito paraziti mohou ohrožovat jejich zdraví, a několik studií poukázalo i na vysokou mortalitu (Box 1977, Gill a Paperna 2008, Knight *et al.* 2018).

Doposud bylo u pěvců (Passeriformes) v Jižní Americe popsáno přibližně 80 druhů kokcií rodu *Isospora* a pouze dva druhy rodu *Eimeria* (Berto *et al.* 2011). U skupiny měkkozobí (Columbiformes) bylo popsáno 18 druhů kokcií rodu *Eimeria* a dva druhy rodu *Isospora* (Ortúzar-Ferreira *et al.* 2020). Popis těchto druhů je však téměř ve všech případech omezen jen na morfologii oocyst. Molekulární data u většiny z nich chybí. Ze všech dosud morfologicky popsaných kokcií rodu *Eimeria* a *Isospora* z Jižní Ameriky parazitujících u skupin ptáků studovaných v této práci – drozdcovití (Mimidae), měkkozobí (Columbiformes) a pěnkavky (Turpidae) (Příloha 3, 4, 5 a 6) - je dostupná pouze jediná

sekvence pro gen malé ribosomální podjednotky, a to z *Isospora* sp. z holuba *Columba livia* f. *domestica* (Matsubara et al. 2017).

Prevalence výskytu kokciidií u různých druhů volně žijících ptáků byly zjišťovány a publikovány, avšak většina těchto údajů je založena pouze na malých souborech o nízkém počtu studovaných vzorků, a tak tyto hodnoty nelze považovat za skutečné hodnoty prevalence u volně žijících ptačích populací. S přibývajícimi daty se však začíná ukazovat, že hodnoty prevalence ovlivňuje mnoho faktorů. V mnoha studiích bylo poukázáno na cirkadiánní vylučování oocyst (vzorky získané v ranních hodinách vykazovaly signifikantně nižší hodnoty prevalence než vzorky, které byly získány v odpoledních hodinách). Tento jev je vysvětlován různými způsoby. Vylučování oocyst po kratší časový interval zvyšuje jejich koncentraci v trusu a tím i šanci, že další jedinec bude nakažen. Další názory se opírají o fakt, že jde o přizpůsobení se parazitů vnějším vlivům – zejména UV záření má negativní vliv na životnost oocyst, a tak dochází k jejich vylučování v odpoledních hodinách, kdy jsou hodnoty UV nižší, než v průběhu dne (Box 1977, Relman *et al.* 1996, Brawner a Hill 1999, Martinaud *et al.* 2009, Dolnik *et al.* 2010).

Prokazatelné rozdíly v prevalencích byly zaznamenány i mezi skupinami ptáků s různou potravní strategií. U hmyzožravých ptáků byly infekce kokciidiemi méně časté než u ptáků sbírajících potravu ze země. Vylučování oocyst probíhá pomocí ptačího trusu, který nejčastěji kontaminuje půdu, či větve stromů a keřů. Oocysty kokciidií jsou také velice citlivé na vysychání a přímé sluneční světlo, proto stinná a vlhká půda poskytuje ideální podmínky pro přežití infekčních oocyst a tak se předpokládá, že ptáci krmící se na zemi jsou vystaveni větší expozici oocyst, než ptáci sbírající potravu na stromech či ve vzduchu (Zinke *et al.* 2004, Dolnik *et al.* 2010, Knight *et al.* 2018).

1.3.1. Druhy ptáků studované v rámci této práce

Celkově bylo na souostroví Galapág popsáno 154 druhů ptáků – pouze 61 z nich toto souostroví obývá trvale. Ze zbývajících 93 druhů 25 na souostroví migruje každoročně, a 68 druhů je považováno za „tuláky“, kteří se na souostroví objevují příležitostně. Z ptáků trvale obývajících Galapágy je 29 druhů endemických (Swash a Still 2005).

V rámci své bakalářské práce jsem zpracovávala vzorky trusu od 9 druhů ptáků vyskytujících se na ostrovech Galapág – jednalo se o 7 druhů pěnkavek, 1 druh drozdce, a 1 druh hrdličky.

Mimus parvulus Gould, 1837 - drozdec bělokrký (Obr. 5A)

Ptáci (Aves)

Pěvci (Passeriformes)

Drozdcovití (Mimidae)

Drozdec bělokrký patří mezi endemický druh Galapág, a trvale je obývá. Hnízdí na všech ostrovech Galapág. Živí se hmyzem, malými plazy, ovocem i semeny; bylo pozorováno i pití krve mořských leguánů (Darwin foundation [online], Swash a Still 2005).

Zenaida galapagoensis Gould, 1841 - hrdlička galapážská (Obr. 5B)

Ptáci (Aves)

Měkkozobí (Columbiformes)

Holubovití (Columbidae)

Hrdlička galapážská je jediným zástupcem skupiny měkkozobí na Galapágách. Jedná se též o endemita těchto ostrovů, který je obývá trvale. Hojně se vyskytuje na všech hlavních ostrovech. I přes značnou izolaci jednotlivých ostrovů vykazuje celá populace těchto hrdliček velký genový tok mezi populacemi, což ukazuje na jejich častou migraci mezi jednotlivými ostrovy (Santiago-Alarcon *et al.* 2006). Živí se převážně semeny, v období dešťů pozře i housenky či plody kaktusů (BirdLife International 2020a).

Darwinovy pěnkavky

Ptáci (Aves)

Pěvci (Passeriformes)

Tangarovití (Thraupidae)

Darwinovy pěnkavky jsou známým pojmem, zejména z hlediska evoluce. Celkem je známo 14 druhů těchto pěnkavek, endemických a trvale obývajících Galapážské ostrovy, a jeden druh vyskytující se na Kokosových ostrovech. Všechny druhy mají stejného předka, liší se však tvarem a velikostí zobáků a potravní strategií (Lamichhaney 2015).

Certhidea fusca Sclater a Salvin, 1870 (Obr. 5C)

Tato pěnkavka je nejmenší z celé skupiny a její výskyt je potvrzen na ostrovech Darwin, Española, Floreana, Pinta, San Cristobal, Santa Fe a Wolf. Je hmyzožravá (Darwin foundation [online], Swash a Still 2005).

Geospiza difficilis Sharpe, 1888 - pěnkavka ostrozobá (Obr. 5D)

Tato pěnkavka se vyskytuje na všech ostrovech kromě Santa Cruz a je hmyzožravá (Darwin foundation [online], Swash a Still 2005).

Geospiza fortis Gould, 1837 - pěnkavka prostřední (Obr. 5E)

Pěnkavku prostřední lze nalézt na všech ostrovech kromě Darwin, Wolf a Genovesa. Živí se pouze semeny (Darwin foundation [online], Swash a Still 2005).

Geospiza fuliginosa Gould, 1837 - pěnkavka malá (Obr. 5F)

Výskyt pěnkavky malé je hojný na všech ostrovech kromě Genovesa, Darwin a Wolf. Živí se hmyzem, semeny a plody, a byla pozorována i při požívání klíšťat z leguánů a želv (Darwin foundation [online], Swash a Still 2005).

Geospiza magnirostris - pěnkavka velkozobá Gould, 1837 (Obr. 5G)

Pěnkavka velkozobá je největší z celé skupiny. Vyskytuje se na všech hlavních ostrovech souostroví kromě ostrovů Darwin, San Cristóbal a Española. Živí se pouze semeny (Darwin foundation [online], Swash a Still 2005).

Geospiza scandens - pěnkavka kaktusová Gould, 1837 (Obr. 5H)

Pěnkavka kaktusová se vyskytuje na všech ostrovech Galapág kromě ostrovu Fernandina. Živí se nektarem z květů, semeny a hmyzem (Darwin foundation [online], Swash a Still 2005).

Platyspiza crassirostris Gould, 1837 - pěnkavka tlustozobá (Obr. 5I)

Výskyt pěnkavky tlustozobé je uváděn na všech ostrovech kromě Darwin, Wolf, Genovesa a Española. Živí se převážně semeny, pupeny a listy (Darwin foundation [online], Swash a Still 2005).



Obr. 5 Fotografie ptáků studovaných v této práci. (A) *M. parvulus* (B) *Z. galapagoensis* (C) *C. fusca* (D) *G. difficilis* (E) *G. fortis* (F) *G. fuliginosa* (G) *G. magnirostris* (H) *G. scandens* (I) *P. crassirostris*. Zdroj fotografií: (A, B, C, D, E, F, H, I) Darwin foundation [online], (G) Birds of the world [online].

2. Cíle práce

Cílem bakalářské práce bylo vyšetření vzorků trusu, který mi byl poskytnut z několika druhů ptáků a několika různých ostrovů Galapág, na přítomnost kokcií a vývojových stádií případných jiných endoparazitů. U detekovaných kokcií pak provést morfologické a fylogenetické analýzy. Jedná se o unikátní vzorky z endemických druhů ptáků, a o první studii tohoto typu na Galapágách.

Pro splnění cílů práce byly použity metody klasické biologie (parazitologické vyšetření trusu, mikroskopie, morfologie, morfometrie) v kombinaci s molekulárními metodami (izolace DNA, PCR amplifikace vybraných genů, sekvenace) a analýzami počítačovým softwarem (molekulárně-fylogenetické analýzy).

Dílčí cíle této práce byly následující:

- Vyšetření vzorků trusu standardní flotační metodou na přítomnost kokcií a jiných endoparazitů.
- Porovnání parazitace mezi jednotlivými ostrovy.
- Porovnání parazitace mezi jednotlivými druhy ptáků.
- Morfologická determinace nalezených oocyst kokcií.
- Rekonstrukce fylogenetických vztahů detekovaných kokcií parazitujících u ptáků Galapág.

3. Metodika

Vzorky ptačího trusu byly poskytnuty doc. RNDr. Janem Štefkou, Ph.D. a Mgr. Jakubem Vlčkem. Ptačí trus byl skladován ve vzorkovnicích ve 2,5% vodném roztoku dichromanu draselného ($K_2Cr_2O_7$) a uchováván při 4 °C.

3.1. Koprologické vyšetření

Vzorky trusu (Příloha 1) byly vyšetřeny standardní flotačně-koncentrační metodou s použitím modifikovaného Sheatherova cukerného roztoku o hustotě 1,30 (Zajac a Conboy 2006). Zhomogenizovaný trus byl přecezen přes sítko s velmi jemnými oky (čajové sítko) do zkumavky, která byla poté dolita vodou přibližně 1 cm pod okraj. Takto připravené zkumavky byly centrifugovány 10 minut při 1500 g. Poté byl supernatant odstraněn a sediment byl následně zalit Sheatherovým cukerným roztokem. Takto připravený vzorek byl důkladně promíchán a opět centrifugován za stejných podmínek. Pomocí mikrobiologické kličky byla poté odebrána povrchová blanka (ve které se v případě pozitivního vzorku nacházejí oocysty kokcií či vývojová stádia jiných endoparazitů, které díky rozdílné hustotě roztoku vystoupají na povrch). Blanka byla pomocí kličky přemístěna na podložní sklo a překryta krycím sklem.

Takto připravené vzorky byly mikroskopovány světelným mikroskopem Olympus CX31 (Olympus, Japonsko) při zvětšení 10×20 a 10×40 . Pokud byly vzorky pozitivní na přítomnost oocyst kokcií, byla semikvantitativně určena intenzita infekce. Tato metoda spočívá ve zjištění počtu oocyst v jednom zorném poli mikroskopu při zvětšení 10×20 . Intenzita infekce byla hodnocena následovně (Thienpont *et al.* 1979):

žádná oocysta	- negativní vzorek	(0)
1-5 oocyst	- slabá infekce	(+)
6-10 oocyst	- středně silná infekce	(++)
11-50 oocyst	- silná infekce	(+++)
51 a více oocyst	- velmi silná infekce	(++++)

3.2. Determinace kokcií

Morfologické a morfometrické vyšetření oocyst kokcií přítomných ve vzorcích bylo provedeno pomocí světelného mikroskopu Olympus BX53 (Olympus, Japonsko) vybaveného digitální kamerou a připojeným počítačem s programem Olympus cellSens Standard 1.13. Kokcie byly analyzovány na základě morfologických znaků uvedených v publikaci Berto *et al.* (2014).

3.3. Izolace DNA

Izolace genomové DNA byla provedena komerčním kitem FastDNA[®] SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, USA).

Nejprve byly vzorky opakovaným promýváním vodou zbaveny dichromanu draselného, jež by mohl inhibovat následnou PCR reakci: 250 µl vzorku bylo přepipetováno do mikrozkušavky, která byla odstředěna po dobu 5 minut při 16 000 g. Vzniklý supernatant byl odstraněn, a pelet byl smíchán s 250 µl vody a opět centrifugován za stejných podmínek. Tento krok byl opakován do doby, než byl vzorek zbaven dichromanu (tj. supernatant byl čirý, bezbarvý). Obvykle se jednalo o 4-5 opakování.

Dále již následovala samotná izolace DNA pomocí kitu podle návodu přiloženého výrobcem. Do Lysing Matrix E Tube bylo napipetováno 200 µl promytého vzorku, 978 µl Sodium Phosphate Buffer a 122 µl MT Buffer. Lysing Matrix E Tube byla vložena do přístroje bead-beater (FastPrep[®]-24; MP Biomedicals, USA), který byl spuštěn při rychlosti 6,0 po čas 1 minutu. Lysing Matrix E Tube obsahuje skleněné kuličky různých velikostí a skleněný písek, které v tomto kroku rozbijí stěnu oocyst. Poté byla Lysing Matrix E Tube centrifugována 13 minut při 14 000 g. Supernatant byl přenesen z Lysing Matrix E Tube do nové sterilní mikrozkušavky a bylo připipetováno 250 µl PPS for Soil Kit a ručně 15× promícháno. Poté byla zkumavka ponechána 10 minut stát při pokojové teplotě, a dále centrifugována 5 minut při 14 000 g. Supernatant byl ze zkumavek přepipetován do 5ml vzorkovnic, a byl k němu přidán 1 ml Binding Matrix. Binding Matrix na sebe váže molekuly DNA. Dále byl obsah zkumavek 7 minut promícháván převrácením na rotátoru (Biosan; BioTech a.s., Česká republika), poté byly zkumavky ponechány 5 minut stát při pokojové teplotě. Ze zkumavek bylo odsáto 500 µl supernatantu. Zbytek obsahu ve zkumavce byl promíchán a 650 µl bylo přeneseno na kolonku SPIN filter a centrifugováno 5 minut při 14 000 g. Přefiltrovaný supernatant byl odstraněn, a na kolonku byl opět napipetován vzorek a odstředěn za stejných

podmínek, dokud nedošlo k odstředění celého objemu vzorku. Dále bylo na kolonku přidáno 500 µl SEWS-M a centrifugováno dalších 5 minut při 14 000 g. Odstředěný supernatant byl odstraněn a zkumavka s kolonkou byla opět odstředěna dalších 5 minut při 14 000 g, aby došlo k lepšímu vysušení kolonky. Kolonka byla následně přenesena do nové sterilní mikrozkušavky a ponechána 5 minut při pokojové teplotě. Na membránu kolonky bylo napipetováno 40 µl ultračisté vody (DES, DNase/Pyrogen-Free Water) a centrifugováno 2 minuty při 14 000 g. Poté byl stejný postup opakován ještě s 30 µl DES. Celkem jsem tak získala 70 µl DNA, kterou jsem následně skladovala při -20 °C.

3.4. Analyzované geny, primery použité pro PCR

Pro PCR amplifikaci byly vybrány čtyři geny. Mitochondriální gen pro cytochrom c oxidázu podjednotku I (COI), mitochondriální gen pro cytochrom c oxidázu podjednotku III (COIII), jaderný gen pro malou ribozomální podjednotku (18S rRNA) a plastidový gen pro ORF 470 (ORF 470).

Pro PCR amplifikaci byly použity tyto primery:

COI

COI 1 (forward): 5'-GGTTCAGGTGTTGGTTGGAC-3'

COI 2 (reverse): 5'-ATCCAATAACCGCACCAAGAG-3'

COIII

COIII 1 (forward): 5'-AGAAAACCTAAAATCATCATGT-3'

COIII 2 (reverse): 5'-AAGTGAGTTCGCATGTTTAC-3'

18S rDNA

18S 1 (forward): 5'-GAAACTGCGAATGGCTCATT-3'

18S 2 (reverse): 5'-CTTGCGCCTACTAGGCATTC-3'

ORF 470

ORF 1 (forward): 5'-GATGATATATCTTATTATTCAATTCCTT-3'

ORF 2 (reverse): 5'-TCCAATATGTAACATTTTATTTC-3'

3.5. Polymerázová řetězová reakce (PCR)

Příprava všech vzorků pro následnou PCR byla prováděna na ledu a probíhala následovně:

Do mikrozkušavky bylo napipetováno:

2,5 µl komerčního pufru (10× Buffer; Qiagen, Německo)

2,0 µl vyizolované DNA

1,0 µl směsi nukleotidů (dNTPs; 10mM roztok – 2,5mM každé báze; TaKaRa, Japonsko)

0,5 µl forward (F) primeru (20 pmol/µl; Generi Biotech, Česká republika)

0,5 µl reverse (R) primeru (20 pmol/µl; Generi Biotech, Česká republika)

0,2 µl polymerázy (HotStarTaq® Plus DNA polymeráza; 5U/µl; Qiagen, Německo)

18,3 µl PCR H₂O

Celkový objem jedné reakce tedy činil 25 µl. Mikrozkušavky byly vloženy do termocykleru, ve kterém byl spuštěn odpovídající program pro amplifikaci daného genu.

PCR program pro amplifikaci COI:

Program začínal 5 minutovou denaturací při 95 °C. Poté následovalo celkem 35 cyklů denaturace při 94 °C po dobu 45 sekund, annealing při 55 °C po dobu 45 sekund a elongace při 72 °C po dobu 60 sekund. Celý proces zakončovala finální extenze při 72 °C po dobu 10 minut.

PCR program pro amplifikaci COIII:

Program začínal 5 minutovou denaturací při 95 °C. Poté následovalo celkem 30 cyklů denaturace při 94 °C po dobu 45 sekund, annealing při 48 °C po dobu 45 sekund a elongace při 72 °C po dobu 60 sekund. Celý proces zakončovala finální extenze při 72 °C po dobu 10 minut.

PCR program pro amplifikaci 18S rDNA:

Program začínal 5 minutovou denaturací při 95 °C. Poté následovalo celkem 30 cyklů denaturace při 92 °C po dobu 45 sekund, annealing při 53 °C po dobu 45 sekund a elongace při 72 °C po dobu 90 sekund. Celý proces zakončovala finální extenze při 72 °C po dobu 10 minut.

PCR program pro amplifikaci ORF 470:

Program začínal 5 minutovou denaturací při 95 °C. Poté následovalo celkem 35 cyklů denaturace při 92 °C po dobu 45 sekund, annealing při 50 °C po dobu 45 sekund a elongace při 72 °C po dobu 90 sekund. Celý proces zakončovala finální extenze při 72 °C po dobu 10 minut.

3.6. Elektroforéza a vizualizace PCR produktů

6 µl výsledného PCR produktu bylo smícháno s kapkou barviva Sybr Green (Thermo Scientific, USA) a přeneseno do jamky 1% agarózového gelu (PCR agarose; Top-Bio s.r.o., Česká republika) v elektroforetické vaně, zalitého TAE pufrem (Merck, Německo). Do jedné jamky byly napipetovány 4 µl velikostního standardu (GeneRuler 1kb DNA Ladder; Thermo Scientific, USA), rovněž smíchaného s kapkou barviva. Poté byla elektroforéza spuštěna při 100V na přibližně 30 minut. Výsledky elektroforézy byly vizualizovány pomocí UV transiluminátoru (UVITEC, Velká Británie).

