

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

Studijní program: Biologie

Studijní obor: BBI



**Klára Hančová**

*Evoluce imunitní odpovědi poháněná rostoucí virulencí patogena*

*Evolution of immune response driven by increasing pathogen virulence*

**Bakalářská práce**

Vedoucí práce: RNDr. Michal Vinkler Ph.D.

Praha, 2019

**Charles University**  
**Faculty of Science**

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci na téma vypracovala pod vedením vedoucího bakalářské práce samostatně za použití v práci uvedených pramenů a literatury. Dále prohlašuji, že tato bakalářská práce nebyla využita k získání jiného nebo stejného titulu.

V Praze dne 9.5.2019

Klára Hančová

**Tímto bych chtěla poděkovat Dr. Michalu Vinklerovi za vedení a pomoc při zpracování této bakalářské práce. Dále bych také poděkovala své rodině, která mě během mého studia neustále podporuje.**

## Obsah

Abstrakt.....	5
Úvod.....	6
1 Ekologické vztahy a virulence .....	7
2 Koevoluce hostitele a parazita.....	9
2.1 Gene for gene, matching allele a Červená královna .....	12
2.2 Rezistence a tolerance .....	14
3 Myxomatóza .....	17
3.1 Specifikace .....	17
3.2 Možnosti přenosu.....	17
3.3 Introdukce viru .....	18
3.3.1 Myxomatóza v Austrálii.....	19
3.3.2 Myxomatóza v Evropě.....	20
3.4 Projevy onemocnění.....	20
3.4.1 Boj proti hostitelově imunitě.....	21
3.5 Možnosti imunizace.....	23
4 Hýl mexický a <i>Mycoplasma gallisepticum</i> .....	25
4.1 Interagující organismy .....	25
4.2 Vývoj koevoluce mezi hýlem a mykoplasmou.....	26
4.3 Možnosti přenosu.....	26
4.4 Projevy onemocnění.....	27
4.5 Interakce s imunitním systémem .....	28
Závěr .....	30
Literatura.....	32

## Abstrakt

Koevoluce označuje společný evoluční vývoj dvou či více druhů organismů. Jako koevoluce je chápán i vztah hostitel-parazit, kdy se parazit stává hnacím motorem evoluce hostitele. Ve snaze minimalizovat negativní efekt parazitismu si hostitelé vytvářejí různé ochranné mechanismy, které je buď chrání před infekcí, nebo snižují její dopad. Tento text je napsán s cílem seznámit čtenáře s interakcí hostitel-parazit v reakci na stále se přizpůsobujícího parazita. U dvou konkrétních patogenů (viru myxomatózy a *Mycoplasma gallisepticum*) je popsán vývoj virulence a určitý druh manipulace s hostitelovou imunitní odpovědí. Myxomatóza se vyznačuje horizontálním přenosem, který je spojen s vyšší virulencí. Ovšem po mnoha letech koevoluce s králíkem divokým (*Oryctolagus cuniculus*) došlo na třech lokalitách ke stabilizaci různých, ale vždy snížených hodnot. Druhý systém představuje poměrně mladou koevoluci mykoplasmy a hýla mexický (*Haemorrhous mexicanus*), která nabízí možnost sledovat vývoj nově vznikajících obranných mechanismů vůči parazitovi.

Klíčová slova: koevoluce parazita a hostitele, gene for gene, matching allele, červená královna, myxomatóza, *Mycoplasma gallisepticum*

## Abstract

Coevolution is relationship between two or more species reciprocally affect each other's evolution. Coevolution is also known as host-parasite interaction where parasite becomes the driving force of host evolution. In an effort to escape the parasite, hosts create different mechanisms that protect themselves from infection or minimize its impact. This text is written to acquaint the reader with the host-parasite interaction in response to improving parasite. In systems with myxoma virus and *Mycoplasma gallisepticum* are described changes of virulence and manipulation with host immune response. Myxomatosis should be known for its increasing virulence because of horizontal transmission. But after many years coevolution between European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*) settled on low value in three different places. Second system represents young evolution between mycoplasma and house finch (*Haemorrhous mexicanus*) which offer opportunity to watch new beginning of defense mechanism against parasite.

Key words: coevolution of host and parasite, gene for gene, matching allele, red queen, myxomatosis, *Mycoplasma gallisepticum*

## Úvod

Koevoluce neboli vzájemná interakce dvou či více druhů je fenomén, který ovlivňuje populace napříč miliony let. Jednou z interakcí, která se k ní řadí, je parazitismus. Přibližně polovina všech známých druhů na planetě využívá tento styl života. Ve své bakalářské práci pojem parazitismus zasazuji do kontextu a následně se snažím přiblížit reciprokou koevoluci hostitel-parazit pomocí evolučních modelů (gene for gene a matching allele). Oba modely vycházejí z předpokladu hospodaření s náklady vloženými do obrany proti parazitovi. S těmito náklady jsou také spojeny termíny tolerance a rezistence, které charakterizují hostitelův způsob vypořádání se s parazitem.

Pro lepší porozumění jsem se rozhodla ukázat evoluci imunitní odpovědi na konkrétních příkladech. Vybrala jsem si dva systémy, první se vyznačuje snižující se virulencí v nových hostitelích, druhý poté virulencí se zvyšující. Mou první volbou je vzájemná interakce králíka divokého (*Oryctolagus cuniculus*) a viru myxomatózy, protože v mnoha člancích byla uváděna jako modelový příklad koevoluce a zároveň mě osobně zajímá. Tato koevoluce je vědci zkoumána již více než 60 let a to hlavně díky umělému vysazení viru v populaci přemnožených králíků divokých v Austrálii. Toto vysazení bylo za účelem snížení počtu jedinců v populaci. Během několika let od vysazení, se však počty králíků opět začaly zvyšovat, avšak virulence viru se snížila.