3.7. Enzymatické čištění PCR produktů

Ke každému PCR produktu o požadované velikosti bylo přidáno 0,2 µl enzymu FastAP (Thermosensitive Alkaline Phosphatase; Thermo Scientific, USA) a 0,2 µl enzymu Exo I (Exonuclease I; Thermo Scientific, USA). Poté byly mikrozkušavky vloženy do termocykleru, ve kterém byl spuštěn program pro přečištění PCR produktů. Program zahrnoval dva kroky – inkubace 15 minut při 37 °C a dalších 15 minut při 80 °C.

3.8. Sekvenace a zpracování sekvencí

Enzymaticky přečištěné PCR produkty byly zaslány do komerční společnosti Macrogen (Amsterdam, Nizozemí) na osekvenování Sangerovou metodou. Pro sekvenaci byly použity stejné primery jako pro PCR. Získané sekvence byly nejprve zkontrolovány a ořezány v programu SeqScanner v1.0 (Applied Biosystems, USA). Identita sekvencí byla ověřena pomocí algoritmu BLAST (<https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi>). Skládání sekvencí získaných pomocí dílčích forward a reverse primerů v jeden konsenzus bylo provedeno pomocí programu SeqMan v5.05 (DNASTAR Inc., USA) a finální úpravy (otočení, kontrola a případný posun čtecího rámce) v programu EditSeq v5.05 (DNASTAR Inc., USA).

3.9. Fylogenetické analýzy

Získané sekvence daného genu byly nakopírovány do textového souboru. K nim byly přidány další sekvence téhož genu vybrané z databáze GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/>). Souhrnná tabulka všech mnou získaných sekvencí a přidanych sekvencí z databáze viz. Příloha 2. Tímto způsobem byly vytvořeny datasety pro jednotlivé geny. Tyto datasety byly postupně vloženy do programu BioEdit v7.0.5.3 (Hall 1999), v němž byly alignovány. Datasets protein-kódujících genů (COI, COIII a ORF 470) byly alignovány jako proteiny; pro další zpracování byl pak alignment převeden zpět do nukleotidové podoby. Dataset pro gen 18S rRNA (nekódující protein) byl alignován v nukleotidové podobě. Získané alignmenty byly zkontrolovány a ořezány na stejnou délku a uloženy ve formátech NEXUS (.nex), PHYLIP (.phy) a FASTA (.fas), a následně použity pro fylogenetické analýzy.

K rekonstrukci fylogenetických vztahů byly použity dvě metody. Maximum likelihood (ML) byla provedena v programu PhyML v2.4.3 (Guindon a Gascuel 2003), a Bayesovská analýza (BI) pomocí programu MrBayes v3.1.2 (Huelsenbeck a Ronquist 2001). Nejvhodnější evoluční modely byly vybrány programem SMS: Smart Model Selection (Lefort a kol. 2017; www.atgc-montpellier.fr/sms/). Analýzy byly provedeny s parametry uvedenými v Tab. 1. Finální fylogenetické stromy byly vizualizovány v programu TreeView v1.6.6 (Page 1996), a jejich grafická podoba byla upravena v programu Adobe Illustrator 2020 (Adobe Systems Inc.).

Tab. 1 Detaily a parametry jednotlivých analýz.

Alignment	Maximum likelihood (PhyML)	Bayesian inference (Mr. Bayes)
COI 81 sekvencí délka 678 bp	GTR + Γ + I 1000 replikací	GTR + Γ + I mcmc = 10 000 000 burn-in = 25 %
COIII 38 sekvencí délka 678 bp	GTR + Γ + I 1000 replikací	GTR + Γ + I mcmc = 10 000 000 burn-in = 25 %
18S rRNA 73 sekvencí délka 1 509 bp	GTR + Γ + I 1000 replikací	GTR + Γ + I mcmc = 10 000 000 burn-in = 25 %
ORF 470 23 sekvencí délka 699 bp	GTR + Γ + I 1000 replikací	GTR + Γ + I mcmc = 10 000 000 burn-in = 25 %

4. Výsledky

4.1. Koprologické vyšetření a mikroskopie

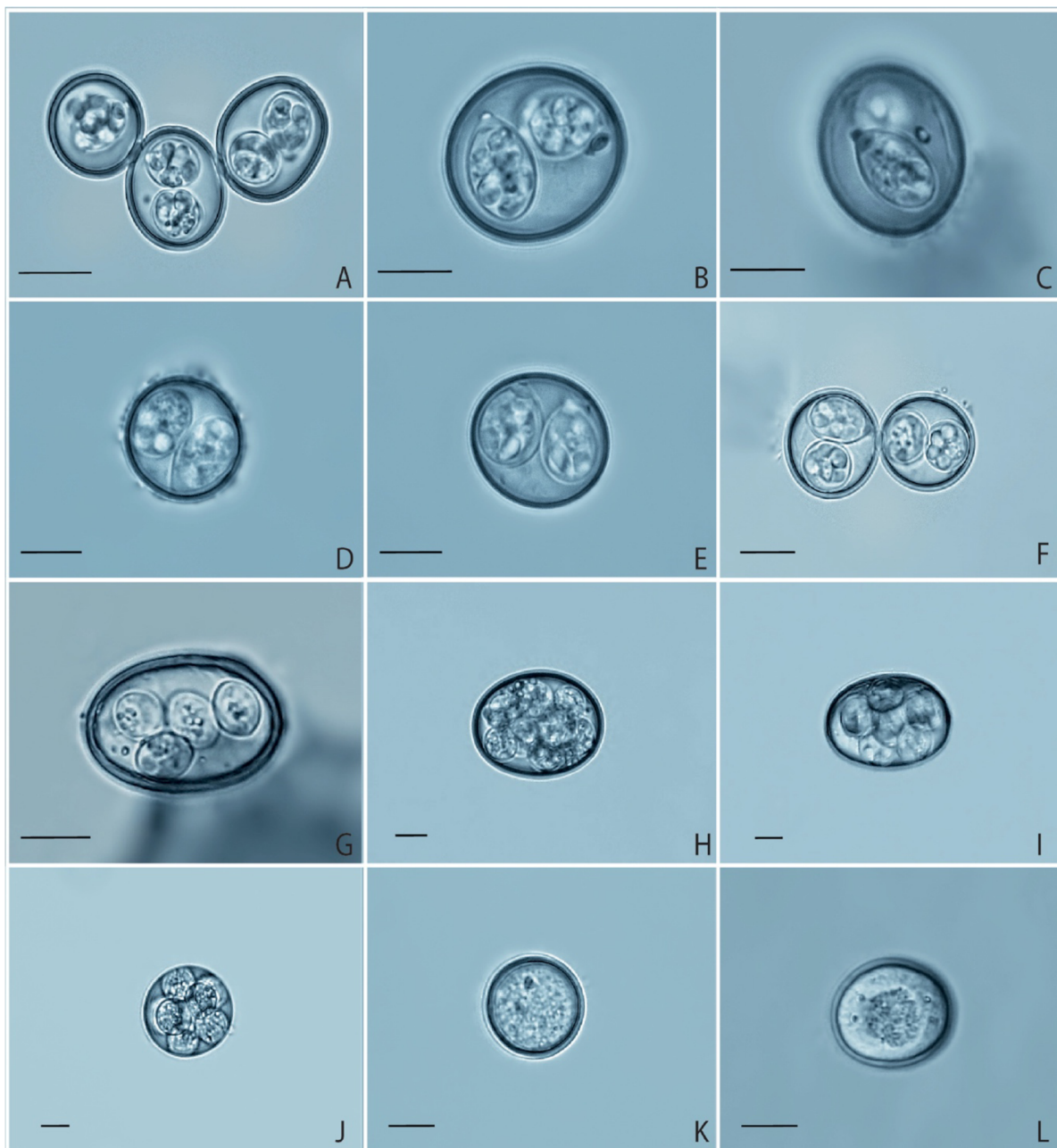
Celkem jsem měla k dispozici 146 vzorků trusu ze 146 ptačích jedinců (detaily k jednotlivým vzorkům jsou uvedeny v Příloha 1), které jsem vyšetřila na přítomnost endoparazitů pomocí flotačně-koncentrační metody s použitím Sheatherova cukerného roztoku. 29 vzorků bylo mikroskopicky pozitivních na přítomnost oocyst kokcií. Celková prevalence kokcií tedy činila 19,9 %. Tři vzorky (MOC W9, MOC W10 a MOC W14) obsahovaly smíšenou infekci – a to nevysporulovanými oocystami kokcií a vysporulovanými oocystami rodu *Adelina*. Pozitivita vzorků v rámci jednotlivých druhů ptačích hostitelů a jednotlivých ostrovů je uvedena v Tab. 2. Jiné endoparazity jsem ve vzorcích nedetekovala.

Tab. 2 Prevalence kokcií v rámci jednotlivých ostrovů a jednotlivých druhů ptáků.

	<i>Mimus parvulus</i> (drozdec bělokrký)	<i>Zenaida galapagoensis</i> (hrdlička galapážská)	<i>Certhidea fusca</i>	<i>Geospiza difficilis</i> (pěnkavka ostrozobá)	<i>Geospiza fortis</i> (pěnkavka prostřední)	<i>Geospiza fuliginosa</i> (pěnkavka malá)	<i>Geospiza magnirostris</i> (pěnkavka velkozobá)	<i>Geospiza scandens</i> (pěnkavka kaktusová)	<i>Platyspiza crassirostris</i> (pěnkavka tlustozobá)	Celkem
Darwin	2/9 22,0 %	0/6 0,0 %	-	0/9 0,0 %	-	-	-	-	-	2/42 8,3 %
Genovesa	4/12 33,3 %	0/5 0,0 %	0/4 0,0 %	1/2 50,0 %	-	-	0/5 0,0 %	0/2 0,0 %	-	5/30 16,7 %
Pinta	2/15 13,3 %	3/14 21,4 %	0/1 0,0 %	1/5 20,0 %	1/6 16,7 %	1/8 12,5 %	1/4 25,0 %	0/1 0,0 %	1/1 100,0 %	10/55 18,2 %
Santa Cruz	0/2 0,0 %	-	-	-	0/1 0,0 %	-	-	-	0/1 0,0 %	0/4 0,0 %
Wolf	6/13 46,2 %	2/8 25,0 %	-	4/6 66,7 %	-	-	0/6 0,0 %	-	-	12/33 36,4 %
Celkem	14/51 27,5 %	5/33 15,2 %	0/5 0,0 %	6/22 27,3 %	1/7 14,3 %	1/8 12,5 %	1/15 6,7 %	0/3 0,0 %	1/2 50,0 %	29/146 19,9 %

Na základě morfologie byla potvrzena přítomnost kokcií rodu *Eimeria* (v 1 vzorku), *Isospora* (v 9 vzorcích) a *Adelina* (ve 3 vzorcích). Kokcie přítomné v ostatních 16 vzorcích nebylo možné identifikovat do rodu, jelikož oocysty byly v nevysporulovaném stavu. Intenzita

infekce nebyla ve většině vzorků vysoká, některé vzorky obsahovaly pouze jednu oocystu. Pokud vzorky obsahovaly vysporulované oocysty, byla u nich provedena morfologická a morfometrická analýza. Podrobnější popis jednotlivých pozitivních vzorků a srovnání s již popsanými druhy kokcií v jednotlivých ptačích skupinách jsou uvedeny v Příloha 3, 4, 5 a 6, a v Diskuzi. Mikrofotografie kokcií přítomných v jednotlivých vzorcích jsou uvedeny na Obr. 6.



Obr. 6 Mikrofotografie oocyst. (A) *Isospora* DOV P16 (B) *Isospora* FOR P7 (C) *Isospora* FUL P3 (D) *Isospora* MOC G22 (E) *Isospora* MOC G23 (F) *Isospora* MOC P8 (G) *Eimeria* DOV P4 (H) *Adelina* MOC W9 (I) *Adelina* MOC W10 (J) *Adelina* MOC W14 (K) Nevysporulovaná oocysta MOC 2 (L) Nevysporulovaná oocysta MOC W10. Měřitko = 15 μ m.

4.2. Fylogenetické analýzy

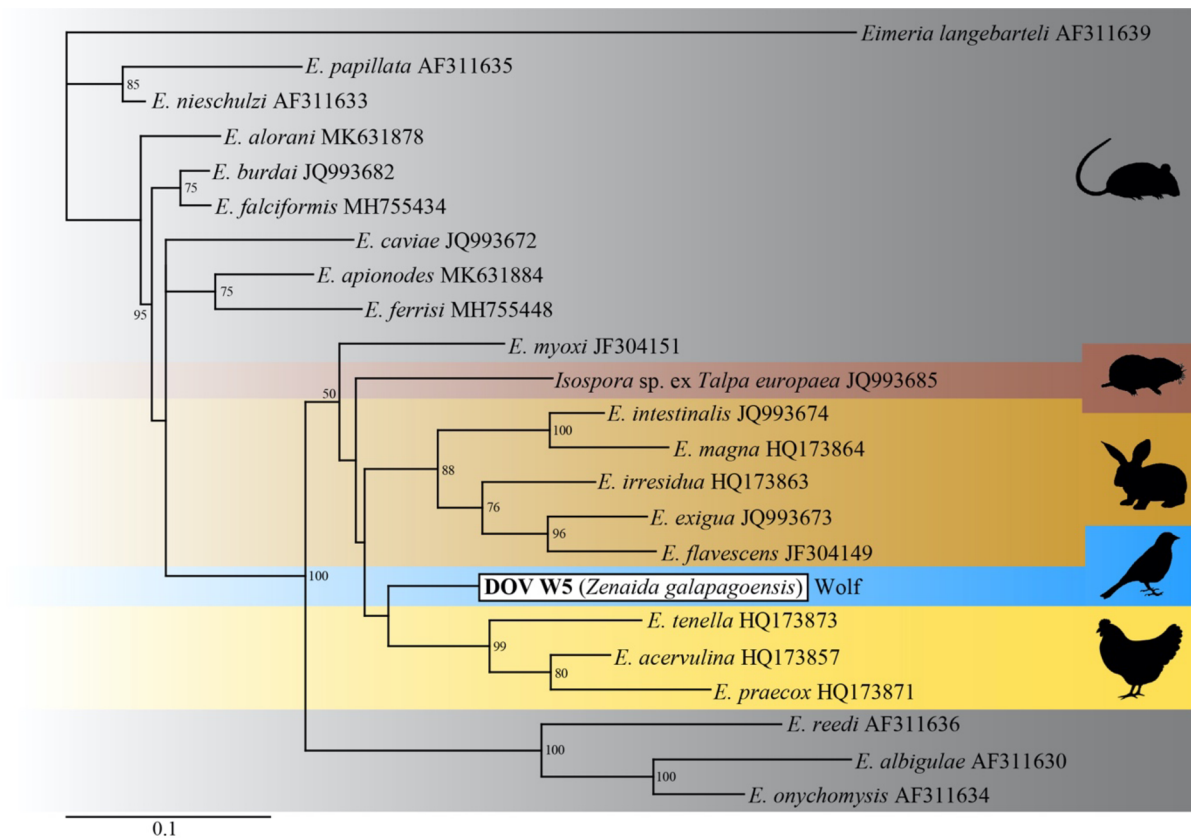
Z 29 kokcidia-pozitivních vzorků bylo možné k následným molekulárním analýzám použít pouze 26 z nich, jelikož 3 vzorky byly v době, kdy jsem prováděla izolace DNA, již vyschlé (u těchto vzorků byly provedeny opakované pokusy izolace DNA, ale bohužel s negativním výsledkem). Z DNA izolované z těchto 26 vzorků jsem získala celkem 22 sekvencí pro gen COI, 6 sekvencí COIII, 1 sekvenci 18S rRNA a 1 sekvenci ORF 470 (Příloha 2).

Fylogenetická analýza plastidového genu ORF 470 metodou ML zařadila jedinou získanou sekvenci kokcidie z hrdličky galapážské (vzorek DOV W5) nejbližší sekvencím kokcidií rodu *Eimeria* z drůbeže, konkrétně z kura domácího (Obr. 7). Analýza tohoto genu pomocí metody BI zařadila tuto sekvenci do skupiny s polytomiemi tvořené kokcidiemi rodu *Eimeria* parazitujícími opět u kura, ale i u králíků, a rodu *Isospora* osekvenovanému z krtka obecného (Obr. 8).

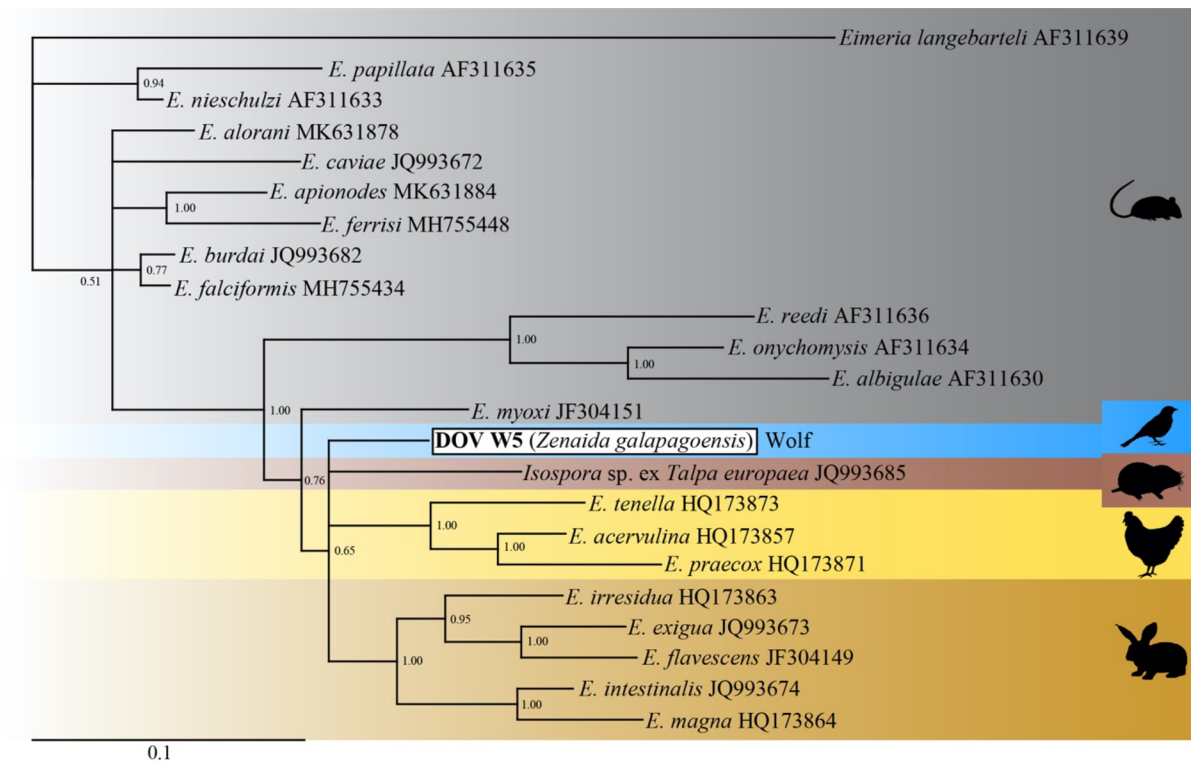
Fylogenetická analýza 18S rRNA metodou ML zařadila sekvenci téhož vzorku DOV W5 opět do skupiny rodu *Eimeria* infikující drůbež. A to nejbližší *Eimeria dispersa* parazitující u kroců (Obr. 9). Tento výsledek potvrdila i analýza metodou BI (Obr. 10).

Fylogenetická analýza ML genu COIII zařadila vzorek DOV W5 taktéž ke kokcidiím rodu *Eimeria* z drůbeže. Další získané sekvence tohoto genu se rozdělily do 4 různých skupin – všechny se však zařadily mezi kokcidie rodu *Isospora* izolované z ptáků (Obr. 11). Výsledky analýzy stejného genu metodou BI byly shodné (Obr. 12).

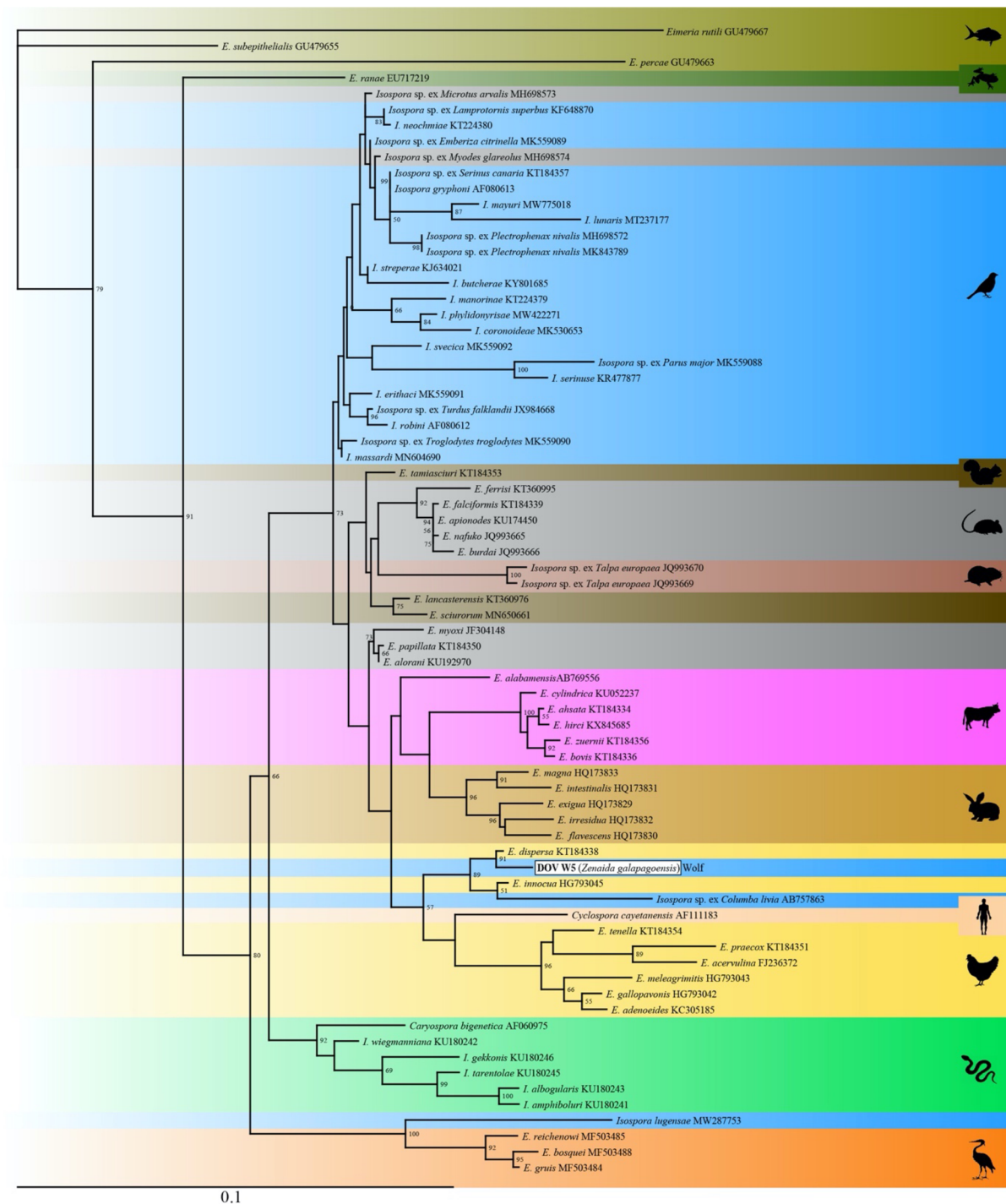
Analýza genu COI metodou ML zařadila 3 získané sekvence ke kokcidiím rodu *Eimeria* z drůbeže, opět podobně jako 18S rRNA nejbližší k *E. dispersa* osekvenované z kroců. Další sekvence se rozřadily do 5 různých skupin v rámci rodu *Isospora* z ptačích hostitelů (Obr. 13). Tyto výsledky byly podobné s výsledky analýzy stejného genu pomocí metody BI; ta však rozřadila sekvence v rámci rodu *Isospora* do 6 různých skupin (Obr. 14).



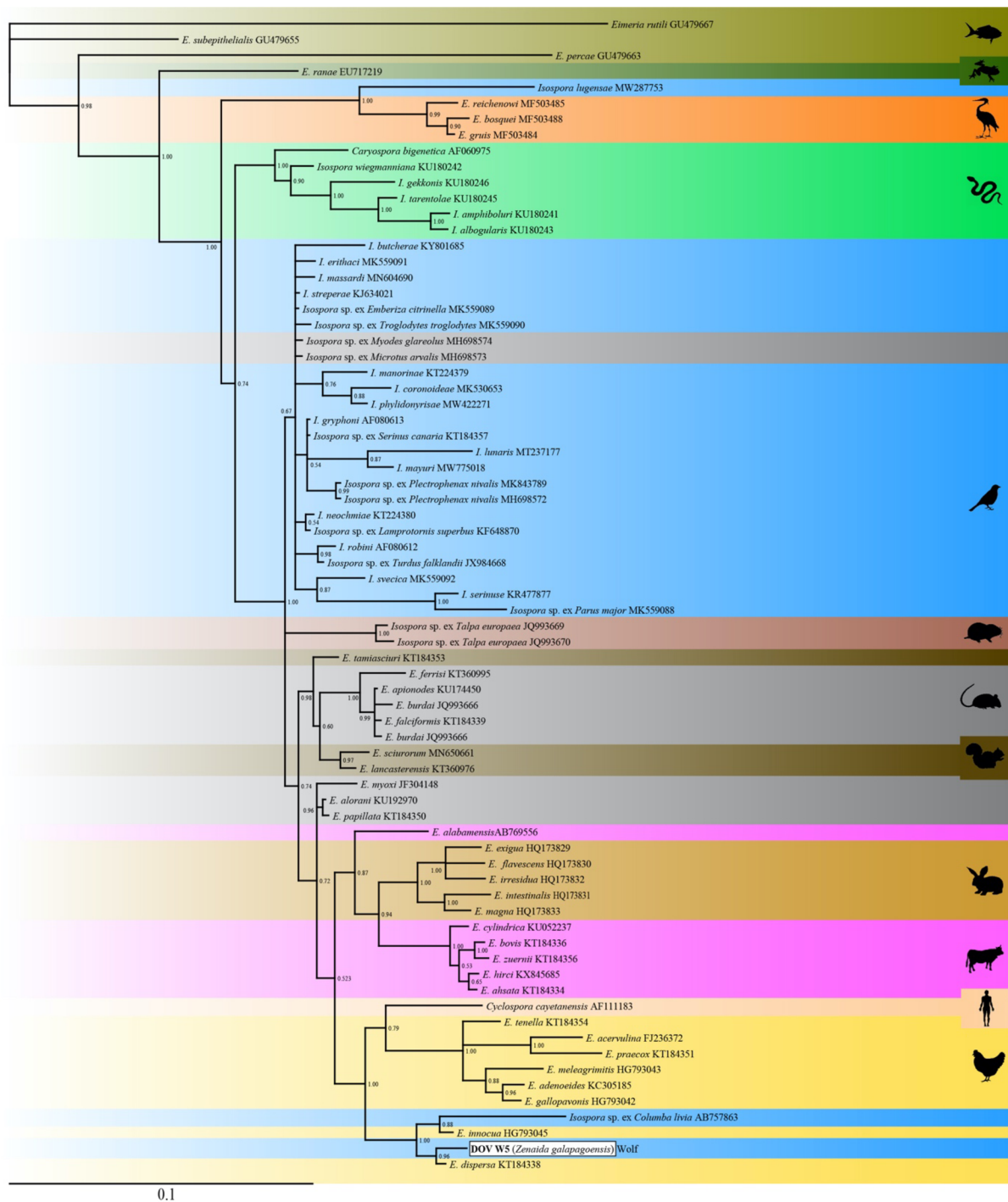
Obr. 7 Fylogenetické vzťahy parazitů rodu *Eimeria* a *Isospora* rekonstruované ML analýzou sekvencí genu ORF 470 s parametry uvedenými v Tab. 1. Číselná hodnota u uzlů odpovídá bootstrapovým hodnotám (hodnoty nižší než 50 % nejsou uvedeny). Strom je zakořeněn druhem *E. langebarteli*. Sekvence získané v rámci této práce jsou označeny bílými rámečky.



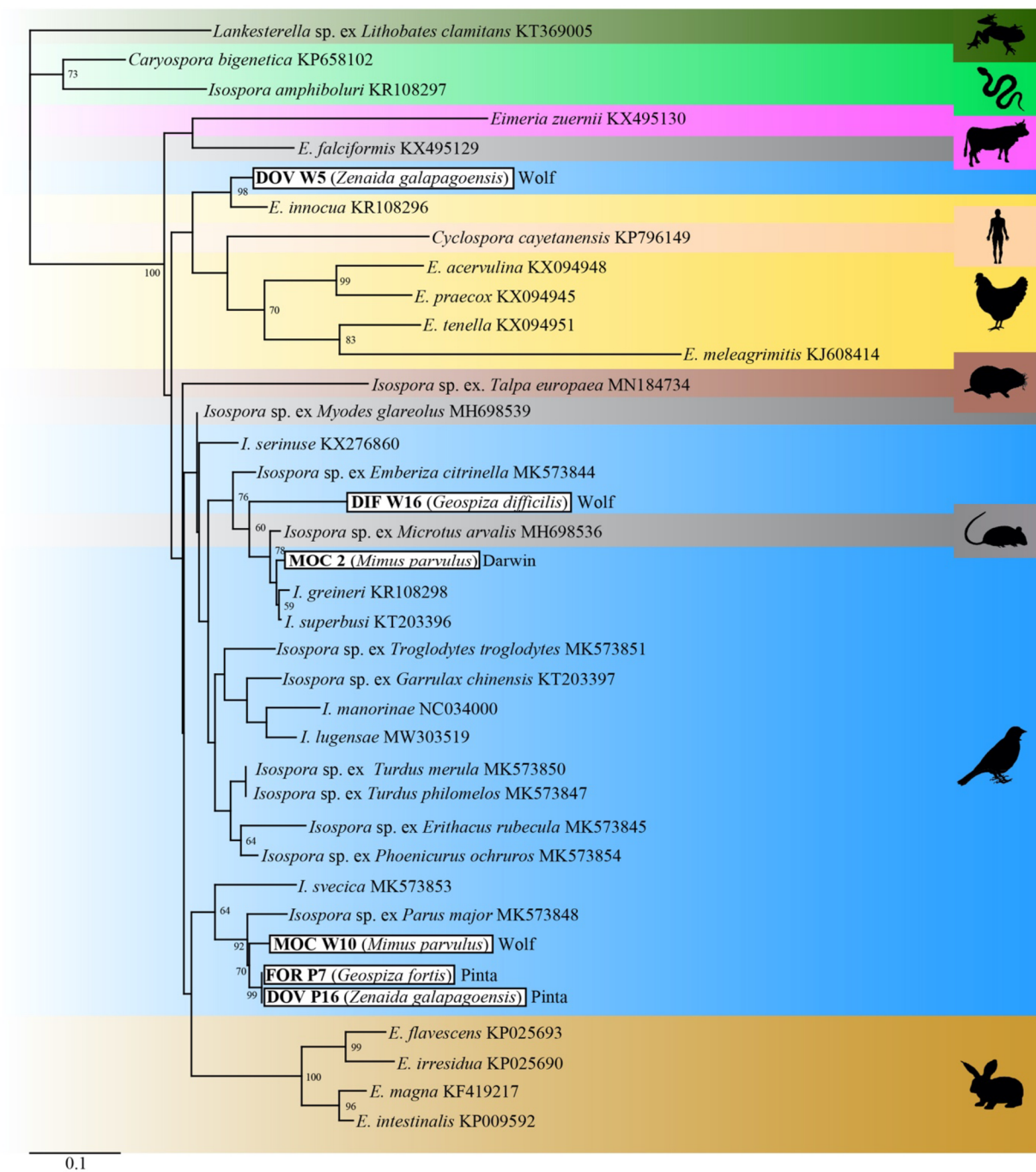
Obr. 8 Fylogenetické vztahy parazitů rodu *Eimeria* a *Isospora* rekonstruované BI analýzou sekvencí genu ORF 470 s parametry uvedenými v Tab. 1. Číselná hodnota u uzlů odpovídá hodnotám posteriorní pravděpodobnosti (hodnoty nižší než 0,50 nejsou uvedeny). Strom je zakořeněn druhem *E. langebarteli*. Sekvence získané v rámci této práce jsou označeny bílými rámečky.



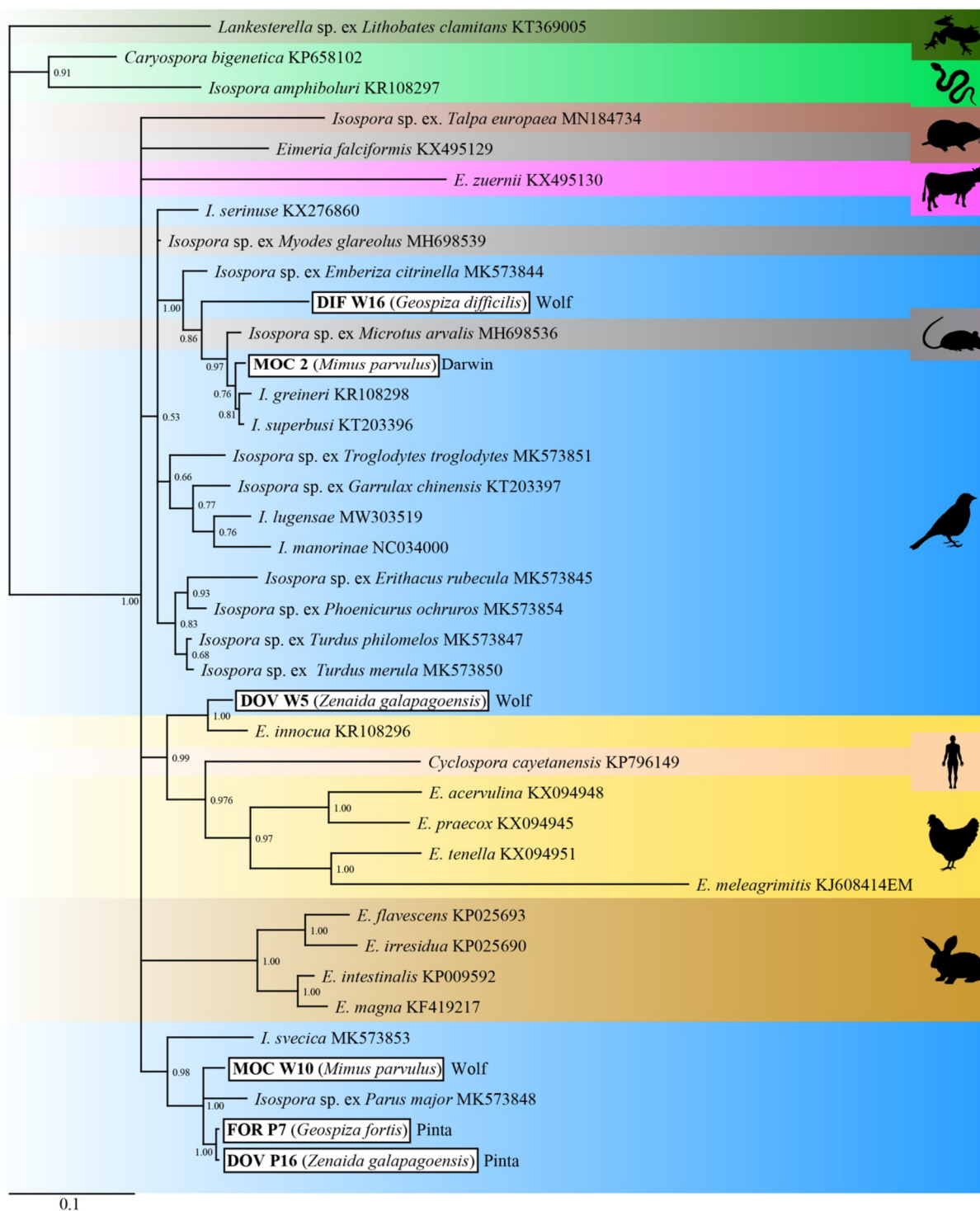
Obr. 9 Fylogenetické vztahy parazitů rodu *Eimeria* a *Isospora* rekonstruované ML analýzou sekvencí genu 18S rRNA s parametry uvedenými v Tab. 1. Číselná hodnota u uzlů odpovídá bootstrapovým hodnotám (hodnoty nižší než 50 % nejsou uvedeny). Strom je zakořeněn druhem *E. rutili*. Sekvence získané v rámci této práce jsou označeny bílými rámečky.



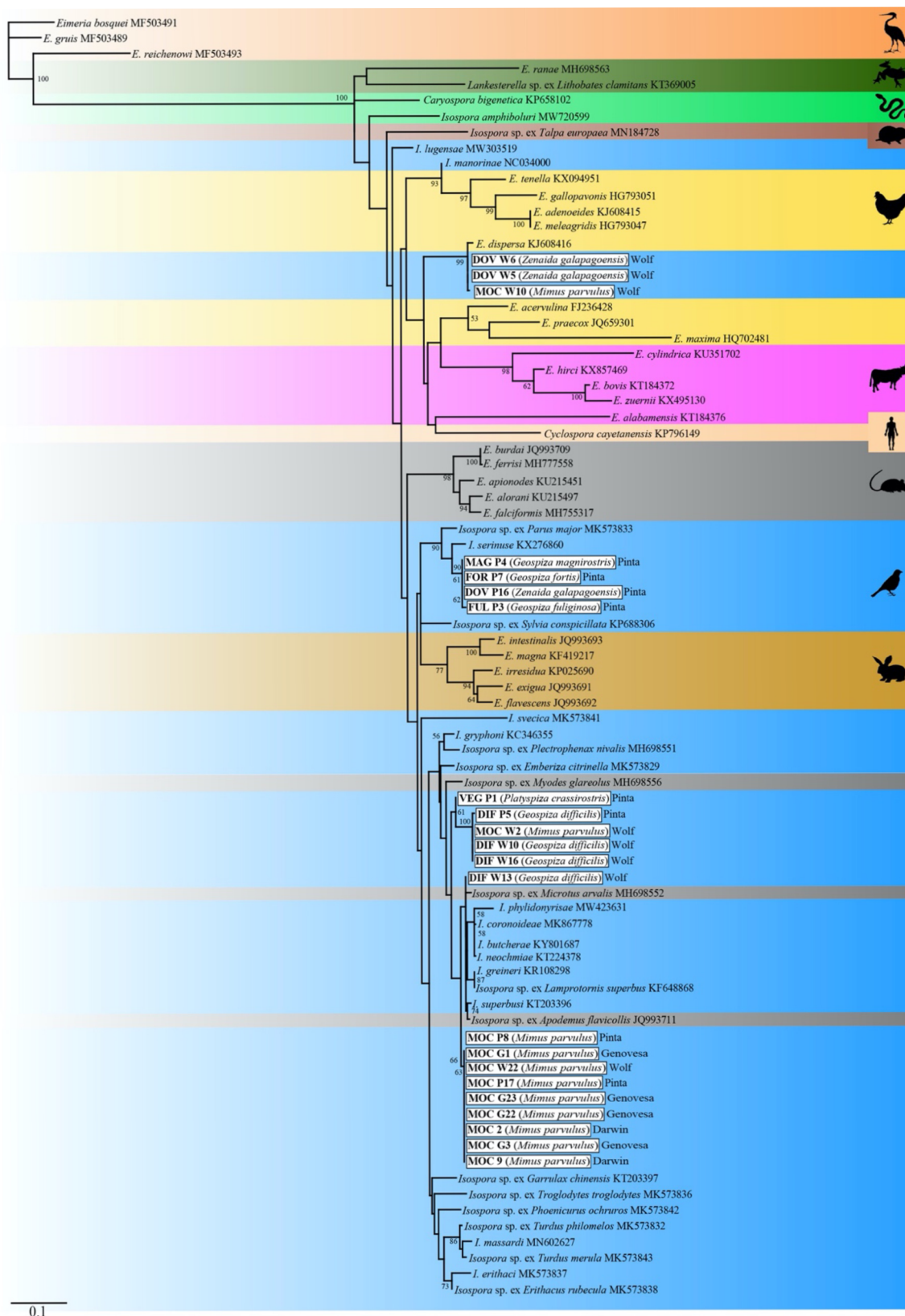
Obr. 10 Fylogenetické vztahy parazitů rodu *Eimeria* a *Isospora* rekonstruované BI analýzou sekvencí genu 18S rRNA s parametry uvedenými v Tab. 1. Číselná hodnota u uzlů odpovídá hodnotám posteriorní pravděpodobnosti (hodnoty nižší než 0,50 nejsou uvedeny). Strom je zakořeněn druhem *E. rutili*. Sekvence získané v rámci této práce jsou označeny bílými rámečky.