Druhým systémem je koevoluce hýla mexického a jeho parazita *Mycoplasma gallisepticum*. S tímto fenoménem se setkáme na východě i západě Severní Ameriky, kde pravděpodobně došlo ke vzniku nového kmene mykoplasmy, který nakazil do té doby mykoplasma neinfikovaného hýla mexického. Jedná se o mnohem mladší koevoluci, než v případě myxomatózy, díky tomu jsou k dispozici novější záznamy. Do výzkumu byla zapojena i široká veřejnost, která pomáhala sledovat postupné rozšiřování bakterie. V tomto konkrétním případě máme možnost sledovat vývoj koevoluce „v přímém přenosu“, což v aktuální době stále se zlepšujících postupů a programů je snadnější, než tomu bylo dříve.

Mým cílem je seznámit čtenáře se základními interakcemi v systému hostitel-parazit, např. jak hostitel reaguje na vysoce virulentního parazita, případně jak nakládá se zdroji. Shrnuji poznatky o mechanismech obrany hostitele vůči parazitovi, které zároveň ovlivňují parazitovo rozšíření. Na závěr hodnotím své poznatky a poukazuji na možné pokračování výzkumu.

## 1 Ekologické vztahy a virulence

Mezidruhové vztahy představují jeden z hlavních aspektů formování společenstev. Zpravidla se rozdělují na kladné a záporné (Chamberlain et al. 2014). Kladnou lze nazvat takovou interakci, ze které jeden nebo oba zúčastnění profitují, ale zároveň ani jeden nestrádá, například komenzálismus, mutualismus či protokooperaci (Salles et al. 2002). Do protokooperace se řadí např. hromadné hnízdění, jedná se o výhodný leč ne nezbytný vztah. Komenzálismus a mutualismus bude zmíněn v následujícím odstavci v souvislosti s popisem hostitele. Mezi záporné (nevýhodné alespoň pro jednoho zúčastněného) patří kompetice, predace nebo parazitismus (Bruno et al. 2003). Kompetice se vyznačuje negativním vzájemným působením např. likvidací zdrojů, a často vede ke speciaci (Araújo et al. 2011). Rozdíl mezi parazitismem a predací lze vysvětlit v rámci působení na ostatní populace (Hawkins et al. 1997). Predace neboli vztah kořist-predátor se vyznačuje zpravidla rychlým usmrcením jedince, tudíž rychlou eliminací jeho fitness. Naopak parazitismus neboli vztah parazit-hostitel například zpravidla snižuje fitness hostitele pomaleji. Výsledkem může být opět eliminace fitness usmrcením jedince jako v predaci, ale setkáme se zde i s redukcí fitness způsobenou kastrací (Lively 1999), či přežíváním hostitele (viz. podkapitola Rezistence a tolerance).

Hostitelský organismus je definovaný jako poskytovatel zdrojů a zároveň šířitel (Leung a Poulin 2008). Pojem hostitel je spojován se třemi životními styly: již dříve zmíněným parazitismem, komenzálismem a mutualismem (Bremermann and Pickering 1983). Mutualismus je oboustranně pozitivní vztah mezi dvěma druhy, ať už jsou přínosy z hlediska fitness jedince, nebo populační dynamiky (Leung and Poulin 2008; Bronstein 2009). V mutualistických systémech vede koevoluce ke shodným rysům obou zúčastněných v rámci sbíhavé evoluce (tzv. konvergentní evoluce; Hui, Minoarivelo, a Landi 2018). Velice často se jedná o úzký vztah, jehož narušení může vést k vyhynutí zapojených druhů (Salles et al. 2002). Mutualismus se může v konkrétních případech změnit v komenzálismus či přímo parazitismus. Tento parazitismus se poté nazývá fakultativní parazitismus (Westwood et al. 2010). Jedná se o takzvané příležitostné parazity, kteří parazitují například při špatných životních podmínkách. Příkladem jsou ryby čističi, které v některých případech odstraňují šupiny a tkáň čištěné ryby (Cheney a Côté 2005). Komenzálismus označuje interakci, kdy jeden aktér neprofituje ani nestrádá ze vztahu (Leung and Poulin 2008). V praxi bývá komenzál jen těžko rozpoznatelný od parazita, který svého hostitele využívá pouze minimálně. Mikrobiální komenzály nalezneme např. na kůži, v trávicím traktu (Davies 1980). V případě, kdy se však komenzál začne rozmnožovat mimo svou niku (místo kde neškodí), může působit jako parazit a spustí se vůči němu imunitní odpověď. Parazitismus označuje situaci, kdy jeden zúčastněný organismus (parazit) využívá druhý organismus (hostitele) jako zdroj (Leung and Poulin

2008). Výsledkem tohoto vztahu bývá poškození hostitele – čili jeho patologie. Proto jsou paraziti vyvolávající klinicky měřitelnou patologii označováni jako patogeny. Podle definice parazité snižují fitness hostitele a tím na ně vytvářejí selekční tlak (Hansen and Koella 2003). Lze je rozdělit podle variability jejich hostitelů na monoxenní (přirozeně infikují jeden druh; např.: příušnice, *Plasmodium falciparum*) a polyxenní (napadají hostitele z různých taxonomických tříd; např.: vzteklna; Woolhouse et al. 2001).