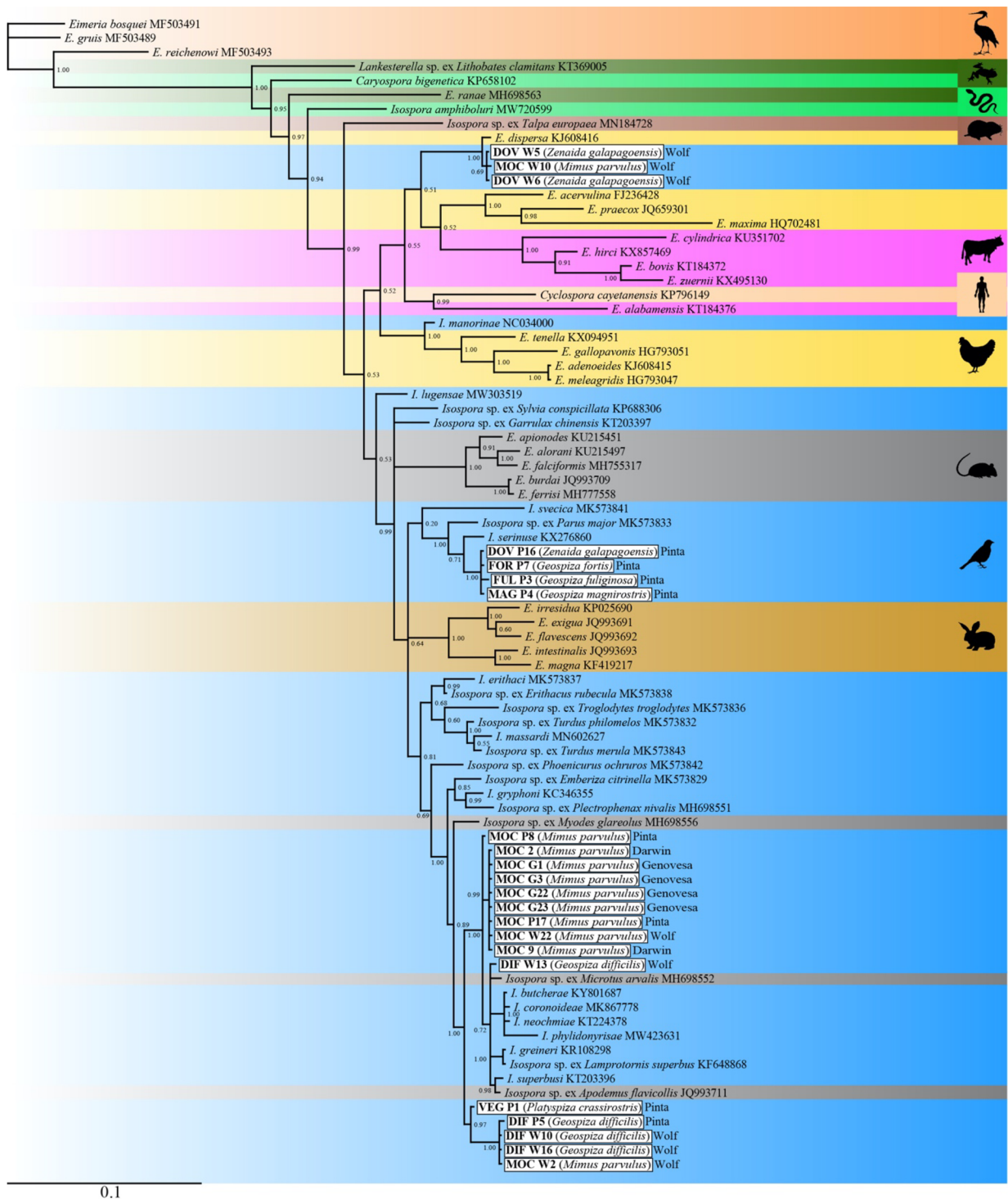
Obr. 11 Fylogenetické vztahy parazitů rodu *Eimeria* a *Isospora* rekonstruované ML analýzou sekvencí genu COIII s parametry uvedenými v Tab. 1. Číselná hodnota u uzlů odpovídá bootstrapovým hodnotám (hodnoty nižší než 50 % nejsou uvedeny). Strom je zakořeněn *Lankesterella* sp. Sekvence získané v rámci této práce jsou označeny bílými rámečky.



Obr. 12 Fylogenetické vzťahy parazitů rodu *Eimeria* a *Isospora* rekonstruované BI analýzou sekvencí genu COIII s parametry uvedenými v Tab. 1. Číselná hodnota u uzlů odpovídá hodnotám posteriorní pravděpodobnosti (hodnoty nižší než 0,50 nejsou uvedeny). Strom je zakořeněn *Lankesterella* sp. Sekvence získané v rámci této práce jsou označeny bílými rámečky.



Ob. 13 Fylogenetické vztahy parazitů rodu *Eimeria* a *Isospora* rekonstruované ML analýzou sekvencí genu COI s parametry uvedenými v Tab. 1. Číselná hodnota u uzlů odpovídá bootstrapovým hodnotám (hodnoty nižší než 50 % nejsou uvedeny). Strom je zakořeněn druhem *E. bosquei*. Sekvence získané v rámci této práce jsou označeny bílými rámečky.



Obř. 14 Fylogenetické vztahy parazitů rodu *Eimeria* a *Isospora* rekonstruované BI analýzou sekvencí genu COI s parametry uvedenými v Tab. 1. Číselná hodnota u uzlů odpovídá hodnotám posteriorní pravděpodobnosti (hodnoty nižší než 0,50 nejsou uvedeny). Strom je zakořeněn druhem *E. bosqueti*. Sekvence získané v rámci této práce jsou označeny bílými rámečky.

5. Diskuze

Celková prevalence kokciidií ve vzorcích vyšetřených v rámci této práce činila 19,9 %. Tuto hodnotu nelze dost dobře porovnávat s výsledky jiných studií, jelikož většina studií zaměřených na kokcidie u volně žijícího ptactva byla provedena pouze na malých souborech vyšetřených ptáků, a tak se tyto hodnoty značně různí (Oliveira *et al.* 2017). To platí i u studií týkajících se kokciidií z Galapážských ostrovů. Například studie z roku 1988 popisuje 4 nové druhy kokciidií rodu *Isospora* z *Camarhynchus parvulus*. Prevalence jednotlivých druhů se pohybovaly od 50 % do 75 %. Počet testovaných ptačích jedinců byl však od 1 do 4, takže tyto hodnoty nelze považovat za reálné (McQuistion a Wilson 1988). Další studie popisuje nový druh *Isospora daphnensis* n. sp. z *G. fortis*. Prevalence činila 1,5 % u 199 vyšetřených jedinců (McQuistion 1990). V další studii byl popsán druh *Eimeria palumbi* ze *Z. galapagoensis*. 12,5 % z 8 studovaných jedinců bylo pozitivních na přítomnost tohoto druhu kokcidie (McQuistion 1991). Studie z roku 2009 uvádí prevalenci *Isospora* sp. u 5,7 % z celkem 210 studovaných jedinců *G. fuliginosa* (Lindström *et al.* 2009). Zjištění skutečné prevalence nejen kokciidií, ale jakéhokoliv infekčního agens, je v populacích volně žijících zvířat obtížné. Většinou totiž neznáme počet jedinců v celé populaci, a počet pozitivních jedinců tak nelze vztáhnout k reálné hodnotě. Velmi záleží také na počtu vyšetřených jedinců (Gordis 2014), viz diskuze výše. Prevalence kokciidií u volně žijících zvířat je navíc ovlivněna mnoha faktory, například stářím, pohlavím a kondicí hostitelského jedince, ale také ročním obdobím (sezónností) a rozdíly ve vylučování oocyst v průběhu dne (Box 1977, Ball a Lewis 1984, Brawner a Hill 1999, Martinaud *et al.* 2009).

Mnoho studií poukázalo na fakt, že vylučování oocyst kokciidií vykazuje cirkadiální rytmus – vzorky získané v ranních hodinách měly nižší prevalenci kokciidií než vzorky, které byly získány v hodinách odpoledních. Tento jev autoři vysvětlují několika způsoby - vylučování oocyst po kratší časový interval zvyšuje jejich koncentraci v trusu a tím i šanci, že dojde k infekci dalšího jedince. Další názory se opírají o fakt, že jde o přizpůsobení se parazitů vnějším vlivům – zejména UV záření má negativní vliv na životnost oocyst, a tak dochází k jejich vylučování v odpoledních hodinách, kdy jsou hodnoty UV nižší než v průběhu dne (Box 1977, Relman *et al.* 1996, Brawner a Hill 1999, Martinaud *et al.* 2009, Dolnik *et al.* 2010). Tento jev byl potvrzen i v mé bakalářské práci. Ze 73 vzorků odebraných v časovém intervalu 00:00 – 12:00 byly na přítomnost oocyst kokciidií pozitivní pouze 4 vzorky (5,5 %), zatímco ze 42 vzorků odebraných od 12:00 do 23:59 bylo 16 pozitivních (38,1 %). U zbylých 31 vzorků nebyl časový údaj uveden.

Prevalence kokcií mezi jednotlivými ostrovy byly značně rozdílné – nejnižší prevalence byla na ostrově Santa Cruz (0,0 %), a nejvyšší na ostrově Wolf (36,4 %). Ze Santa Cruz, druhého největšího ostrovu souostrovní Galapág, byly k dispozici jen 4 vzorky trusu, zatímco z druhého nejmenšího ostrovu Wolf bylo k dispozici 33 vzorků. Pravděpodobnost, že se v malé skupině vzorků objeví pozitivní vzorek je tak menší, než ve skupině o větším počtu vzorků. Tyto hodnoty tedy nelze rovnocenně porovnávat.

Stejný případ nastal i u porovnávání prevalencí mezi jednotlivými druhy ptáků. Žádný pozitivní vzorek nebyl zjištěn u pěnkavek *G. scandens* (vyšetřeny celkem 3 vzorky) a *C. fusca* (vyšetřeno celkem 5 vzorků). Nejvyšší prevalence byla u druhu pěnkavky *P. crassirostris* – ze 2 vzorků byl 1 pozitivní, a tím hned celková prevalence činila 50 %. Opět se ani v tomto případě nejednalo o reprezentativní a vyrovnaný počet vzorků z jednotlivých druhů ptáku, a tak není možné hodnoty prevalencí mezi sebou porovnávat a vyvozovat hlubší závěry.

Na základě mikroskopie byly v 9 vzorcích detekovány oocysty kokcií rodu *Isospora*, a již podle jejich morfologických rozdílností lze předpokládat, že se jedná o zástupce několika různých druhů (Obr. 6). V 1 vzorku byly zjištěny oocysty rodu *Eimeria*. Ve 3 vzorcích byly nalezeny oocysty rodu *Adelina*. Kokcie rodu *Adelina* jsou převážně parazité bezobratlých, a tak lze předpokládat, že v tomto případě se jedná pouze o jejich pasáž trávicím traktem ptáka, a ne o parazita infikujícího ptáky (Ghimire 2010, Trefancová *et al.* 2019).

Morfologické a morfometrické vyšetření bylo provedeno pouze u vysporulovaných oocyst. 9 z 29 vzorků pozitivních na přítomnost oocyst kokcií obsahovalo vysporulované kokcie. Vyšetření ukázalo, že vzorek DOV P4 z hrdličky galapážské obsahoval jako jediný oocysty kokcie rodu *Eimeria* (Obr. 6G). Její morfologické vlastnosti jsem porovnála s dosud popsanými druhy kokcií rodu *Eimeria* ve skupině měkkozobých (Příloha 6). Morfologicky tento druh eimerie neodpovídal žádnému dosud popsanému druhu u měkkozobých. Hlavním rozdílem byly větší rozměry oocyst a naopak k tomu menší velikost sporocyst, než u ostatních druhů.

Další vzorek DOV P16 z hrdličky obsahoval kokcie rodu *Isospora* (Obr. 6A). U měkkozobých byly doposud popsány pouze dva druhy kokcií tohoto rodu (Příloha 4). Jejich morfologické znaky neodpovídaly jak velikostí oocyst i sporocyst, tak i tvarem a počtem vrstev stěny oocyst.

5 vzorků z drozdce bělokrkého obsahovalo kokcie rodu *Isospora* (Obr. 6D-F). Morfologické znaky kokcií ze všech 5 vzorků si odpovídaly a lišily se jen v detailech – půjde tedy pravděpodobně o stejný druh kokcie rodu *Isospora*. Morfologie oocyst byla porovnána s morfologií již popsaných druhů kokcií rodu *Eimeria* z čeledi drozdcovitých a příbuzné

čeledi špačkovitých (Příloha 3). Nejvíce se podobaly druhu *Isospora mimusi* popsanému z *Mimus gilvus* (Coelho *et al.* 2011). Pro tento druh kokcidie však neexistují molekulární data, a tak nebylo možné tuto shodu potvrdit i na základě fylogenetických analýz.

Dva vzorky (FOR P7 a FUL P3) z pěnkavek obsahovaly oocysty kokcidií rodu *Isospora* (Obr. 6B, C). Morfologie obou kokcidií si odpovídala, půjde tedy pravděpodobně o stejný druh rodu *Isospora*. Tento druh byl dále porovnán s dosud popsanými kokcidiemi rodu *Isospora* u pěnkavek v Jižní Americe (Příloha 5). Žádný z těchto dosud popsaných druhů neodpovídal morfologii oocyst ze získaných vzorků. Většina již popsaných druhů měla pouze jednovrstevnou stěnu oocysty, a pokud byly uvedeny vrstvy dvě, neodpovídaly rozměry oocyst či sporocyst.

V současné době je zvykem rekonstruovat a interpretovat fylogenetické vztahy na základě analýz dvou či více genů. U kokcidií patří mezi nejčastěji používané 18S rRNA a COI. Gen pro 18S rRNA je značně konzervativní, a není tudíž vhodný pro rekonstrukce vnitrodruhových vztahů nebo vztahů blízce příbuzných druhů. Na druhou stranu má historicky největší zastoupení sekvencí kokcidií v databázi GenBank, takže je možné z něj vytvořit robustní dataset. Mitochondriální gen pro COI je již dostatečně variabilní, tudíž je vhodným a v současné době nejčastěji používaným markerem pro studium vnitrodruhové variability a pro fylogenetické analýzy blízce příbuzných druhů eimerií. V předchozích pracích pilotně testovaný gen COIII (Kamiš 2019, Trefancová a Kvičarová 2019, Trefancová *et al.* 2019) vykazuje také dobrou variabilitu. Velmi dobré výsledky by mohl poskytovat plastidový gen pro ORF 470 (Jarquín-Díaz *et al.* 2020), avšak zastoupení jeho sekvencí v databázi GenBank je bohužel velmi malé.

Z celkem 29 vzorků pozitivních na přítomnost oocyst kokcidií se mi podařilo získat 22 sekvencí genu COI. Pro potvrzení zjištěných fylogenetických vztahů (Obr. 13, 14) bylo vhodné získat i sekvence jiných genů. Celkem se mi podařilo získat 6 sekvencí genu COIII, 1 sekvenci genu pro 18S rRNA, a 1 sekvenci genu ORF 470. U těchto genů však nebyla úspěšnost zisku sekvencí vysoká. Lze to částečně zdůvodnit i tím, že použité primery amplifikující tyto geny byly vytvořeny převážně pro kokcidie rodu *Eimeria* ze savčích hostitelů (Kvičarová *et al.* 2008, 2011, Mácová *et al.* 2018). Což se prokázalo u vzorku DOV W5, pro který se podařilo získat sekvence pro všechny 4 geny, a následné fylogenetické analýzy zařadily tento vzorek jako jediný ke kokcidiím rodu *Eimeria*. Tento vzorek však obsahoval pouze nevysporulované oocysty, nelze to tedy potvrdit i z hlediska morfologie. V případě mé práce se jednalo zejména o kokcidie rodu *Isospora* z ptačích hostitelů, a tak by

bylo do budoucna vhodné zaměřit se na design funkčních primerů pro různé geny v rámci rodu *Isospora*.

Pro plastidový gen ORF 470 (Obr. 7, 8) byla v rámci této práce získána pouze jediná sekvence, a to ze vzorku DOV W5 pocházejícího z hrdličky galapážské z ostrova Wolf. Fylogenetické analýzy tuto sekvenci zařadily ke kokcidiím rodu *Eimeria* parazitujícím u kura domácího (*Gallus gallus f. domestica*), ale je evidentní, že se od nich značně liší. V databázi GenBank nejsou pro tento gen k dispozici žádné jiné sekvence z ptačích kokcidií, a tak přesnější zařazení této sekvence nebylo možné. Bohužel vzorek DOV W5 obsahoval pouze nevysporulované oocysty, a tak morfologie není k dispozici, stejně jako na základě mikroskopie nebylo možné určit rod kokcidie.

Fylogenetické analýzy genu 18S rRNA (Obr. 9, 10) zařadily sekvenci vzorku DOV W5 opět mezi rod *Eimeria* parazitující u drůbeže, a to nejbližše *Eimeria dispersa* osekvenované z krocanů.

Pro mitochondriální gen COIII (Obr. 11, 12) bylo získáno již více sekvencí. Sekvence ze vzorku DOV W5 byla jako v předchozích případech zařazena k eimeriím z drůbeže. Dalších 5 sekvencí bylo rozřazeno do 4 samostatných skupin v rámci sekvencí získaných z kokcidií rodu *Isospora* parazitujících u ptactva. Bližší zařazení nelze určit, jelikož všechny vzorky vždy vytvořily vlastní větve. Analýzy ukázaly, že sekvence ze vzorku FOR P7 z pěnkavky prostřední a DOV P16 z hrdličky galapážské jsou totožné (neliší se ani jediným nukleotidem), a tak se bude nejspíše jednat o stejný druh rodu *Isospora*. Jelikož hostitelé jsou v tomto případě zástupci dvou rozdílných řádu ptáků (měkkozobí a pěvci), půjde o druh kokcidie s nižší hostitelskou specifitou.

Nejinformativnější výsledky pocházejí z fylogenetických analýz genu COI (Obr. 13, 14), jelikož se pro něj podařilo získat v rámci této práce nejvíce sekvencí, a i dostupnost použitelných a vhodných sekvencí tohoto genu v databázi GenBank byla nejobsáhlejší. Sekvence DOV W5 byla opět zařazena ke druhům eimerií z drůbeže, a to stejně jako v případě genu 18S rRNA k *E. dispersa*. K sekvenci DOV W5 se zde přiřadily ještě další dvě sekvence, a to DOV W6 z hrdličky galapážské a MOC W10 z drozdce bělokrkého. Všechny 3 sekvence jsou totožné, pouze vzorek MOC W6 se liší jedním nukleotidem. Sekvence *E. dispersa* se od nich liší ve třech nukleotidech. U analýzy pro gen 18S rRNA se sekvence *E. dispersa* a sekvence eimerie ze vzorku DOW W5 vzájemně lišily v desítkách nukleotidů. Zařazení této eimerie k *E. dispersa*, která parazituje u krocanů, lze vysvětlit tím, že *E. dispersa* mohla v minulosti „přeskočit“ na jedince ze skupiny drozdců či hrdliček a postupem času v nových hostitelích diversifikovat. Krocani byli na Galapážské ostrovy

zavlečení v roce 1937 a běžně se tam chovají na farmách dodnes (konkrétně existují písemné záznamy o jejich výskytu na ostrovech Floreana, Isabela, San Cristóbal, Santa Cruz a Santiago). Divoké populace krocánů nejsou známy (Jiménez-Uzcátegui *et al.* 2008, Philips *et al.* 2012). Vzorky získané v rámci této práce jsou však z ostrova Wolf, na kterém se krocáni nevyskytují. Zavlečení kokcidie z krocana na tento ostrov mohlo proběhnout právě pomocí hrdliček, jelikož ty mezi ostrovy běžně migrují, a poté byl tento druh kokcidie přenesen i na drozdce. Drozdci mezi ostrovy nemigrují, kolonizovali jednotlivé ostrovy jednorázově a tvoří na nich oddělené populace. Tato kolonizace proběhla dříve, než byli na Galapážské ostrovy zavlečeni krocáni (Arbogast *et al.* 2006, Santiago-Alarcon *et al.* 2006, Hoeck *et al.* 2010, Štefka *et al.* 2011). Takže pokud je opravdu původ tohoto druhu kokcidie v druhu *E. dispersa*, není jiná možnost, jak by se tato kokcidie dostala do drozdců na ostrově Wolf. Roli v přenosu tedy musela hrát právě hrdlička, nebo jiný pták, který nebyl v rámci této práce vzorkován a migruje běžně mezi jednotlivými ostrovy. Bohužel všechny tři vzorky obsahují pouze nevysporulované oocysty kokcidií, a tak je nelze porovnat s morfologií *E. dispersa*. Tato kokcidie byla opět nalezena u dvou rozdílných řádů ptáků (měkkozobí a pěvci), tudíž její hostitelská specifita nebude pravděpodobně vysoká.

Další skupina sekvencí COI kokcidií ptáků Galapág byla zařazena nejbližší druhu *Isospora serinuse*, popsanému z kanára (*Serinus canaria* f. *domestica*) z Austrálie. Šlo o vzorky DOV P16 z hrdličky a FOR P7, FUL P3 a MAG P4 ze tří druhů pěnkavek. Všechny 4 sekvence jsou totožné, jen vzorek FUL P3 se liší dvěma nukleotidy. Vzorky pocházejí opět z jednoho ostrova, z Pinty. Pravděpodobně tedy půjde o doposud nepopsaný druh kokcidie rodu *Isospora* s nižší hostitelskou specifitou. Další skupinu vytvořily vzorky DIF P5, DIF W10, DIF W16 a MOC W2. Jednotlivé sekvence COI jsou opět na základě nukleotidů totožné, pouze vzorek DIF P5 se liší od ostatních v jednom nukleotidu. Tato skupina zahrnuje dva druhy hostitelů, *G. difficilis* a *M. parvulus*. Právě lišící se sekvence DIF P5 pochází z otrovu Pinta, ostatní jsou z ostrova Wolf. Opět tedy pravděpodobně půjde o doposud nepopsaný druh kokcidie rodu *Isospora* s nižší hostitelskou specifitou. Další 2 vzorky, DIF W13 a VEG P1, se rozřadily do 2 samostatných linií v rámci kokcidií rodu *Isospora* z ptactva. Nejzajímavější je však skupina tvořená 9 totožnými sekvencemi COI ze vzorků z drozdce bělokrkého (MOC 2, MOC 9, MOC G1, MOC G3, MOC G22, MOC G23, MOC P8, MOC P17 a MOC W22). Všech 9 sekvencí je naprosto totožných, pouze vzorek MOC P8 se liší v jednom nukleotidu. Tato skutečnost byla potvrzena i morfologicky, jelikož vzorky MOC G3, MOC G22, MOC G23, MOC P8 a MOC P17 obsahovaly vysporulované oocysty, takže u nich bylo provedeno i morfologické vyšetření. To ukázalo, že morfologie všech oocyst

je shodná (Příloha 3). Sekvence pocházejí se stejného druhu hostitele, ale byly odebrány na 4 různých ostrovech, a to i vzájemně velmi vzdálených (Darwin vs. Genovesa). Drozdci však mezi jednotlivými ostrovy nemigrují (Arbogast *et al.* 2006, Hoeck *et al.* 2010, Štefka *et al.* 2011). Tento výsledek může mít dvě možná vysvětlení. Při kolonizaci jednotlivých ostrovů byli drozdci již infikováni tímto druhem kokcidie. „Přinesli“ si ho tedy na ostrovy s sebou. Tato možnost je však celkem nepravděpodobná, jelikož by to znamenalo, že tento druh kokcidie má velmi malý tok genů a od doby osídlení jednotlivých ostrovů se nijak evolučně nevyvíjel, takže genetická informace – alespoň v rámci genu COI - zůstala totožná. Druhou, pravděpodobnější, možností může být opět nízká hostitelská specifita tohoto druhu, kdy přenašečem mezi jednotlivými ostrovy je v rámci této práce nevzorkovaný druh ptáka, který mezi ostrovy běžně migruje. Mohlo by se jednat například o různé druhy mořských ptáků, například o racky, buřňáky, tereje, albatrosy nebo chaluhy (Swash a Still 2005). Avšak u žádného z mořských nebo jiných vodních ptáků, jejichž výskyt byl na Galapágách prokázán (Swash a Still 2005), nebyly doposud popsány žádné kokcidie. U pěvců pravidelně či příležitostně migrujících již byly kokcidie rodu *Isospora* detekovány, avšak jejich morfologické znaky s touto kokcidií nekorelují jak velikostí, tak i přítomností či absencí jednotlivých vnitřních struktur (Příloha 7). Pravděpodobně tedy může jít o druh ptáka, který doposud nebyl vyšetřen na přítomnost kokcidií, nebo u něj kokcidie dosud nebyly zjištěny. Tato studie je v této oblasti pilotní a zatím existuje málo dat pro vyvozování zásadnějších závěrů. Pro objasnění tohoto zajímavého problému by byl zapotřebí větší sampling.

U hrdličky galapážské byly detekovány kokcidie jak rodu *Eimeria* (vzorky DOV W5 a DOV W6), tak i rodu *Isospora* (vzorek DOV P16). Doposud byly u řádu měkkozobí popsány pouze dva druhy kokcidie rodu *Isospora* - *Isospora galliocolumbae* (Varghese 1978) a *Isospora* sp. (Matsubara *et al.* 2017), jejichž morfologie nekoreluje s morfologickými znaky kokcidie ze vzorku DOV P16 (Příloha 4) – půjde tak velmi pravděpodobně opět o doposud nepopsaný druh. U drozdce bělokrkého se sekvence rozřadily do dvou vzájemně nepříbuzných linií kokcidií rodu *Isospora*, a jedné linie rodu *Eimeria*. Kokcidie rodu *Eimeria* z drozdce či jemu příbuzných skupin ptáků nebyly doposud popsány. Sekvence získané z kokcidií detekovaných u pěnkavek se rozřadily do 4 vzájemně nepříbuzných linií rodu *Isospora* (Obr. 13, 14).

U většiny linií jednotlivých rodů kokcidií byly sekvence získány z rozdílných druhů i řádů ptáků. Dá se tedy předpokládat, že tyto kokcidie budou mít nižší hostitelskou specifitu, což může být zapříčiněno právě jejich evolucí na ostrovech – počet jedinců jednotlivých druhů

hostitelů na ostrovech není tak vysoký jako na pevnině či větších územích, a tím pádem je pro parazity evolučně výhodnější nesespecializovat se pouze na určitý druh hostitele.

Jak již bylo řečeno, studie tohoto typu na Galapážských ostrovech je pilotní a malého rozsahu. Molekulární data z této oblasti zcela chybí, a i celková dostupnost dat o kokcidiích u volně žijících ptáků není dostačující na to, aby bylo možno vyvozovat detailní a zásadní závěry. Do budoucna by bylo tedy zapotřebí provést sampling u většího počtu jedinců a více druhů hostitelů v rámci jednotlivých ostrovů (včetně velkého ostrova Santa Cruz, ze kterého jsem nyní měla k dispozici pouze 4 vzorky, přičemž všechny byly negativní). Výsledky by mohly přinést kromě popisu nových druhů kokcidií i lepší podklady pro objasnění jejich koevoluce s hostiteli či evolučních tendencí těchto parazitů jako takových.

6. Závěr

V rámci této práce byly studovány kokcidie parazitující u ptáků na Galapážských ostrovech. Bylo vyšetřeno 146 vzorků trusu ze 146 ptačích jedinců. Vzorky pocházely z hrdličky galapážské, drozdce bělokrkého, a 7 druhů Darwinových pěnkavek. Vzorky byly získány z celkem pěti galapážských ostrovů – Darwin, Genovesa, Pinta, Santa Cruz a Wolf. Celková prevalence kokcidií činila 19,9 % (29/146).

Prevalence mezi jednotlivými druhy ptáků a mezi jednotlivými ostrovy nelze zcela dobře porovnat, jelikož počty vzorků jednotlivých porovnávaných skupin byly značně rozdílné, a tak i jejich prevalence, které v tomto případě nelze považovat za odpovídající realitě.

Většina vzorků obsahovala nevysporulované oocysty. U vysporulovaných oocyst morfologické vyšetření prokázalo, že se jedná o kokcidie rodu *Eimeria*, *Isospora* a *Adelina*. Morfologické znaky ukázaly, že v rámci rodu *Isospora* půjde o více rozdílných druhů.

Z kokcidia-pozitivních vzorků se podařilo získat celkem 22 sekvencí pro gen COI, 6 sekvencí pro gen COIII, 1 sekvenci pro gen 18S rRNA a 1 sekvenci pro gen ORF 470.

Výsledky fylogenetických analýz všech genů si byly vzájemně odpovídající. Kokcidie ze vzorku DOV W5 pocházejícího z hrdličky byly zařazeny nejbližší *E. dispersa*, půjde tedy o jeden druh pravděpodobně doposud nepopsané kokcidie rodu *Eimeria*. Sekvence isospor byly rozřazeny do několika různých skupin/linií. Jejich přesnější určení nebylo možné, půjde nejspíše také o doposud nepopsané druhy. Většina osekvenovaných kokcidií vykazovala známky nižší hostitelské specifity - jednotlivé linie/druhy parazitovaly zároveň u různých druhů ptáků.

Na území Galapážských ostrovů představuje tato práce pilotní studii, a molekulární data kokcidií z tohoto území zcela chybí. Pro detailnější a zásadní závěry by bylo zapotřebí provést sampling o větších počtech jedinců a u více druhů ptáků na různých ostrovech, včetně vodních ptáků.

7. Použitá literatura

Adl SM, Bass D, Lane CE, Lukeš J, Schoch CL, Smirnov A, Agatha S, Berney C, Brown MW, Burki F, Cárdenas P, Čepička I, Chistyakova L, Del Campo J, Dunthorn M, Edwardsen B, Eglit Y, Guillou L, Hampl V, Heiss AA, Hoppenrath M, James TY, Karnkowska A, Karpov S, Kim E, Kolisko M, Kudryavtsev A, Lahr DJG, Lara E, Le Gall L, Lynn DH, Mann DG, Massana R, Mitchell EAD, Morrow C, Park JS, Pawlowski JW, Powell MJ, Richter DJ, Rueckert S, Shadwick L, Shimano S, Spiegel FW, Torruella G, Youssef N, Zlatogursky V, Zhang Q (2019) Revisions to the classification, nomenclature, and diversity of Eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 66: 4-119.

Adl SM, Simpson AG, Lane CHE, Lukeš J, Bass D, Bowser SS, Brown MW, Burki F, Dunthorn M, Hampl V, Heiss A, Hoppenrath M, Lara E, Gall LL, Lynn DH, McManus H, Mitchell EAD, Mozley-Stanridge SE, Parfrey LW, Pawlowski J, Rueckert S, Shadwick L, Schoch CL, Smirnov A, Spiegel FW (2012) The revised classification of Eukaryotes. *Journal of Eukaryotic Microbiology* 59: 429-493.

Arbogast BS, Drovetski SV, Curry RL, Boag PT, Seutin G, Grant PR, Grant BR, Anderson DJ (2006) The origin and diversification of Galapagos mockingbirds. *Evolution* 60(2): 370-82.

Ball SJ, Lewis DC (1984) *Eimeria* (Protozoa: Coccidia) in wild populations of some British rodents. *Journal of Zoology* 202: 373-381.

Barta JR, Schrenzel MD, Carreno R, Rideout BA (2005) The genus *Atoxoplasma* (Garnham 1950) as a junior objective synonym of the genus *Isospora* (Schneider 1881) species infecting birds and resurrection of *Cystoisospora* (Frenkel 1977) as the correct genus for *Isospora* species infecting mammals. *Journal of Parasitology* 91: 726-727.

Belloq JG, Morand S, Feliu C (2002) Patterns of parasite species richness of Western Palaearctic micro-mammals: island effects. *Ecography* 25: 173-183.

Berto BP, Flausino W, McIntosh D, Teixeira-Filho WL, Lopes CW (2011) Coccidia of New World passerine birds (Aves: Passeriformes): a review of *Eimeria* Schneider, 1875 and *Isospora* Schneider, 1881 (Apicomplexa: Eimeriidae). *Systematic Parasitology* 80:159-204.

Berto BP, McIntosh D, Lopes CWG (2014) Studies on coccidian oocysts (Apicomplexa: Eucoccidiorida). *Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria* 23: 1-15.

BirdLife International (2020) *Zenaida galapagoensis*. The IUCN Red List of Threatened Species.

Box ED (1977) Life cycles of two *Isospora* species in the canary, *Serinus canarius* Linnaeus. *The Journal of Protozoology* 24: 57-67.

Brawner WR, Hill GE (1999) Temporal variation in shedding of coccidial oocysts: implications for sexual-selection studies. *Canadian Journal of Zoology* 77: 347-350.

Coelho CD, Berto BP, Neves DM, Oliviera VM, Flausino W, Lopes CWG (2011) *Iospora mimusi* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the Tropical Mockingbird *Mimus gilvus* in South America. *Acta protozoologica* 50: 137-140.

Couch L, Stone PA, Duszynski DW, Snell HL, Snell HM (1996) A survey of the coccidian parasites of reptiles from islands of the Galápagos Archipelago: 1990-1994. *Journal of Parasitology* 82: 432-437.

Dolnik OV, Dolnik VR, Bairlein F (2010) The effect of host foraging ecology on the prevalence and intensity of coccidian infection in wild passerine birds. *Ardea* 98: 97-103.

Duszynski DW, Upton SJ (2001) *Cyclospora*, *Eimeria*, *Isospora*, and *Cryptosporidium* spp. In: Samuel WM, Pybus MJ, Kocan AA (Eds.): *Parasitic Diseases of Wild Mammals*, 2nd Edition. Iowa State Press, Iowa City, pp. 416-433.

Fallon SM, Bermingham E, Ricklefs RE (2003) Island and taxon effects in parasitism revisited: avian malaria in the Lesser Antilles. *Evolution* 57: 606-615.

Franzen C, Müller A, Bialek R, Diehl V, Salzberger B, Fätkenheuer G (2000) Taxonomic position of the human intestinal protozoan parasite *Isospora belli* as based on ribosomal RNA sequences. *Parasitology Research* 86: 669-676.

Frenkel JK (1977) *Besnoitia wallacei* of cats and rodents: with a reclassification of other cyst-forming isosporoid coccidia. *Journal of Parasitology* 63: 611-628.

Gardner SL, Duszynski DW (1990) Polymorphism of eimerian oocysts can be a problem in naturally infected hosts: an example from subterranean rodents in Bolivia. *Journal of Parasitology* 76: 805-811.

Ghimire T (2010) Redescription of genera of family Eimeriidae Minchin, 1903. *International Journal of Life Sciences* 4 10.3126/ijls.v4i0.3285.

Gill H, Paperna I (2008) Proliferative visceral *Isospora* (*Atoxoplasma*) with morbid impact on the Israeli sparrow *Passer domesticus biblicus* Hartert, 1904. *Parasitology Research* 103: 493.

Gingrich EN, Scorza AV, Clifford EL, Olea-Popelka FJ, Lappin MR (2010) Intestinal parasites of dogs on the Galapagos Islands. *Veterinary Parasitology* 169: 404-407.

Gordis L (2014) *Epidemiology*. 5th Edition. Saunders, Elsevier Inc., Philadelphia, USA.

Guindon S, Gascuel O (2003) A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology* 52: 696-704.

Hall TA (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95-98.

Harpp KS, Geist DJ (2021) The Galápagos Islands. In: Alderton D, Elias SA (Eds.): *Encyclopedia of Geology*, 2nd Edition. Academic Press, pp. 659-673.

Hoeck PE, Bollmer JL, Parker PG, Keller LF (2010) Differentiation with drift: a spatio-temporal genetic analysis of Galapagos mockingbird populations (*Mimus* spp.). *Philosophical Transactions of the Royal Society of London. Series B, Biological Sciences*, 365: 1127-1138.

Huelsenbeck JP, Ronquist F (2001) MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 754-755.

Jarquín-Díaz VH, Balard A, Mácová A, Jost J, Roth von Szepesbela T, Berktold K, Tank S, Kvičerová J, Heitlinger E (2020) Generalist *Eimeria* species in rodents: multilocus analyses indicate inadequate resolution of established markers. *Ecology and Evolution* 10: 1378-1389.

Jiménez-Uzcátegui G, Carrion V, Zabala-Albizua J, Buitrón P, Milstead B (2008) Status of introduced vertebrates in Galapagos. *Galapagos Report 2006-2007*. pp. 136-141.

Kamiš J (2019) Fylogenetické vztahy kokcií parazitujících u myšice temnopásé (*Apodemus agrarius*) na základě sekvencí COX 3 genu. Bakalářská práce. Přírodovědecká fakulta JU, České Budějovice. 63 pp.

Katris NJ, van Dooren GG, McMillan PJ, Hanssen E, Tilley L, Waller RF (2014) The apical complex provides a regulated gateway for secretion of invasion factors in *Toxoplasma*. *PLoS Pathogens* 10: e1004074.

Knight A, Ewen JG, Brekke P, Santure AW (2018) The evolutionary biology, ecology and epidemiology of coccidia of passerine birds. *Advances in Parasitology* 99: 35-60.

Kvičerová J, Hypša V (2013) Host-parasite incongruences in rodent *Eimeria* suggest significant role of adaptation rather than cophylogeny in maintenance of host specificity. *PLoS One* 8: e63601.