Virulence má mnoho definic, např. jako zvyšující se úmrtnost hostitele v důsledku infekce (Frank 1992). Zároveň si parazit redukuje svojí vlastní fitness, protože si nevratně poškodí zdroj pro přežití (hostitele). Na druhou stranu si vyšší virulence zajišťuje vyšší míru přenosu do nového hostitele – tudíž se jeho fitness zvyšuje (Frank and Schmid-Hempel 2008). Jedná se zde o trade off mezi mírou virulence, přenosem a hospodaření se zdroji. Pod pojmem virulence však lze chápat také např. sumu poškození, které způsobuje parazit svému hostiteli (Gandon and Michalakis 2000); přímé nebo nepřímé snížení fitness hostitele způsobené infekcí patogenu (Woolhouse et al. 2005). Virulence je často nevyhnutelný důsledek přenosu parazita (Alizon et al. 2009). Není to vlastnost, která je přímo kontrolována geny parazita (Hansen and Koella 2003). Je spíše vyjádřena několika vlastnostmi, které závisí na interakci hostitel-parazit. V evoluční epidemiologii je popisována jako rozdíl celoživotního reprodukčního úspěchu parazitovaného a neparazitovaného hostitele. V rámci této práce však virulenci definuji jako zvyšující se úmrtnost hostitele v důsledku infekce (Frank 1992).

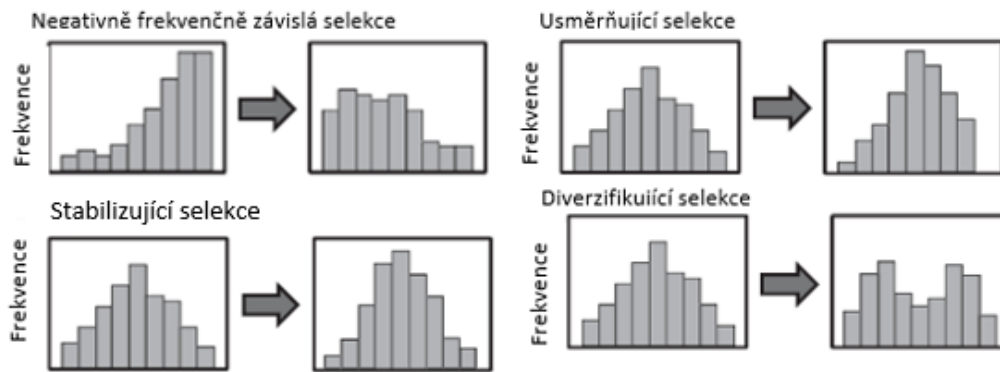
Parazit svou virulenci optimalizuje především v závislosti na způsobu přenosu. Rozlišujeme vertikální a horizontální přenos. Vertikální znamená přenos z rodiče na potomka a vysoká virulence není v tomto případě žádaná (Ewald 1983; Møller and Erritzøe 1996). Úspěch parazita je spojen s úspěchem jeho hostitele a tudíž je ve výhodě méně virulentní parazit (Frank 1996), který si zajistí přenos do další generace (Møller and Erritzøe 1996). Pokud by tak nečinil, byl by selekcí eliminován a frekvence počtu parazitů v populaci by se snížila (Lipsitch et al. 1995). Horizontální přenos zvyšuje efektivitu přenosu parazita, což mu umožňuje být více virulentní (Frank 1996; Møller and Erritzøe 1996). Jedná se o přenos v rámci populace, kdy zvýšení rychlosti infekčního přenosu vede k vysoké virulenci. Zároveň je hostitel maximálně využit, což má často za následek jeho časnou smrt. Parazit zvyšuje svou reprodukční rychlost (rychlejší reprodukce znamená zvýšení fitness). Vyšší virulence přináší parazitovi možnost rychlejšího množení, kterým si zároveň parazit zvyšuje svou fitness. Spolehá na to, že zahubí svého hostitele dříve, než méně virulentní kmen (platí v případě vysoké koinfekce; Ebert 1994). Mnohočetná infekce (koinfekce) s mnoha konkurenčními genotypy favorizuje parazity s rychlým vývojem a vysokou virulencí (Frank 1996).



## 2 Koevoluce hostitele a parazita

Již dříve bylo zmíněno, že organismy čelí v přírodě různým parazitům, kvůli kterým si vyvinuly obranné mechanismy (Miller et al. 2005). Koevoluce je definována jako specifický mezidruhový vztah organismů, který vede k vzájemné evoluční změně, jež je poháněna přirozeným výběrem (Janzen 1980). Evoluce prostřednictvím antagonistických interakcí může vést k rychlému rozrůznění obranných mechanismů (viz. podkapitola Rezistence a tolerance; Hui et al. 2018). Modely koevoluce hostitel-parazit se snaží obecně vysvětlit, jak systém funguje, ale jejich aplikace v přirozené populaci je komplikovaná (Hansen and Koella 2003). Pro vytvoření konkrétního modelu v přirozené populaci je potřeba znát např. má-li populace dostatek zdrojů, jaké selekční tlaky na ně působí, jaký je genový tok.