Kvičerová J, Mikeš V, Hypša V (2011) Third lineage of rodent eimerians: morphology, phylogeny and re-description of *Eimeria myoxi* (Apicomplexa: Eimeriidae) from *Eliomys quercinus* (Rodentia: Gliridae). *Parasitology* 138: 1217-1223.

Kvičerová J, Pakandl M, Hypša V (2008) Phylogenetic relationships among *Eimeria* spp. (Apicomplexa: Eimeriidae) infecting rabbits: evolutionary significance of biological and morphological features. *Parasitology* 135: 443-452.

Lamichhaney S, Berglund J, Almén MS, Maqbool K, Grabherr M, Martinez-Barrio A, Promerová M, Rubin CJ, Wang C, Zamani N, Grant BR, Grant PR, Webster MT, Andersson (2015) Evolution of Darwin's finches and their beaks revealed by genome sequencing. *Nature* 518: 371-375.

Lefort V, Longueville JE, Gascuel O (2017) SMS: Smart Model Selection in PhyML. *Molecular Biology and Evolution* 34: 2422-2424. Dostupné [online] z <http://www.atgc-montpellier.fr/phyml/> [cit. 2021-12-17].

Lindström KM, Dolnik O, Yabsley M, Hellgren O, O'Connor B, Pärn H, Foufopoulos J (2009) Feather mites and internal parasites in small ground finches (*Geospiza fuliginosa*, Emberizidae) from the Galapagos Islands (Equador). *Journal of Parasitology* 95: 39-45.

López G, Figuerola J, Soriguer R (2006) Time of day, age and feeding habits influence coccidian oocyst shedding in wild passerines. *International Journal for Parasitology* 37: 559-564.

Máková A, Hoblíková A, Hypša V, Stanko M, Martinů J, Kvičeroová J (2018) Mysteries of host switching: diversification and host specificity in rodent-coccidia associations. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 127: 179-189.

Martinaud G, Billaudelle M, Moreau J (2009) Circadian variation in shedding of the oocysts of *Isospora turdi* (Apicomplexa) in blackbirds (*Turdus merula*): an adaptive trait against desiccation and ultraviolet radiation. *International Journal for Parasitology* 39: 735-739.

Matsubara R, Fukuda Y, Murakoshi F, Nomura O, Suzuki T, Tada C, Nakai Y (2017) Detection and molecular status of *Isospora* sp. from the domestic pigeon (*Columba livia domestica*). *Parasitology International* 66(5): 588-592.

McQuiston TE (1990) *Isospora daphnensis* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the medium ground finch (*Geospiza fortis*) from the Galapagos Islands. *Journal of Parasitology* 76: 30-32.

McQuiston TE (1991) *Eimeria palumbi*, a new coccidian parasite (Apicomplexa: Eimeriidae) from the Galapagos Dove (*Zenaida galapagoensis*). Transactions of the American Microscopical Society 110: 178-181.

McQuiston TE, Wilson M (1988) Four new species of *Isospora* from the small tree finch (*Camarhynchus parvulus*) from the Galapagos Islands. Journal of Protozoology 35: 98-99.

Morrison DA, Bornstein S, Thebo P, Wernery U, Kinne J, Mattsson JG (2004) The current status of the small subunit rRNA phylogeny of the coccidia (Sporozoa). International Journal for Parasitology 34: 501-514.

Ogedengbe ME, El-Sherry S, Ogedengbe JD, Chapman HD, Barta JR (2018) Phylogenies based on combined mitochondrial and nuclear sequences conflict with morphologically defined genera in the eimeriid coccidia (Apicomplexa). Journal of Parasitology 48: 59-69.

Oliveira PS, Ferreira MA, Silva LMD, Rodrigues MB, Cardozo SV, Berto BP (2017) Diversity and distribution of coccidia of wild birds in an Atlantic forest fragment area in southeastern Brazil. Revista Brasileira de Parasitologia Veterinaria 26: 457-464.

Ortúzar-Ferreira CN, Oliveira MS, Genovez-Oliveira JL, Franco HA, Thode-Filho S, Cardozo SV, Oliveira ÁA, Lima VM, Ferreira I, Berto BP (2020) Coccidia of Columbiformes: a taxonomic review of its Eimeriidae species and *Eimeria columbinae* n. sp. from *Columbina talpacoti* (Temminck, 1809) from Brazil. Parasitology Research 119: 267-281.

Page RDM (1996) TREEVIEW: an application to display phylogenetic trees on personal computers. Computer Applications in the Biosciences 12: 357-358.

Palacios DM (2003) Oceanographic conditions around the Galápagos Archipelago and their influence on cetacean community structure.

Parker BB, Duszynski DW (1986) Polymorphism of eimerian oocysts: a dilemma posed by working with some naturally infected hosts. Journal of Parasitology 72: 602-604.

Phillips R, Wiedenfeld D, Snell H (2012) Current status of alien vertebrates in the Galápagos Islands: Invasion history, distribution, and potential impacts. *Biological Invasions* 14: 461-480.

Pieniazek NJ, Herwaldt BL (1997) Reevaluating the molecular taxonomy: is human-associated *Cyclospora* a mammalian *Eimeria* species? *Emerging Infectious Diseases* 3: 381-383.

Poulin R, Morand S (2000) The diversity of parasites. *The Quarterly Review of Biology* 75: 277-293.

Power ML, Richter C, Emery S, Hufschmid J, Gillings MR (2009) *Eimeria trichosuri*: phylogenetic position of a marsupial coccidium, based on 18S rDNA sequences. *Experimental Parasitology* 122: 165-168.

Relman DA, Schmidt TM, Gajadhar A, Sogin M, Cross J, Yoder K, Sethabutr O, Echeverria P (1996) Molecular phylogenetic analysis of *Cyclospora*, the human intestinal pathogen, suggests that it is closely related to *Eimeria* species. *The Journal of Infectious Diseases* 173: 440-445.

Salgado-Miranda C, Medina JP, Sánchez-Jasso JM, García-Albarrán M, Soriano-Vargas E (2019) *Isospora toxostomai* n. sp. (Apicomplexa: Eimeriidae) from the curved-billed thrasher *Toxostoma curvirostre* (Swainson) (Passeriformes: Mimidae) at the Central highlands of Mexico. *Systematic Parasitology* 96: 789-793.

Santiago-Alarcon D, Tanksley SM, Parker PG (2006) Morphological variation and genetic structure of Galapagos Dove (*Zenaida galapagoensis*) populations: issues in conservation for Galapagos bird fauna. *The Wilson Journal of Ornithology* 118: 194-207.

Sevillano G, Tapia W, Loyola A, Reyna-Bello A, Proaño-Pérez F (2019) Molecular characterization of *Eimeria* sp. from Galápagos giant tortoises (*Chelonoidis* spp.). *Parasitology Research* 118: 3443-3447.

Swash A, Still R (2005) *Birds, Mammals and Reptiles of the Galápagos Islands*, 2nd Edition. Yale University Press, pp. 17-109.

Štefka J, Hoeck PE, Keller LF, Smith VS (2011) A hitchhikers guide to the Galápagos: co-phylogeography of Galápagos mockingbirds and their parasites. *BMC Evolutionary Biology* 3;11: 284.

Tang K, Guo Y, Zhang L, Rowe LA, Roelling DM, Frace MA, Li N, Liu S, Feng Y, Xiao L (2015) Genetic similarities between *Cyclospora cayetanensis* and cecum-infecting avian *Eimeria* spp. in apicoplast and mitochondrial genomes. *Parasites and Vectors* 8: 358.

Tenter AM, Barta JR, Beveridge I, Duszynski DW, Mehlhorn H, Morrison DA, Thompson RC, Conrad PA (2002) The conceptual basis for a new classification of the Coccidia. *International Journal for Parasitology* 32: 595-616.

Thienpont D, Rochette F, Vanparijs OFJ (1979) Diagnosing Helminthiasis Through Coprological Examination. Janssen Research Foundation, Beerse, Belgium.

Trefancová A, Kvičerová J (2019) *Isospora svecica* sp. n. (Apicomplexa: Eimeriidae), a new species of coccidium from the white-spotted bluethroat *Luscinia svecica cyaneacula* (Aves: Passeriformes: Muscicapidae). *Parasitology Research* 118: 3043-3051.

Trefancová A, Kvičerová J, Mácová A, Stanko M, Hofmannová L, Hypša V (2021) Switch, disperse, repeat: host specificity is highly flexible in rodent-associated *Eimeria*. *International Journal for Parasitology*: S0020-7519(21)00195-8.

Trefancová A, Mácová A, Kvičerová J (2019) Isosporan oocysts in the faeces of bank voles (*Myodes glareolus*; Arvicolinae, Rodentia): real parasites, or pseudoparasites? *Protist* 170: 104-120.

Varghese T (1878) *Isospora gallicolumbae* sp. n. from Beccari's ground dove (*Gallicolumba beccarii Salvadori*) in Papua New Guinea. *The Journal of Protozoology* 25: 425-426.

Walden H, Grijalva CJ, Paez-Rosas D, Hernandez J (2018) Intestinal parasites in Galapagos sea lions (*Zalophus wolfebaeki*) Sivertsen, 1953 on San Cristóbal Island, Galápagos, Ecuador. *Journal of Parasitology* 104: 718-721.

Whitehead ABR, Butcher GD, Walden HS, Duque V, Cruz M, Hernandez JA (2018) Burden of exposure to infectious bursal disease virus, infectious bronchitis virus, Newcastle disease virus, *Mycoplasma gallisepticum*, and intestinal parasites in introduced broiler chickens on the Galapagos. PLoS One 13: e0203658.

Zajac AM, Conboy GA (2006) Veterinary Clinical Parasitology. 7th edition. Blackwell Publishing, Iowa, USA.

Zhao X, Duszynski DW (2001) Phylogenetic relationships among rodent *Eimeria* species determined by plastid ORF470 and nuclear 18S rDNA sequences. International Journal for Parasitology 31: 715-719.

Zinke A, Schnebel B, Dierschke V, Ryll M (2004) Prevalence and intensity of excretion of coccidial oocyst in migrating passerine on Helgoland. Journal of Ornithology 145: 74-78.

8. Internetové zdroje

ATGC Montpellier Bioinformatics Platform [online]. SMS: Smart model selection in PhyML. [cit. 29.10.2021]. Dostupné z <http://www.atgc-montpellier.fr/sms/>.

Birds of the world [online]. © Cornell University 2021 [cit. 21.10.2021]. Dostupné z <https://birdsoftheworld.org/bow/species/lagfin1/cur/introduction>.

Darwin foundation. Galapagos Species Checklist [online]. © Charles Darwin Foundation 2020 [cit. 21.10.2021]. Dostupné z <https://www.darwinfoundation.org/en/datazone/checklist?species=5118#reference>.

Galapagos. The Islands [online]. © Galapagos Conservancy 2021 [cit. 28.10.2021]. Dostupné z https://www.galapagos.org/about_galapagos/about-galapagos/the-islands/.

National Center for Biotechnology Information [online]. [cit. 10.11.2021]. Dostupné z <https://www.ncbi.nlm.nih.gov>.

National Center for Biotechnology Information [online]. BLAST. [cit. 5.11.2021]. Dostupné z https://blast.ncbi.nlm.nih.gov/Blast.cgi?PROGRAM=blastn&PAGE_TYPE=BlastSearch&LINK_LOC=blasthome.

UNESCO. Galápagos Island [online]. © UNESCO World Heritage Centre 1992-2021 [cit. 21.11.2021]. Dostupné z <https://whc.unesco.org/en/list/1/>.

9. Přílohy

Příloha 1 Souhrnná tabulka všech vzorků vyšetřených v rámci této práce.

Originální kód vzorku	Hostitel	Ostrov	Datum odchyty	Čas odchyty	Koprologické vyšetření	Morfometrie	Foto	Sekvence
CER G1	<i>Certhidea fusca</i>	Genovesa	19.05.2014	8:30	Negativní	-	-	-
CER G2	<i>Certhidea fusca</i>	Genovesa	19.05.2014	8:40	Negativní	-	-	-
CER G3	<i>Certhidea fusca</i>	Genovesa	19.05.2014	-	Negativní	-	-	-
CER G4	<i>Certhidea fusca</i>	Genovesa	21.05.2014	10:30	Negativní	-	-	-
CER P2	<i>Certhidea fusca</i>	Pinta	10.05.2014	-	Negativní	-	-	-
DIF 1	<i>Geospiza difficilis</i>	Darwin	22.04.2014	8:00	Negativní	-	-	-
DIF 12	<i>Geospiza difficilis</i>	Darwin	23.04.2014	7:20	Negativní	-	-	-
DIF 13	<i>Geospiza difficilis</i>	Darwin	23.04.2014	7:25	Negativní	-	-	-
DIF 14	<i>Geospiza difficilis</i>	Darwin	23.04.2014	7:50	Negativní	-	-	-
DIF 16	<i>Geospiza difficilis</i>	Darwin	23.04.2014	10:10	Negativní	-	-	-
DIF 18	<i>Geospiza difficilis</i>	Darwin	23.04.2014	11:40	Negativní	-	-	-
DIF 6	<i>Geospiza difficilis</i>	Darwin	22.04.2014	9:45	Negativní	-	-	-
DIF 8	<i>Geospiza difficilis</i>	Darwin	22.04.2014	10:17	Negativní	-	-	-
DIF 9	<i>Geospiza difficilis</i>	Darwin	22.04.2014	10:50	Negativní	-	-	-
DIF G1	<i>Geospiza difficilis</i>	Genovesa	18.05.2014	11:00	Coccidia 1ks	-	-	Vyschlý vzorek
DIF G2	<i>Geospiza difficilis</i>	Genovesa	21.05.2014	12:30	Negativní	-	-	-
DIF P1	<i>Geospiza difficilis</i>	Pinta	09.05.2014	7:50	Negativní	-	-	-
DIF P2	<i>Geospiza difficilis</i>	Pinta	09.05.2014	10:15	Negativní	-	-	-
DIF P3	<i>Geospiza difficilis</i>	Pinta	10.05.2014	9:30	Negativní	-	-	-
DIF P4	<i>Geospiza difficilis</i>	Pinta	10.05.2014	9:40	Negativní	-	-	-
DIF P5	<i>Geospiza difficilis</i>	Pinta	11.05.2014	17:55	Coccidia +	-	-	COI
DIF W10	<i>Geospiza difficilis</i>	Wolf	24.04.2014	-	Coccidia +	-	-	COI
DIF W11	<i>Geospiza difficilis</i>	Wolf	24.04.2014	-	Coccidia +	-	-	-
DIF W13	<i>Geospiza difficilis</i>	Wolf	25.04.2014	16:15	Coccidia +	-	-	-
DIF W16	<i>Geospiza difficilis</i>	Wolf	25.04.2014	16:32	Coccidia +	-	-	COI, COIII
DIF W17	<i>Geospiza difficilis</i>	Wolf	25.04.2014	16:43	Negativní	-	-	-
DIF W20	<i>Geospiza difficilis</i>	Wolf	28.04.2014	9:00	Negativní	-	-	-
DOV 4	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Darwin	23.04.2014	15:45	Negativní	-	-	-
DOV D11	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Darwin	01.05.2014	9:30	Negativní	-	-	-
DOV D12	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Darwin	01.05.2014	9:45	Negativní	-	-	-
DOV D13	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Darwin	01.05.2014	10:00	Negativní	-	-	-
DOV D14	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Darwin	01.05.2014	12:00	Negativní	-	-	-
DOV D16	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Darwin	01.05.2014	-	Negativní	-	-	-
DOV G2	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Genovesa	21.05.2014	9:00	Negativní	-	-	-
DOV G5	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Genovesa	22.05.2014	9:30	Negativní	-	-	-

DOV G6	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Genovesa	22.05.2014	9:30	Negativní	-	-	-
DOV G7	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Genovesa	22.05.2014	9:50	Negativní	-	-	-
DOV G9	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Genovesa	23.05.2014	10:00	Negativní	-	-	-
DOV P1	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Pinta	07.05.2014	16:50	Negativní	-	-	-
DOV P10	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Pinta	08.05.2014	12:20	Negativní	-	-	-
DOV P11	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Pinta	08.05.2014	16:15	Negativní	-	-	-
DOV P12	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Pinta	09.05.2014	8:40	Negativní	-	-	-
DOV P14	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Pinta	10.05.2014	-	Negativní	-	-	-
DOV P15	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Pinta	10.05.2014	-	Coccidia 1ks	-	-	-
DOV P16	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Pinta	10.05.2014	-	<i>Isospora</i> ++	Ano	Ano	COI, COIII
DOV P17	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Pinta	10.05.2014	-	Negativní	-	-	-
DOV P19	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Pinta	11.05.2014	17:40	Negativní	-	-	-
DOV P4	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Pinta	07.05.2014	17:50	<i>Eimeria</i> +	Ano	Ano	-
DOV P6	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Pinta	07.05.2014	18:20	Negativní	-	-	-
DOV P7	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Pinta	07.05.2014	18:30	Negativní	-	-	-
DOV P8	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Pinta	08.05.2014	10:20	Negativní	-	-	-
DOV P9	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Pinta	08.05.2014	11:40	Negativní	-	-	-
DOV W13	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Wolf	28.04.2014	9:50	Negativní	-	-	-
DOV W14	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Wolf	28.04.2014	10:00	Negativní	-	-	-
DOV W15	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Wolf	28.04.2014	10:10	Negativní	-	-	-
DOV W2	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Wolf	25.04.2014	8:40	Negativní	-	-	-
DOV W5	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Wolf	26.04.2015	10:00	Coccidia 1ks	-	-	COI, COIII, 18S rRNA, ORF 470
DOV W6	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Wolf	26.04.2016	10:10	Coccidia +	-	-	-
DOV W7	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Wolf	26.04.2017	10:20	Negativní	-	-	-
DOV W8	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Wolf	26.04.2018	10:30	Negativní	-	-	-
FOR P3	<i>Geospiza fortis</i>	Pinta	07.05.2014	-	Negativní	-	-	-
FOR P4	<i>Geospiza fortis</i>	Pinta	07.05.2014	-	Negativní	-	-	-
FOR P5	<i>Geospiza fortis</i>	Pinta	07.05.2014	-	Negativní	-	-	-
FOR P6	<i>Geospiza fortis</i>	Pinta	09.05.2014	8:20	Negativní	-	-	-
FOR P7	<i>Geospiza fortis</i>	Pinta	09.05.2014	17:15	<i>Isospora</i> +	Ano	Ano	COI, COIII
FOR P8	<i>Geospiza fortis</i>	Pinta	10.05.2014	9:20	Negativní	-	-	-
FOR X2	<i>Geospiza fortis</i>	Santa Cruz	05.05.2014	12:00	Negativní	-	-	-
FUL P10	<i>Geospiza fuliginosa</i>	Pinta	10.05.2014	9:10	Negativní	-	-	-
FUL P3	<i>Geospiza fuliginosa</i>	Pinta	07.05.2014	-	<i>Isospora</i> +	Ano	Ano	COI
FUL P4	<i>Geospiza fuliginosa</i>	Pinta	07.05.2014	11:15	Negativní	-	-	-
FUL P5	<i>Geospiza fuliginosa</i>	Pinta	08.05.2014	8:04	Negativní	-	-	-
FUL P6	<i>Geospiza fuliginosa</i>	Pinta	08.05.2014	12:12	Negativní	-	-	-
FUL P7	<i>Geospiza fuliginosa</i>	Pinta	08.05.2014	12:31	Negativní	-	-	-
FUL P8	<i>Geospiza fuliginosa</i>	Pinta	09.05.2014	8:00	Negativní	-	-	-
FUL P9	<i>Geospiza fuliginosa</i>	Pinta	09.05.2014	17:40	Negativní	-	-	-
MAG G1	<i>Geospiza magnirostris</i>	Genovesa	19.05.2014	8:20	Negativní	-	-	-
MAG G2	<i>Geospiza magnirostris</i>	Genovesa	21.05.2014	9:15	Negativní	-	-	-
MAG G3	<i>Geospiza magnirostris</i>	Genovesa	19.05.2014	-	Negativní	-	-	-

MAG G4	<i>Geospiza magnirostris</i>	Genovesa	21.05.2014	11:00	Negativní	-	-	-
MAG G5	<i>Geospiza magnirostris</i>	Genovesa	21.05.2014	12:10	Negativní	-	-	-
MAG P1	<i>Geospiza magnirostris</i>	Pinta	09.05.2014	8:10	Negativní	-	-	-
MAG P2	<i>Geospiza magnirostris</i>	Pinta	09.05.2014	-	Negativní	-	-	-
MAG P3	<i>Geospiza magnirostris</i>	Pinta	09.05.2014	-	Negativní	-	-	-
MAG P4	<i>Geospiza magnirostris</i>	Pinta	09.05.2014	-	Coccidia ++	-	-	COI
MAG W3	<i>Geospiza magnirostris</i>	Wolf	27.04.2014	8:30	Negativní	-	-	-
MAG W4	<i>Geospiza magnirostris</i>	Wolf	27.04.2014	8:45	Negativní	-	-	-
MAG W5	<i>Geospiza magnirostris</i>	Wolf	27.04.2014	15:00	Negativní	-	-	-
MAG W6	<i>Geospiza magnirostris</i>	Wolf	28.04.2014	8:05	Negativní	-	-	-
MAG W7	<i>Geospiza magnirostris</i>	Wolf	28.04.2014	8:30	Negativní	-	-	-
MAG W9	<i>Geospiza magnirostris</i>	Wolf	28.04.2014	11:00	Negativní	-	-	-
MOC 1	<i>Mimus parvulus</i>	Darwin	21.04.2014	16:50	Negativní	-	-	-
MOC 2	<i>Mimus parvulus</i>	Darwin	22.04.2014	16:45	Coccidia ++	Ano	Ano	COI COIII
MOC 21	<i>Mimus parvulus</i>	Pinta	09.05.2014	-	Negativní	-	-	-
MOC 4	<i>Mimus parvulus</i>	Darwin	23.04.2014	9:30	Negativní	-	-	-
MOC 5	<i>Mimus parvulus</i>	Darwin	23.04.2014	10:30	Negativní	-	-	-
MOC D10	<i>Mimus parvulus</i>	Darwin	01.05.2014	8:30	Negativní	-	-	-
MOC D11	<i>Mimus parvulus</i>	Darwin	01.05.2014	9:00	Negativní	-	-	-
MOC D12	<i>Mimus parvulus</i>	Darwin	01.05.2014	10:30	Negativní	-	-	-
MOC D14	<i>Mimus parvulus</i>	Darwin	01.05.2014	-	Negativní	-	-	-
MOC D15	<i>Mimus parvulus</i>	Darwin	01.05.2014	-	<i>Isospora</i> 1 ks	-	-	Vyschlý vzorek
MOC G1	<i>Mimus parvulus</i>	Genovesa	17.05.2014	15:00	Coccidia ++	-	-	COI
MOC G14	<i>Mimus parvulus</i>	Genovesa	20.05.2014	-	Negativní	-	-	-
MOC G15	<i>Mimus parvulus</i>	Genovesa	20.05.2014	10:20	Negativní	-	-	-
MOC G18	<i>Mimus parvulus</i>	Genovesa	20.05.2014	-	Negativní	-	-	-
MOC G2	<i>Mimus parvulus</i>	Genovesa	17.05.2014	15:30	Negativní	-	-	-
MOC G21	<i>Mimus parvulus</i>	Genovesa	20.05.2014	15:55	Negativní	-	-	-
MOC G22	<i>Mimus parvulus</i>	Genovesa	20.05.2014	15:55	<i>Isospora</i> +	Ano	Ano	COI
MOC G23	<i>Mimus parvulus</i>	Genovesa	20.05.2014	16:15	<i>Isospora</i> ++	Ano	Ano	COI
MOC G24	<i>Mimus parvulus</i>	Genovesa	20.05.2014	16:30	Negativní	-	-	-
MOC G3	<i>Mimus parvulus</i>	Genovesa	17.05.2014	15:50	<i>Isospora</i> ++	Ano	Ano	COI
MOC G5	<i>Mimus parvulus</i>	Genovesa	17.05.2014	17:30	Negativní	-	-	-
MOC G6	<i>Mimus parvulus</i>	Genovesa	17.05.2014	17:44	Negativní	-	-	-
MOC P11	<i>Mimus parvulus</i>	Pinta	07.05.2014	18:10	Negativní	-	-	-
MOC P12	<i>Mimus parvulus</i>	Pinta	08.05.2014	7:50	Negativní	-	-	-
MOC P13	<i>Mimus parvulus</i>	Pinta	08.05.2014	8:15	Negativní	-	-	-
MOC P14	<i>Mimus parvulus</i>	Pinta	08.05.2014	10:10	Negativní	-	-	-
MOC P15	<i>Mimus parvulus</i>	Pinta	08.05.2014	-	Negativní	-	-	-
MOC P16	<i>Mimus parvulus</i>	Pinta	08.05.2014	11:30	Negativní	-	-	-
MOC P17	<i>Mimus parvulus</i>	Pinta	08.05.2014	16:00	<i>Isospora</i> +	Ano	Ano	COI
MOC P19	<i>Mimus parvulus</i>	Pinta	08.05.2014	17:30	Negativní	-	-	-
MOC P20	<i>Mimus parvulus</i>	Pinta	08.05.2014	17:50	Negativní	-	-	-
MOC P22	<i>Mimus parvulus</i>	Pinta	09.05.2014	-	Negativní	-	-	-
MOC P3	<i>Mimus parvulus</i>	Pinta	07.05.2014	-	Negativní	-	-	-
MOC P5	<i>Mimus parvulus</i>	Pinta	07.05.2014	10:50	Negativní	-	-	-

MOC P7	<i>Mimus parvulus</i>	Pinta	07.05.2014	12:07	Negativní	-	-	-
MOC P8	<i>Mimus parvulus</i>	Pinta	07.05.2014	14:55	<i>Isospora</i> +++	Ano	Ano	COI
MOC W1	<i>Mimus parvulus</i>	Wolf	24.04.2014	-	Negativní	-	-	-
MOC W10	<i>Mimus parvulus</i>	Wolf	26.04.2023	15:45	<i>Coccidia</i> +++ <i>Adelina</i> +	Ano Ano	Ano Ano	COI, COIII
MOC W13	<i>Mimus parvulus</i>	Wolf	27.04.2014	8:55	Negativní	-	-	-
MOC W14	<i>Mimus parvulus</i>	Wolf	27.04.2014	9:15	<i>Coccidia</i> ++ <i>Adelina</i> ++	- Ano	- Ano	-
MOC W16	<i>Mimus parvulus</i>	Wolf	27.04.2014	11:15	Negativní	-	-	-
MOC W2	<i>Mimus parvulus</i>	Wolf	24.04.2014	-	<i>Coccidia</i> ++	-	-	COI
MOC W20	<i>Mimus parvulus</i>	Wolf	27.04.2014	15:30	Negativní	-	-	-
MOC W21	<i>Mimus parvulus</i>	Wolf	27.04.2014	16:00	<i>Coccidia</i> +	-	-	Vyschlý vzorek
MOC W22	<i>Mimus parvulus</i>	Wolf	27.04.2014	16:10	<i>Coccidia</i> +	-	-	COI
MOC W24	<i>Mimus parvulus</i>	Wolf	27.04.2014	9:00	Negativní	-	-	-
MOC W4	<i>Mimus parvulus</i>	Wolf	25.04.2014	9:40	Negativní	-	-	-
MOC W6	<i>Mimus parvulus</i>	Wolf	26.04.2019	10:40	Negativní	-	-	-
MOC W9	<i>Mimus parvulus</i>	Wolf	26.04.2022	15:28	<i>Coccidia</i> ++ <i>Adelina</i> ++	- Ano	- Ano	COI
MOC X2	<i>Mimus parvulus</i>	Santa Cruz	05.05.2014	9:10	Negativní	-	-	-
MOC X5	<i>Mimus parvulus</i>	Santa Cruz	16.05.2014	9:30	Negativní	-	-	-
SCA G1	<i>Geospiza scandens</i>	Genovesa	19.05.2014	-	Negativní	-	-	-
SCA G2	<i>Geospiza scandens</i>	Genovesa	19.05.2014	-	Negativní	-	-	-
SCA P1	<i>Geospiza scandens</i>	Pinta	10.05.2014	-	Negativní	-	-	-
VEG P1	<i>Platypiza crassirostris</i>	Pinta	09.05.2014	-	<i>Coccidia</i> +	-	-	COI
VEG X1	<i>Platypiza crassirostris</i>	Santa Cruz	05.05.2014	12:30	Negativní	-	-	-

Příloha 2 Seznam sekvencí použitých pro analýzy jednotlivých genů v rámci této práce. Tučně jsou označeny mnou získané sekvence.

Název kokcidie/ vzorku	Hostitel	COI Accession No./ Získaná sekvence	COIII Accession No./ Získaná sekvence	18S rRNA Accession No./ Získaná sekvence	ORF 470 Accession No./ Získaná sekvence
FUL P3	<i>Geospiza fuliginosa</i>	Ano	-	-	-
FOR P7	<i>Geospiza fortis</i>	Ano	Ano	-	-
DIF P5	<i>Geospiza difficilis</i>	Ano	-	-	-
DIF W10	<i>Geospiza difficilis</i>	Ano	-	-	-
DIF W13	<i>Geospiza difficilis</i>	Ano	-	-	-
DIF W16	<i>Geospiza difficilis</i>	Ano	Ano	-	-
DOV P16	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Ano	Ano	-	-
DOV W5	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Ano	Ano	Ano	Ano
DOV W6	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Ano	-	-	-
MAG P4	<i>Geospiza magnirostris</i>	Ano	-	-	-
MOC 2	<i>Mimus parvulus</i>	Ano	Ano	-	-
MOC 9	<i>Mimus parvulus</i>	Ano	-	-	-
MOC G1	<i>Mimus parvulus</i>	Ano	-	-	-
MOC G3	<i>Mimus parvulus</i>	Ano	-	-	-
MOC G22	<i>Mimus parvulus</i>	Ano	-	-	-
MOC G23	<i>Mimus parvulus</i>	Ano	-	-	-
MOC P8	<i>Mimus parvulus</i>	Ano	-	-	-
MOC P17	<i>Mimus parvulus</i>	Ano	-	-	-
MOC W2	<i>Mimus parvulus</i>	Ano	-	-	-
MOC W10	<i>Mimus parvulus</i>	Ano	Ano	-	-
MOC W22	<i>Mimus parvulus</i>	Ano	-	-	-
VEG P1	<i>Platyspiza crassirostris</i>	Ano	-	-	-
<i>Caryospora bigenetica</i>	<i>Crotalus horridus</i>	KP658102	KP658102	AF060975	-
<i>Cyclospora cayetanensis</i>	<i>Homo sapiens</i>	KP796149	KP796149	AF111183	-
<i>Eimeria acervulina</i>	<i>Gallus gallus domesticus</i>	FJ236428	KX094948	FJ236372	HQ173857
<i>Eimeria adenoeides</i>	<i>Meleagris gallopavo</i>	KJ608415	-	KC305185	-
<i>Eimeria ahsata</i>	<i>Ovis aries</i>	-	-	KT184334	-
<i>Eimeria alabamensis</i>	<i>Bos taurus</i>	KT184376	-	AB769556	-
<i>Eimeria albigulae</i>	<i>Neotoma cinerea</i>	-	-	-	AF311630
<i>Eimeria alorani</i>	<i>Apodemus agrarius</i>	KU215497	-	KU192970	MK631878
<i>Eimeria apionodes</i>	<i>Apodemus sylvaticus</i>	KU215451	-	KU174450	MK631884
<i>Eimeria bosquei</i>	<i>Grus nigricollis</i>	MF503491	-	MF503488	-
<i>Eimeria bovis</i>	<i>Bos taurus</i>	KT184372	-	KT184336	-
<i>Eimeria burdai</i>	<i>Heliophobius argenteocinereus</i>	JQ993709	-	JQ993666	JQ993682
<i>Eimeria caviae</i>	<i>Cavia porcellus</i>	-	-	-	JQ993672
<i>Eimeria cylindrica</i>	<i>Bos taurus</i>	KU351702	-	KU052237	-

<i>Eimeria dispersa</i>	<i>Meleagris gallopavo</i>	KJ608416	-	KT184338	-
<i>Eimeria exigua</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	JQ993691	-	HQ173829	JQ993673
<i>Eimeria falciformis</i>	<i>Mus musculus</i>	MH755317	KX495129	KT184339	MH755434
<i>Eimeria ferrisi</i>	<i>Mus musculus</i>	MH777558	-	KT360995	MH755448
<i>Eimeria flavescens</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	JQ993692	KP025693	HQ173830	JF304149
<i>Eimeria gallopavonis</i>	<i>Meleagris gallopavo</i>	HG793051	-	HG793042	-
<i>Eimeria gruis</i>	<i>Grus nigricollis</i>	MF503489	-	MF503484	-
<i>Eimeria hirci</i>	<i>Capra aegagrus hircus</i>	KX857469	-	KX845685	-
<i>Eimeria innocua</i>	<i>Meleagris gallopavo</i>	-	KR108296	HG793045	-
<i>Eimeria intestinalis</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	JQ993693	KP009592	HQ173831	JQ993674
<i>Eimeria irresidua</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	KP025690	KP025690	HQ173832	HQ173863
<i>Eimeria lancasterensis</i>	<i>Sciurus carolinensis</i>	-	-	KT360976	-
<i>Eimeria langebarteli</i>	<i>Reithrodontomys sp.</i>	-	-	-	AF311639
<i>Eimeria magna</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	KF419217	KF419217	HQ173833	HQ173864
<i>Eimeria maxima</i>	<i>Gallus gallus domesticus</i>	HQ702481	/	/	/
<i>Eimeria meleagridis</i>	<i>Meleagris gallopavo</i>	HG793047	/	/	/
<i>Eimeria meleagritidis</i>	<i>Meleagris gallopavo</i>	-	KJ608414	HG793043	/
<i>Eimeria myoxi</i>	<i>Eliomys quercinus</i>	-	/	JF304148	JF304151
<i>Eimeria nafuko</i>	<i>Heliophobius argenteocinereus</i>	-	/	JQ993665	/
<i>Eimeria nieschulzi</i>	<i>Rattus sp.</i>	-	/	/	AF311633
<i>Eimeria onychomysis</i>	<i>Onychomys sp.</i>	-	/	/	AF311634
<i>Eimeria papillata</i>	<i>Mus musculus</i>	-	/	KT184350	AF311635
<i>Eimeria percae</i>	<i>Perca fluviatilis</i>	-	/	GU479663	/
<i>Eimeria praecox</i>	<i>Gallus gallus</i>	JQ659301	KX094945	KT184351	HQ173871
<i>Eimeria ranae</i>	<i>Rana temporaria</i>	MH698563	/	EU717219	/
<i>Eimeria reedi</i>	<i>Perognathus sp.</i>	-	/	/	AF311636
<i>Eimeria reichenowi</i>	<i>Grus nigricollis</i>	MF503493	/	MF503485	/
<i>Eimeria rutili</i>	<i>Rutilus rutilus</i>	-	/	GU479667	/
<i>Eimeria sciurorum</i>	<i>Sciurus sp.</i>	-	/	MN650661	/
<i>Eimeria tamiasciuri</i>	<i>Tamiasciurus hudsonicus</i>	-	/	KT184353	/
<i>Eimeria tenella</i>	<i>Gallus gallus</i>	KX094951	KX094951	KT184354	HQ173873
<i>Eimeria subepithelialis</i>	<i>Cyprinus carpio</i>	-	/	GU479655	/
<i>Eimeria zuernii</i>	<i>Bos taurus</i>	KX495130	KX495130	KT184356	/
<i>Isospora albogularis</i>	<i>Gonatodes albogularis fuscus</i>	-	/	KU180243	/
<i>Isospora amphiboluri</i>	<i>Ctenophorus nuchalis</i>	MW720599	KR108297	KU180241	/
<i>Isospora butcheriae</i>	<i>Zosterops lateralis</i>	KY801687	/	KY801685	/
<i>Isospora coronoidae</i>	<i>Corvus coronoides</i>	MK867778	/	MK530653	/
<i>Isospora erithaci</i>	<i>Erithacus rubecula</i>	MK573837	/	MK559091	/
<i>Isospora gekkonis</i>	<i>Phelsuma madagascariensis grandis</i>	-	/	KU180246	/
<i>Isospora greineri</i>	<i>Lamprotornis superbus</i>	KR108298	KR108298	/	/
<i>Isospora gryphoni</i>	<i>Meleagris gallopavo</i>	KC346355	/	AF080613	/
<i>Isospora lugensae</i>	<i>Aphrodoroma brevirostris</i>	MW303519	MW303519	MW287753	/
<i>Isospora lunaris</i>	<i>Lonchura oryzivora</i>	-	-	MT237177	/
<i>Isospora manorinae</i>	<i>Manorina flavigula</i>	NC034000	NC034000	KT224379	/

<i>Isospora massardi</i>	<i>Turdus flavipes</i>	MN602627	-	MN604690	/
<i>Isospora mayuri</i>	<i>Bule peafowl</i>	-	-	MW775018	/
<i>Isospora neochmiai</i>	<i>Neochmia temporalis</i>	KT224378	-	KT224380	/
<i>Isospora phylidonyrisae</i>	<i>Phylidonyris novaehollandiae</i>	MW423631	-	MW422271	/
<i>Isospora robini</i>	<i>Turdus migratorius</i>	-	-	AF080612	/
<i>Isospora serinuse</i>	<i>Serinus canaria forma domestica</i>	KX276860	KX276860	KR477877	/
<i>Isospora streperae</i>	<i>Strepera versicolor plumbea</i>	-	-	KJ634021	-
<i>Isospora superbui</i>	<i>Lamprolornis superbus</i>	KT203396	KT203396	-	-
<i>Isospora svecica</i>	<i>Luscinia svecica cyanecula</i>	MK573841	MK573853	MK559092	-
<i>Isospora tarentolae</i>	<i>Tarentola delalandii</i>	-	-	KU180245	-
<i>Isospora wiegmanni</i>	<i>Trogonophis wiegmanni</i>	-	-	KU180242	-
<i>Isospora sp.</i>	<i>Apodemus flavicollis</i>	JQ993711	-	-	-
<i>Isospora sp.</i>	<i>Columba livia</i>	-	-	AB757863	-
<i>Isospora sp.</i>	<i>Emberiza citrinella</i>	MK573829	MK573844	MK559089	-
<i>Isospora sp.</i>	<i>Erithacus rubecula</i>	MK573838	MK573845	-	-
<i>Isospora sp.</i>	<i>Garrulax chinensis</i>	KT203397	KT203397	-	-
<i>Isospora sp.</i>	<i>Lamprolornis superbus</i>	KF648868	-	KF648870	-
<i>Isospora sp.</i>	<i>Microtus arvalis</i>	MH698552	MH698536	MH698573	-
<i>Isospora sp.</i>	<i>Myodes glareolus</i>	MH698556	MH698539	MH698574	-
<i>Isospora sp.</i>	<i>Parus major</i>	MK573833	MK573848	MK559088	-
<i>Isospora sp.</i>	<i>Phoenicurus ochruros</i>	MK573842	MK573854	-	-
<i>Isospora sp.</i>	<i>Plectrophenax nivalis</i>	MH698551	-	MK843789	-
<i>Isospora sp.</i>	<i>Plectrophenax nivalis</i>	-	-	MH698572	-
<i>Isospora sp.</i>	<i>Serinus canaria</i>	-	-	KT184357	-
<i>Isospora sp.</i>	<i>Sylvia conspicillata</i>	KP688306	-	-	-
<i>Isospora sp.</i>	<i>Talpa europaea</i>	MN184728	MN184734	JQ993669, JQ993670	JQ993685
<i>Isospora sp.</i>	<i>Troglodytes troglodytes</i>	MK573836	MK573851	MK559090	-
<i>Isospora sp.</i>	<i>Turdus merula</i>	MK573843	MK573850	-	-
<i>Isospora sp.</i>	<i>Turdus falklandii</i>	-	-	JX984668	-
<i>Isospora sp.</i>	<i>Turdus philomelos</i>	MK573832	MK573847	-	-
<i>Lankesterella sp.</i>	<i>Lithobates clamitans</i>	KT369005	KT369005	-	-

Příloha 3 Morfologické vlastnosti oocyst rodu *Isoospora* popsanych z pěvců čeledi drozdcovití (Mimidae) a blízce příbuzné čeledi špačkovitých (Sturnidae) (Salgado-Miranda *et al.* 2019).