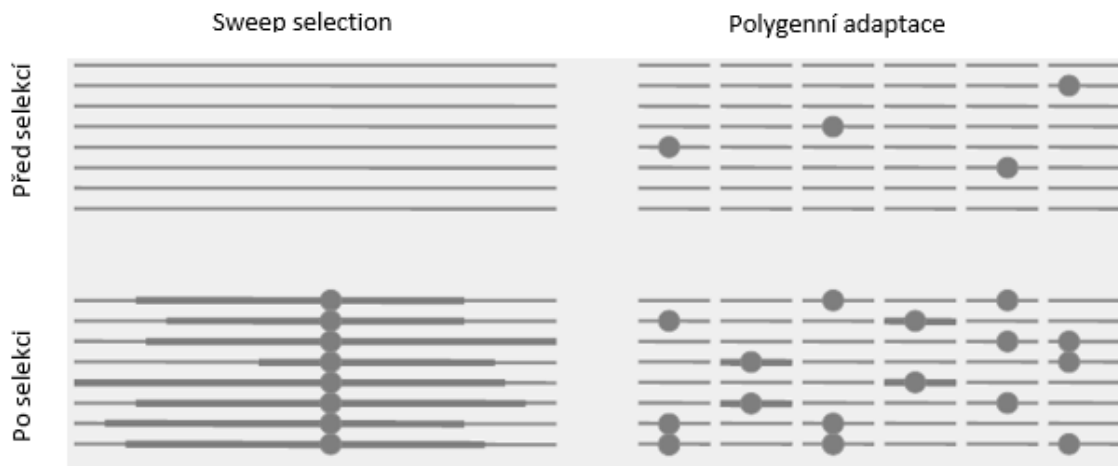
Parazité vytvářejí různé selekční tlaky na své hostitelské populace (Bovers et al. 1994). Svým působením buď zvyšují, nebo naopak snižují hostitelovu diverzitu (Ma et al. 2006; Koskella and Lively 2009; Duffy and Forde 2009). Selektce, která zvyšuje hostiteli diverzitu, se souhrnně nazývá balancující selektce (Hörger et al. 2012). Vyznačuje se udržováním polymorfismu v populaci a zvýhodněním heterozygotů (rekombinace představuje mechanismus rozrůznění genotypů; Llaurens et al. 2017). Řadíme sem negativně frekvenčně závislou selekci a diverzifikující selektce, které zvyšují hostitelovu diverzitu. Naopak usměrňující a stabilizující selektce hostitelovu diverzitu snižují (Duffy and Forde 2009). Koevoluční dynamika může být řízena negativně frekvenčně závislou selekcí, což vede k udržení alelické diverzity u genů zapojených do interakcí mezi hostiteli a patogeny (Hörger et al. 2012). V rámci negativně frekvenčně závislé selektce parazit napadá převažující genotypy jedinců, snižuje jejich fitness a do výhody se dostávají vzácnější genotypy (Woolhouse et al. 2002). To znamená, že fitness genotypu klesá s rostoucí frekvencí zastoupení parazita v populaci. Tato interakce je založena na genotypové shodě obou aktérů. Všechny obranné mechanismy, které snižují prevalenci patogena (vyhýbání se, rychlejší uzdravení a kontrola nad mírou růstu – kontrola je definovaná jako snížení patogenity hostitele redukcí růstu patogena uvnitř hostitele; Miller et al. 2005) mohou mít právě frekvenčně závislou selekční odpověď (Boots et al. 2009).



Obr. 1.: Histogramy zobrazující závislost frekvencí alel na různých druzích selekce. Převzato z Duffy and Forde (2009)

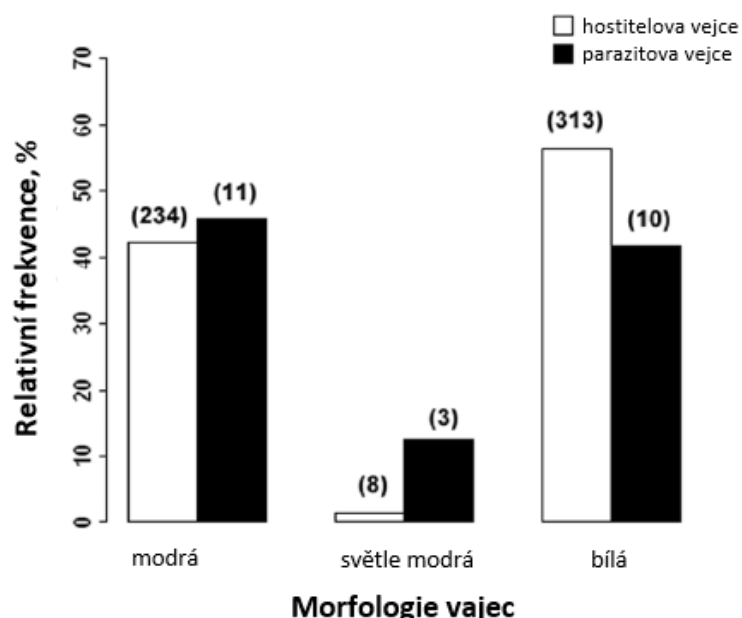
V rámci rezistence je u stabilizující selekce preferovaná střední hodnota určitého znaku v genotypu, zatímco u diverzifikující selekce je upřednostňována selekce ve prospěch genotypového rozrůznění (Duffy and Forde 2009). Do stabilizující selekce zasahuje optimální fitness, která formuje možnou odpověď hostitele. Vychýlení z optimální fitness má za následek znevýhodnění jedince. Proto jsou mutace, které mění genotyp jedince, eliminovány. Výsledkem této interakce je střední cesta odpovědi vůči parazitovi a zároveň snížená genotypová variabilita hostitele v populaci (Sanjak et al. 2018). Uvedu příklad: podle Clayton et al. (2005) je u holubů skalních (*Columba livia*) vyvinut tlak na morfologii zobáku. Delší a zahnutější zobák má lepší efekt na odstraňování ektoparazitů, ale zároveň hrozí jeho zlomení či poškození. Výsledkem je tedy kompromis a střední hodnota délky a zahnutí zobáku.