		Oocysta						Sporocysta				
Druh	Hostitel	Tvar	Stěna	Průměrná velikost [μm]	Polární granulum	Residuum	Mikropyle	Tvar	Průměrná velikost [μm]	SB	sSB	Residuum
<i>Isoospora graculai</i> Upton <i>et al.</i> 1984	<i>Gracula religiosa</i>	Téměř kulovitý	1 vrstva	24,6 × 22,4 (20-28 × 20-24)	Ano, 1 - 2	-	-	Elipsoidní	17,7 × 11,6 (15-21 × 10-13)	Ano, malé	Ano, homogenní	Ano, kompaktní
<i>Isoospora mimusi</i> n. sp. Coelho <i>et al.</i> 2011	<i>Mimus gilvus</i>	Téměř kulovitý	2 vrstvy	20,6 × 19,6 (19-23 × 18-22)	Ne	Ne	Ne	Elipsoidní	13,4 × 9,8 (11-16 × 9-11)	Ano, zploštělé	Ano, výrazné, homogenní	Ano, rozptýlené
<i>Isoospora rotschildi</i> Upton <i>et al.</i> 2001	<i>Leucopsar rotschildi</i>	Téměř kulovitý	2 vrstvy	22,3 × 21,6 (20-26 × 19-23)	Ano, 1 a více	-	-	Elipsoidní	15,9 × 10,6 (15-18 × 9-11)	Ano	Ano	Ano, kompaktní
<i>Isoospora toxostomai</i> n. sp. Salgado-Miranda <i>et al.</i> 2019	<i>Toxostoma curvirostre</i>	Téměř kulovitý	2 vrstvy	23,4 × 22,3 (22-25 × 21-24)	Ano, mnoho fibril	Ne	Ne	Elipsoidní	15,8 × 10,5 (15-17 × 10-11)	Ano, knoflikovitý tvar	Ano, lichoběžníkovité	Ano, difuzní
MOC G3	<i>Mimus parvulus</i>	Kulovitý	2 vrstvy	21,9 × 20,2 (21-22 × 19-22)	Ne	Ne	Ne	Kulovitý	-	-	-	-
MOC G22	<i>Mimus parvulus</i>	Kulovitý	2 vrstvy	20,4 × 19,5 (19-20 × 9)	Ne	Ne	Ne	Vejičtý	10,7 × 9,1 (9-11 × 9-8)	Ano, malé	Ano	Ano, kompaktní
MOC G23	<i>Mimus parvulus</i>	Kulovitý	2 vrstvy	22,9 × 20,9 (21-23 × 19-22)	Ne	Ne	Ne	Vejičtý	12,8 × 9,6 (12-13 × 9)	Ano, kulovité	Ano	Ne
MOC P8	<i>Mimus parvulus</i>	Kulovitý	2 vrstvy	20,4 × 18,7 (19-2 × 17-20)	Ano, drobná	Ne	Ne	Elipsoidní	13,2 × 9,2 (13-15 × 8-10)	Ano, kulovité	Ano	Ne
MOC P17	<i>Mimus parvulus</i>	Kulovitý	2 vrstvy	20,0 × 17,4 (21-18 × 16-18)	Ne	Ne	Ne	Elipsoidní	12,3 × 8,5 (10-13 × 7-9)	Ano, malé	Ano	Ne

Příloha 4 Morfologické vlastnosti oocyst rodu *Isoospora* popsanych z ptáků řádu měkkozobí (Columbiformes) (Ortúzar-Ferreira *et al.* 2020, Varghese 1978, Matsubara *et al.* 2017).

		Oocysta						Sporocysta				
Druh	Hostitel	Tvar	Stěna	Průměrná velikost [μm]	Polární granulum	Residuum	Mikropyle	Tvar	Průměrná velikost [μm]	SB	sSB	Residuum
<i>Isoospora gallicolumbae</i> Varghese 1978	<i>Alopecoenas beccarii</i>	Elipsoidní	1 vrstva	20 × 16 (18-21 × 15-17)	Ano, 1 vejčitě	Ne	Ne	Vejičtý	12 × 8 (11-13 × 7-9)	Ano, výrazné, kónické	Ne	Ano, kompaktní
<i>Isoospora</i> sp. Matsubara <i>et al.</i> 2017	<i>Columba livia</i>	Téměř kulatý	1 vrstva	25,6 × 24,7 (24-27 × 23-26)	Ne	Ne	Ne	Vejičtý	19,5 × 11,2 (19-21 × 10-12)	Ano, bradavkovitý tvar	Ano	Ano, difuzní
DOV P16	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Oválný	2 vrstvy	24,7 × 21,9 (23-26 × 19-24)	Ano	Ne	Ne	Vejičtý	13,9 × 9,1 (10-16 × 8-9)	Ano, kulovité	Ne	Ano, malá granula ve vakuole

Příloha 5 Morfologické vlastnosti oocyst rodu *Isoospora* popsáných u pěnkavek (Traupidae) v Jižní Americe (Berto *et al.* 2011).

		Oocysta						Sporocysta				
Druh	Hostitel	Tvar	Stěna	Průměrná velikost [µm]	Polární granulum	Residuum	Mikropyle	Tvar	Průměrná velikost [µm]	SB	sSB	Residuum
<i>Isoospora daphnesis</i> McQuiston 1990	<i>Geospiza fortis</i>	Elipsoidní	2 vrstvy	27,3 × 23,6 (22-30 × 20-27)	Ano	Ne	Ne	Vejčítý	15,2 × 10,2 (15-16 × 9-11)	Ano, bradavkovitý tvar	Ano, malé	Ano, kompaktní
<i>Isoospora exigua</i> McQuiston & Willson 1988	<i>Camarhynchus parvulus</i>	Téměř kulatý	1 vrstva	20,4 × 20,1 (20-23 × 18-23)	Ne	Ne	Ne	Vejčítý	14 × 9,5 (13-15 × 8-10)	Ano, malé	Ano, malé	Ano, kompaktní
<i>Isoospora fragmenta</i> McQuiston & Willson 1988	<i>Camarhynchus parvulus</i>	Téměř kulatý	1 vrstva	25,3 × 24,2 (24-27 × 23-25)	Ano, 10-20	Ne	Ne	Hruškovitý	15,4 × 11,5 (14-17 × 11-12)	Ano, knoflíkovitý tvar	Ano, výrazné	Ano, kompaktní
<i>Isoospora geospizae</i> McQuiston & Willson 1988	<i>Geospiza fuliginosa</i>	Téměř kulatý	1 vrstva	15,5 × 14,5 (13-17 × 12-17)	Ano	Ne	Ne	Vejčítý	10 × 7,5 (10-12 × 6-9)	Ano, kulaté	Ano, malé	Ano, kompaktní
<i>Isoospora rotunda</i> McQuiston & Willson 1988	<i>Camarhynchus parvulus</i>	Téměř kulatý	1 vrstva	21,8 × 20,9 (20-24 × 19-23)	Ano	Ne	Ne	Vejčítý	15 × 9,7 (13-16 × 9-10)	Ano, knoflíkovitý tvar	Ano, výrazné	Ano, kompaktní
<i>Isoospora teneraria</i> McQuiston & Willson 1988	<i>Camarhynchus parvulus</i>	Elipsoidní	1 vrstva	25,4 × 21,1 (21-20 × 17-23)	Ano, 1-4	Ne	Ne	Hruškovitý	15 × 10 (14-15 × 9-11)	Ano, knoflíkovitý tvar	Ano, výrazné	Ano, kompaktní
FOR P7	<i>Geospiza fortis</i>	Kulovitý	2 vrstvy	25,5 x 23,1 (24-27 x 22-24)	Ano	Ne	Ne	Vejčítý	14,4 × 9,7 (13-14 × 9)	Ano, bradavkovitý tvar, výrazné	Ano	Ne
FUL P3	<i>Geospiza fuliginosa</i>	Kulovitý	2 vrstvy	23,3 x 20,3 (22-23 x 20)	Ano	Ne	Ne	Vejčítý	12,9 × 8,4 (13-12 × 8)	Ano, kulovitý	Ano	Ne

Příloha 6 Morfologické vlastnosti oocyst rodu *Eimeria* popsanych z ptáků řádu měkkozobí (Columbiformes) (Ortúzar-Ferreira *et al.* 2020).

Druhy	Hostitel	Oocysta						Sporocysta				
		Tvar	Stěna	Průměrná velikost [μm]	Polární granulum	Residuum	Mikropyle	Tvar	Průměrná velikost [μm]	SB	sSB	Residuum
<i>Eimeria columbae</i> Mitra a Das Gupta 1937	<i>Columba livia</i>	Téměř kulovitý nebo vejčitý	-	16,4 × 14,4	-	Ano	Ne	Elipsoidní	7,2 × 4,8	-	-	Ano
<i>Eimeria columbapalumbi</i> Jamriška a Modrý 2012	<i>Columba palumbus</i>	Elipsoidní	3 vrstvy	21,3 × 16,9 (17-24 × 15-18)	Ano, 2, nepravidelný tvar	Ne	Ne	Vejčitý nebo nepravidelný	13,5 × 6,5 (11-6 × 6-7)	Ano	Ne	Ano, difuzní
<i>Eimeria columbarum</i> Nieschulz 1935	<i>Columba livia</i>	Téměř kulovitý nebo vejčitý	2 vrstvy	20 × 18,7 (19-21 × 17-20)	Ano	Ne	Ne	Elipsoidní	-	Ano	Ne	Ano
<i>Eimeria columbinae</i> Ortúzar-Ferreira a Berto 2020	<i>Columba talpacoti</i>	Téměř kulovitý až elipsoidní	2 vrstvy	14,7 × 13,2 (13-16 × 12-14)	Ne	Ano	Ano, nenápadné	Elipsoidní nebo nepravidelný	9 × 5,1 (8-10 × 5-6)	Ano, zploštělé, tvaru přímčesice	Ano, kulaté	Ano, difuzní
<i>Eimeria curvata</i> Adriano <i>et al.</i> 2000	<i>Columbina talpacoti</i>	Vejčitý nebo elipsoidní	2 vrstvy	18,3 × 15,5 (17-19 × 15-17)	Ano	Ne	Ne	Protáhlý	12,3 × 5,8 (11-13 × 5-6)	Ano, vyčnívající, bradavkovitý tvar	Ne	Ano, kompaktní
<i>Eimeria duculae</i> Varghese 1980	<i>Ducula spilorrhoa</i>	Vejčitý	2 vrstvy	28 × 25 (26-31 × 23-27)	1-2	Ne	Ano, nenápadné	Protáhlý	15,5 × 7,2 (14-16 × 6-8)	Ano, výrazné, kónické	Ne	Ano, kompaktní, v membráně
<i>Eimeria gourai</i> Varghese 1980	<i>Goura victoria</i>	Téměř kulovitý	2 vrstvy	20 × 20 (19-22 × 18-21)	1-2	Ne	Ne	Protáhlý	12 × 5,5 (10-13 × 4-6)	Ano	Ne	Ano, kompaktní
<i>Eimeria janoyi</i> Bandyopadhyay <i>et al.</i> 2006	<i>Columba livia</i>	Elipsoidní	2 vrstvy	24,3 × 19,8	Ano, 1, kulovité	Ne	Ne	Hruškovitý	12,1 × 10,1	Velké	Ne	Ano, difuzní
<i>Eimeria kapotei</i> Chatterjee and Ray 1969	<i>Columba livia</i>	Téměř kulovitý	-	26,1 × 23,5 (24-30 × 22-26)	1-2	-	Ano	Vejčitý	-	Ano	-	Ano, difuzní
<i>Eimeria labbeana</i> Pinto 1928	<i>Columba livia</i>	Téměř kulovitý nebo vejčitý	2 vrstvy	16,7 × 15,3 (15-18 × 14-16)	Ano	Ne	Ano	Vejčitý	12,4 × 6,4 (11-14 × 5-7)	Ano	Ne	Ano, kompaktní
<i>Eimeria livialis</i> Alyousif <i>et al.</i> 2009	<i>Columba livia</i>	Prodloužený elipsoidní	2 vrstvy	21 × 15 (19-23 × 14-17)	Ne	Ano	Ne	Elipsoidní	10,6 × 6,7 (9-12 × 6-8)	Ano, malé, bradavkovitý tvar	Ne	Ano, difuzní
<i>Eimeria lyoni</i> Bailey a Adams 2015	<i>Zenaida macroura</i>	Téměř kulovitý nebo vejčitý	2 vrstvy	24,2 × 20,7 (23-26 × 20-22)	1-2	Ne	Ne	Vejčitý	12,4 × 7,3 (12-14 × 7-8)	Ano, knoflíkovitý tvar	Ano, kulaté	Ano, difuzní
<i>Eimeria mauririensis</i> Ball <i>et al.</i> 2012	<i>Nesoenas mayeri</i>	Téměř kulovitý	2 vrstvy	19,7 × 17,8 (18-22 × 16-19)	Ne	Ne	Ne	-	12 × 6,6 (8-14 × 6-7)	Ano	Ano	Ano
<i>Eimeria palumbi</i> McQuiston 1991	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Vejčitý nebo elipsoidní	2 vrstvy	24,2 × 21,7 (22-27 × 19-24)	Ne	Ano, kulaté	Ne	Elipsoidní	15,3 × 8,1 (15-17 × 8-9)	Ano, bradavkovitý tvar	Ne	Ano, difuzní
<i>Eimeria sphenocercae</i> Ray 1969	<i>Treron sphenurus</i>	Téměř kulovitý nebo elipsoidní	-	19,2 × 12,6 (17-25 × 12-15)	-	Ne	Ano, asymetrické s čepičkou	Vejčitý	17,5 × 12,5 (17-19 × 12-14)	-	-	Ano
<i>Eimeria turturi</i> Golemansky 1979	<i>Streptopelia turtur</i>	Elipsoidní nebo vejčitý	-	26 × 21,6 (23-29 × 18-15)	Ne	Ne	Ne	Protáhlý elipsoidní	11-13 × 6-8	Ne	-	Ano, difuzní
<i>Eimeria waiganiensis</i> Varghese 1978	<i>Chalcophaps indica</i>	Vejčitý	1 vrstva	24 × 22 (22-25 × 19-23)	2-4	Ne	4-6	Vejčitý	10 × 7 (9-11 × 6-8)	Ano, výrazné	Ano, malé	Ano, difuzní
<i>Eimeria zenaidae</i> Adriano <i>et al.</i> 2000	<i>Zenaida auriculata</i>	Téměř kulovitý	2 vrstvy	23,8 × 20,3 (22-26 × 19-22)	1	Ne	Ne	Protáhlý	13,1 × 7,4 (12-14 × 7-8)	Ano	Ne	Ano, difuzní
<i>Eimeria</i> sp. Yang <i>et al.</i> 2016	<i>Columba livia</i>	Téměř kulovitý	2 vrstvy	20,2 × 16,1 (19-22 × 16-19)	Ano	Ano	Ne	v Protáhlý vejčitý	13 × 6,1 (12-15 × 5-7)	Ano	Ne	Ano, kompaktní
DOV P4	<i>Zenaida galapagoensis</i>	Elipsoidní	2 vrstvy	27,6 × 18,2 (26-29 × 18-19)	1-2	Ne	Ne	Kulovitý	7,3 × 7,4 (7-8 × 7-8)	-	-	Ano, difuzní

Příloha 7 Morfologické vlastnosti oocyst rodu *Isoospora* popsaných u pěvců (Passeriformes) vyskytujících se a migrujících či příležitostně migrujících na ostrovech Galapág (Swash a Still 2005).

Druh	Hostitel	Oocysta						Sporocysta				
		Tvar	Stěna	Průměrná velikost [μm]	Polární granulum	Residuum	Mikropyle	Tvar	Průměrná velikost [μm]	SB	sSB	Residuum
<i>Isoospora coerebae</i> Berto <i>et al.</i> 2011	<i>Coereba flaveola</i>	Kulovitý	2 vrstvy	24,7 × 23,3 (23-27 × 21-26)	Ne	Ne	Ne	Kulovitý	17,7 × 10,9 (16-19 × 10-12)	Ano, kulovité	Ano	Ano, rozptýlené
<i>Isoospora petrochelidon</i> Stabler a Kitzmiller 1972	<i>Petrochelidon pyrrhonata</i>	Kulovitý až elipsoidní	1 vrstvy	25,2 × 22,2 (23-30 × 19,5-25)	Ano	Ne	Ne	Tvar citronu	18,4 × 10,8 (16-21,5 × 10×11,5)	Ano	Ano	Ano, kompaktní
<i>Isoospora pitiguari</i> Lopes <i>et al.</i> 2014	<i>Cycularhis gujanensis</i>	Kulovitý	2 vrstvy	26,8 × 25,7 (23-28 × 23-28)	Ne	Ne	Ne	Kulovitý	14,4 × 11,6 (13-15 × 10-13)	Ano, zploštělé	Ano	Ano, granule rozdílných velikostí
<i>Isoospora mccurtainensis</i> McAllister a Seville 2021	<i>Piranga rubra</i>	Kulovitý	2 vrstvy	21,7 × 19,5 (17-26 × 16-22)	Ano, 1	Ne	Ne	Elipsoidní	13,9 × 8,6 (11-16 × 7-10)	Ano, knoflíkovitý tvar	Ano	Ano, kompaktní
MOC G3	<i>Mimus parvulus</i>	Kulovitý	2 vrstvy	21,9 × 20,2 (21-22 × 19-22)	Ne	Ne	Ne	Kulovitý	-	-	-	-
MOC G22	<i>Mimus parvulus</i>	Kulovitý	2 vrstvy	20,4 × 19,5 (19-20 × 9)	Ne	Ne	Ne	Vejčítý	10,7 × 9,1 (9-11 × 9-8)	Ano, malé	Ano	Ano, kompaktní
MOC G23	<i>Mimus parvulus</i>	Kulovitý	2 vrstvy	22,9 × 20,9 (21-23 × 19-22)	Ne	Ne	Ne	Vejčítý	12,8 × 9,6 (12-13 × 9)	Ano, kulovité	Ano	Ne
MOC P8	<i>Mimus parvulus</i>	Kulovitý	2 vrstvy	20,4 × 18,7 (19-2 × 17-20)	Ano, drobná	Ne	Ne	Elipsoidní	13,2 × 9,2 (13-15 × 8-10)	Ano, kulovité	Ano	Ne
MOC P17	<i>Mimus parvulus</i>	Kulovitý	2 vrstvy	20,0 × 17,4 (21-18 × 16-18)	Ne	Ne	Ne	Elipsoidní	12,3 × 8,5 (10-13 × 7-9)	Ano, malé	Ano	Ne