Usměrnující (direktivní) selekce vede ke změně střední hodnoty znaku v populaci (Sanjak et al. 2018). Jako další příklad uvedu výzkum od Larsson et al. (1998), který dokazuje usměrnující selekci na bernešce bělolící (*Branta leucopsis*). Větší samice vysedí více potomků, tudíž je zvýhodněna oproti samici menší. Během evoluce nastane posun ideální velikosti zapříčiněný preferencí větší samice u samců. Případy, kdy direktivní selekce vede k rychlé fixaci alel nesoucích výhodné mutace (jako jsou ty, které např. poskytují rezistenci), se označují jako „selective sweep“ (fixace alely „vymete“ okolní genetickou variabilitu; Duffy and Forde 2009). Nastane tehdy, když se objeví nové alely (mutací či migrací), které zvýhodňují nositele a nakonec se pevně zafixují v populaci (Woolhouse et al. 2002). Spolu s fixací selektované varianty se fixují i varianty v okolí, což snižuje genetická variabilita v okolí výhodné mutace (viz. obr. 2).



Obr. 2.: Ilustrace mechanismu sweep selection a polygenní adaptace před a po selekcí. Body představují výhodnou alelu , úzké čáry znázorňují haplotypy a tlusté čáry oblasti, které se budou fixovat společně se selektovanou variantou, kterou obsahují. Z ilustrace je patrné, že bez zásahu sweep selection, bude v populaci značná alelická variabilita, zatímco selective sweep fixuje konkrétní výhodnou alelu s okolním polymorfismem. Převzato z Pritchard et al. (2010)

Diverzifikující (disruptivní) selekce se vyznačuje zvyšováním fenotypové variability (Sanjak et al. 2018). Vede ke koexistenci hostitelských kmenů a může být známá též jako evoluční větvení (Boots and Bowers 1999; Toor and Best 2016). Podle výzkumu Yang et al. (2010) se diverzifikující selekce nachází u sýkořice šedohrdlé (*Paradoxornis alphonsianus*) a jejího parazita kukačky obecné (*Cuculus canorus*). Únik před parazitem spočívá ve změně barvy a vzoru skořápek vajec ve snůšce, avšak parazit se evolučně přizpůsobuje (viz. obr.3).




Obr. 3.: Disruptivní selekce v rámci morfologie vajec u sýkořice šedohrdlé (*Paradoxornis alphonsianus*) a jejího parazita kukačky obecné (*Cuculus canorus*). Převzato z Yang et al. (2010)

## 2.1 Gene for gene, matching allele a Červená královna

Pro lepší pochopení koevoluce hostitele a parazita vznikly dva teoretické modely (využívané v praxi), které vycházejí z předpokladu šetrného hospodaření s náklady na obranu hostitele. Oba modely (gene for gene a matching allele) jsou závislé na hostitelově genu pro rezistenci a parazitově virulenci, zároveň nezahrnují ekologické zpětné vazby (Boots et al. 2009). Locus-based model neboli gene for gene model se často aplikuje v systému rostlina-parazit, ve kterém byl rovněž popsán (Boots and Bowers 1999; Agrawal and Lively 2002; Boots et al. 2009; Duffy and Forde 2009). V populaci parazita máme dvě možné alely v lokusu (v našem konkrétním případě, může jich být více; Frank 1994; Boots et al. 2009). U parazita je to V jako virulentní a A jako avirulentní, u hostitele S (susceptible neboli citlivý) a R (resistant – odolný). Hostitelé nesoucí citlivou alelu mohou být infikováni oběma skupinami parazita, ale rezistentní mohou být nakaženi pouze, pokud se jedná o virulentní lokus. Virulentní parazit je ve výhodě, protože může nakazit celou populaci hostitele (Boots et al. 2009; Duffy and Forde 2009). Naopak hostitel se vyhne parazitovi v kombinaci rezistentní-avirulentní, která je též známá jako „stop signál“ (Frank 1994). Pokud neexistují žádné náklady na virulenci či rezistenci, bude se systém takto fixovat (Agrawal and Lively 2002; Boots et al. 2009). Existují-li však náklady, bude výskyt těchto alel negativně frekvenčně závislý, což povede k zacyklení (Boots et al. 2009). Pro zacyklení gene for gene je nezbytné, aby náklady pro rezistentní a virulentní alely byly vysoké (Shykoff 1998). Souhrnně řečeno, celou podstatou modelu je limitace náklady. Jedinec může být rezistentní, ale část jedinců v populaci nebude, protože je to v daném kontextu moc drahé. Míra rezistence bude oscilovat na základě ceny parazita a ceny imunitního systému (viz. popis níže). Na model lze nahlížet i invertovaně. Existovala by univerzální alela rezistence, která by ovšem svého hostitele stála příliš mnoho. V tu chvíli by bylo pro jedince výhodné ji nefixovat. V reakci na tento krok by se parazit rozšířil v celé populaci a do výhody by se opět dostaly rezistentní hostitelé.

	A	V
R	-	+
S	+	+



Obr. 4.: Rezistence (-) a citlivost (+) mezi dvěma alelami hostitele a parazita pro model gene for gene. Převzato z Frank (1994)

Přibližující popis fungování cyklu (Agrawal and Lively 2002; Boots et al. 2009). Pokud dominuje virulentní genotyp, jsou nakaženi i rezistentní jedinci, pro které jsou náklady na rezistenci vysoké. Pro ně již nemá význam alokovat zdroje do obrany, protože nejsou schopni udržet rezistenci vůči

virulentnímu parazitovi. Tudiž v populaci začnou převládat citliví jedinci. Pro parazita následně ztratí význam být virulentní a začnou převládat avirulentní jedinci. V populaci avirulentních a citlivých jedinců začnou mít výhodu nositele rezistentní alely a takto se to děje pořád dokola. (Boots et al. 2009). Toto cyklické chování je ještě výraznější pro model matching allele, ve kterém se parazit specializuje na jediný typ hostitele (náklady na rezistenci a virulenci jsou zde relevantní) (Shykoff 1998; Boots et al. 2009)

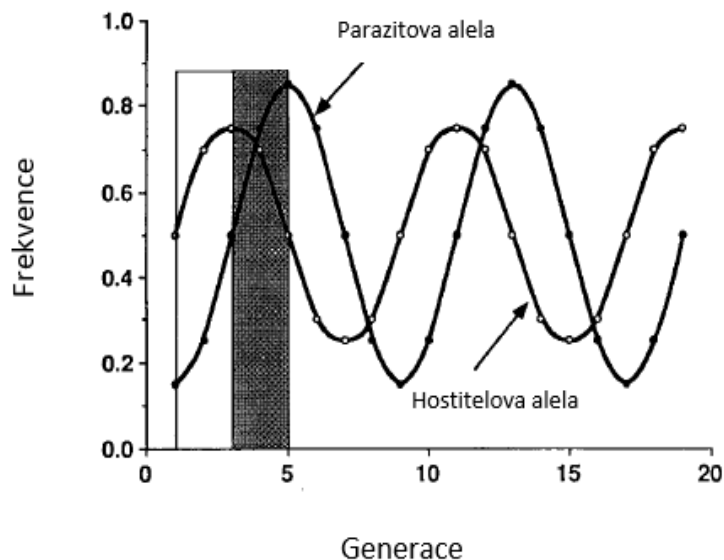
Klíčovým rysem matching allele je, že buď infekce, nebo rezistence vyžaduje specifickou shodu mezi hostitelem a parazitem (Grosberg 2000; Agrawal and Lively 2002; Boots et al. 2009; Duffy and Forde 2009). Univerzální virulence není u tohoto modelu možná. Každý genotyp parazita funguje buď jako virulentní či avirulentní alela v závislosti na genotypu hostitele (Frank 1994). Naproti tomu systém gene-for-gene má vždy univerzální alelu virulence, která může napadnout všechny genotypy hostitele.

	p1	p2
h1	-	+
h2	+	-

Obr. 5.: Rezistence (-) a citlivost (+) mezi dvěma alelami hostitele a parazita pro model matching allele. Převzato z Frank (1994)

Rozdíl mezi těmito dvěma modely je, že v matching allele nejsou některé genotypy parazitů schopny infikovat tolik genotypů hostitele jako v gene for gene (Agrawal and Lively 2002). Ačkoli vztah mezi specifickými faktory je v systému gen-for-gen jednoduchý, celková interakce mezi hostitelem a jeho patogenem je složitá (Boots et al. 2009).

Ze vzájemné shody genotypů mezi parazitem a hostitelem vychází i hypotéza Červené královny, která byla pojmenována po Červené královně z knihy Alenčina dobrodružství v říši divů a za zrcadlem autora Lewis Carrolla (Lively 2010). Královna Alence vysvětlovala, že aby mohla zůstat na stejném místě, musí utíkat co nejrychleji. Hypotéza předpokládá, že je zde evoluční tlak na hostitelské populace způsobený parazitem (Koskella and Lively 2009; Duffy and Forde 2009). Parazité, kteří jsou schopni infikovat nejběžnější genotyp hostitele, mají selektivní výhodu (Clay and Kover 1996), podmínkou však je dostatečná virulence parazita spojená s poklesem četnosti genotypu hostitele ve společenstvu a poklesem jeho fitness (Koskella and Lively 2009). Zároveň jsou vzácné hostitelské genotypy zvýhodněny, protože mají nižší pravděpodobnost infekce, a rozšíří se v populaci. To vede k selekci na parazity vhodné pro infikování tohoto nově převládajícího genotypu. Dochází k neustále oscilaci mezi hostitelem a jeho parazitem (Clay and Kover 1996).



Obr. 5.: Oscilace mezi alelami parazita a hostitele. Tmavý rámeček označuje část cyklu, kdy je společný hostitelský genotyp "přefikován". Převzato z Clay a Kover 1996

Koskella a Lively (2009) provedli pokus s vodním šnekem *Potamopyrgus antipodarum* a jeho známým parazitem *Microphallus sp.*, který napadené jedince nezabije, ale vykastruje. Během 6 generací autoři porovnávali infikované a neinfikované populace. V infikovaných společenstvech platila negativně frekvenčně závislá selekce, převažující genotyp byl napaden parazitem, vykastrován a přenos jeho genetické informace zamezen. V populaci následně převládly méně zastoupené genotypy. Naopak u neinfikované populace nebyla detekována žádná frekvenčně závislá selekce a zastoupení genotypů v populaci se změnilo jen minimálně nezávisle na parazitovi.

## 2.2 Rezistence a tolerance

Během evoluce bylo pro hostitele nezbytné vyvinout mechanismy, které budou snižovat či úplně eliminovat škodlivé účinky parazita (Miller et al. 2005), zároveň musí být jedinec schopný se nadále množit. Optimální úroveň obrany je dána vyrovnaností mezi cenou do ní vloženou a ziskem, který jedinci přenáší (Bonneaud et al. 2003). Míra adaptivní odpovědi parazita pozitivně koreluje s obranou hostitele (Kubinak and Potts 2013). Což znamená, čím více bude hostitel bránit, tím více musí parazit investovat do prolomení hostitelovi obrany. Je pravděpodobné, že vysoce adaptovaný hostitel bude zároveň i vyvíjet tlak na specifitu parazita.

Během evoluce se ovšem vyvinuly mnohokrát nezávisle dva možné mechanismy obrany proti parazitovi (Roy and Kirchner 2000; Gandon and Michalakis 2000; Miller et al. 2005; Kubinak and Potts 2013). Hostitel reaguje infekční tolerancí (nelimituje infekci, ale redukuje její důsledky; umožňuje přežití a reprodukci během probíhající infekce), nebo rezistencí (inhibuje či omezuje infekci). Tolerance je definovaná jako snížení patogenity, která nemá vliv na růst parazita (Miller et al. 2005; Best et al.

2008; Adelman et al. 2013; Sorci 2013), ale zvyšuje fitness hostitele (Roy and Kirchner 2000). Rezistence je definovaná jako snížení patogenity získané ovlivněním růstu uvnitř hostitele (např. manipulace s rychlostí replikace parazita v infikovaných organismech; Miller et al. 2005; Adelman et al. 2013). Je důležité přistupovat jinak rezistenci a toleranci, jedná se o dvě odlišné strategie (Roy and Kirchner 2000). Jednoduše řečeno: rezistence bojuje přímo proti patogenu a tolerance proti věcem, které způsobuje. Současné experimentální studie ukazují existenci trade-off mezi oběma způsoby obrany (Best et al. 2014).

Rezistence může být dosaženo: vyhýbáním se infekci (není myšleno únik v čase ani prostoru, ale je to bráno z pohledu fyziologie; Boots a Bowers 1999), např. bariéry proti infekci (kůže, hlen, chemické látky na epidermis, které zamezí uchycení nebo reprodukci v hostiteli; Roy a Kirchner 2000), rychlejším uzdravením či zachováním imunního stavu (Boots and Bowers 1999; Miller et al. 2005). Nejedná se tedy pouze o vypuzení z těla hostitele; Best et al. (2008), kterou se sníží dobu trvání infekce (Roy a Kirchner 2000), ale také o snížení možnosti přenosu (např. buněčná smrt napadených buněk brání ostatní proti nákaze) či kontrolu nad parazitem (Miller et al. 2005). Všechny tyto mechanismy ve většině případů působí proti parazitovi (Best et al. 2014) a zároveň čerpají energii ze zdrojů hostitele (Roy and Kirchner 2000). Jako ukázkou nákladů vložených do rezistence uvedu příklad od Boots a Haraguchi (1999). Hmyz má jako obranu proti patogenu na povrchu svého těla kutikulu, která má svou konkrétní šířku. Čím bude mít kutikula tenčí vrstvu, ale stále bude plnit svou funkci, tím více energie hmyzu zbyde a může jí vložit jinam. Naopak pokud je v populaci vysoká míra úmrtnosti způsobená parazitem, nemá cenu investovat do ochranného mechanismu vůči němu, protože jedinec stejně brzy zemře (Toor and Best 2016). Tento příklad ukazuje závislost hostitelovy odpovědi na nákladech do ní vložených, stejně jako tomu bylo v modelu gene for gene.

Gen, který propůjčuje svému nositeli rezistenci, se bude v populaci šířit po dobu výskytu parazita, za předpokladu, že náklady na rezistenci budou, ale nebudou větší než náklady patogenezise (Roy and Kirchner 2000; Duffy and Forde 2009). Po odeznění infekce se stává tento konkrétní gen nepotřebný a zbytečně nákladný, tudíž není potřeba, aby se dále fixoval a přenášel do nových jedinců. Proto se pravděpodobně jeho frekvence v populaci sníží. Odolný jedinec netvoří pro parazita podmínky k přežití, a proto se bude prevalence ve společenstvích snižovat (Best et al. 2014). Alela se tedy setkává s negativní zpětnou vazbou, protože již v další generaci bez výskytu parazita je zbytečná.

Infekční tolerancí jsou označovány mechanismy, které jsou schopné zmírnit důsledky parazita, např. snižují úmrtnost vyvolanou parazitem, prodlužují infekční periodu (Boots et al. 2009). Tlakem pro vznik infekční tolerance bývá nutnost omezení negativního dopadu infekce, popř. imunity hostitele na

fitness hostitele (Sorci 2013). Jako tolerance se uvádí v systému rostlina-parazit například zvýšení koncentrace chlorofylu v listech, zvětšení plochy nových listů nebo zvýšení počtu větvení (Paige 1992).

Gen zodpovědný za toleranci se v genotypu populace udrží déle, jelikož prevalence patogena bude vysoká (Roy and Kirchner 2000). Zároveň se gen stává důležitým a je potřeba ho fixovat. V některých případech se bude jednat o pozitivní zpětnou vazbu, ovšem je zde opět předpoklad, že náklady na jeho udržení nejsou větší než náklady patogeneze. Pozitivní zpětná vazba nastane tehdy, pokud infekce snižuje fitness v hostitelích bez tolerantního genu. Tolerantní jedinci jsou zvýhodněni, protože dokážou snížit následky infekce. Převaha tolerantních jedinců ve společenstvu vede ke zvyšování prevalence (tolerantní jedinec žije déle než jedinec netolerantní a tím pádem se může parazit šířit z hostitele déle). Interakce mezi hostitelem a parazitem na základě tolerance vede v mnoha případech ke snížení virulence (Best et al. 2014).

Výše uvedené informace vycházejí z předpokladů, že v populaci v populaci se vyskytuje buď rezistence, nebo tolerance. Existují však důkazy, které ukazují, že tolerance a vyhýbání se patogenu se navzájem nevyklučují (Miller et al. 2005). Vzájemné vylučování znaků je předpoklad pro hypotézu, že se jedná o trade off mezi rezistencí a tolerancí (Best et al. 2014). Příkladem může být odpověď laboratorní myši (*Mus musculus*) na parazita *Plasmodium chabaudi* (Raberg et al. 2007). Byla dokázána existence genetické variability pro rezistenci i toleranci, což znamená, že obrana hostitele reaguje na tlak způsobený patogenem podle situace.



## 3 Myxomatóza

### 3.1 Specifikace

Virus myxomatózy je velký dvouvláknový DNA virus (Barcena et al. 2000) cihlovitého tvaru složený z nukleokapsidového jádra, tvořeného genomem o délce přibližně 163 kb., a proteinového obalu (Kerr and McFadden 2002). Jedná se o poxvirus (zařazení: čeleď *Poxviridae*; podčeleď *Chordopoxvirinae*; rod: *Leporipoxvirus*; (Stanford et al. 2007), *Poxviridae* je jediná čeleď DNA virů, které se autonomně replikují v cytoplasmě infikované buňky (Barry et al. 1995). Genom lemují koncové invertované repetiční (TIR – terminal inverted repeat) oblasti, které typicky obsahují malý počet genů, jejichž polohy a orientace jsou zrcadleny na protilehlých koncích genomu (Seet et al. 2003). Virus způsobuje nemoc zvanou myxomatóza – název získala složením řeckých slov *muxa* (mokvání) a *oma* (tumor) (Bertagnoli and Marchandeu 2015). Poprvé byl patogen popsán v Uruguay v roce 1896 Giuseppem Sanarellim.

Byly popsány dva subtypy tohoto viru: South America a California, které se přirozeně vyskytují ve svých hostitelích, kterými jsou u prvního typu králík lesní (*Sylvilagus brasiliensis*) – též známý jako tapeti a u druhého králík drobný (*Sylvilagus bachmani*; Best and Kerr 2000; Best et al. 2000; Pinheiro et al. 2016). U těchto hostitelů infekce trvá delší dobu a není na první pohled patrná (předpokladem je dospělý jedinec s plně vyvinutým imunitním systémem; Kerr a McFadden 2002). Při průniku do jiného, než přirozeného hostitele, má Californský kmen hyperakutní projev a jedinec zpravidla umírá do 1 týdne od nakažení s minimálními povrchovými příznaky (Bertagnoli and Marchandeu 2015). V konečné fázi jsou pozorovány křeče a kožní krvácení. Naopak zvíře nakažené South America hyne až o 3-7 dnů později, než jedinec nakažený Californským kmenem (Stanford et al. 2007). Třetí příbuzný virus nazývaný „Shope fibroma virus“ se vyskytuje u králíka východoamerického (*Sylvilagus floridanus*; Fenner and Woodroffe 1953). Tento virus nezpůsobuje těžké onemocnění a používá se k očkování (Kerr and McFadden 2002).

Existují dva klinické projevy myxomatózy (Best and Kerr 2000): „klasická“ myxomatóza – mukoidní nádory po těle, hnisající oči a výtoky z nosu a „amyxomatózní“ forma – zejména respirační problémy (Bertagnoli and Marchandeu 2015). V dnešní době se myxomatóza vyskytuje na 4 kontinentech – Severní a Jižní Amerika, Evropa, Austrálie (Stanford et al. 2007).

### 3.2 Možnosti přenosu

Klasická myxomatóza je přenášena hlavně krevsajícím hmyzem, zejména *Culex annulirostris* a *Anopheles annulipes* (ten se zároveň podílel na přenosu králíčího moru; Kerr and Best 1998). V Evropě

se stala významným přenašečem i blecha králíčí (*Spilopsyllus cuniculi*; Fenner and Chapple 1965). Další možností přenosu je přímý kontakt, kterým se přenáší převážně amyxomatózní forma (Farsang et al. 2003), u domácích králíků (domestikovaná forma králíka divokého (*Oryctolagus cuniculus*) je tento druh přenosu velice častý (Bertagnoli and Marchandeu 2015). Horizontální přenos je spojen s vysokou virulencí (viz. uvedeno výše), tudíž je zde předpoklad ustálení vyšší virulence v populaci.

Jedná se o pasivní přenos (Best et al. 2000; Kerr and McFadden 2002). Patogen se nereplikuje ve svém vektoru, ale využívá ho pouze k přenosu. Replikace probíhá až v cílovém organismu. Oba subtypy se v přirozeném hostiteli replikují v malém počtu, naopak u divokých králíků je dokázán masivní přepis genetické informace (Kerr and McFadden 2002). Celková míra přenosu je závislá na počtu virů pod kůží (tam, kde se setkává s vektorem; Bertagnoli a Marchandeu 2015).

### 3.3 Introdukce viru

Myxomatóza byla objevena v Jižní Americe u králíka lesního (*Sylvilagus brasiliensis*; Dwyer et al. 1990). V populaci je virus benigní (Kerr 2012). Na těle se jim objeví malé tumory (0,2-1cm) 6-12 den po inokulaci a zmizí za 2 - 6 týdnů. Virus v přirozené populaci zabijí pouze zřídka (nejčastěji mláďata, která se setkají s velkou infekční dávkou; Fenner and Marshall 1957).

Divoký králík (*Oryctolagus cuniculus*) byl introdukován člověkem na více než 800 ostrovů po celém světě (Flux and Fullagar 1992). V mediteránu je důležitý pro ekosystém – slouží jako potrava či spásač. V roce 1860 byl dovezen do Austrálie za účelem lovu (Kerr and McFadden 2002). Došlo však k jeho přemnožení a začal způsobovat velké ekonomické a zemědělské potíže (např. spásal trávu ovčím). V roce 1919 padl první návrh o možném snížení počtu populací, a to vypuštěním viru myxomatózy (\*Kerr and McFadden 2002; cit. dle Fenner and Ratcliffe 1965). Bylo potřeba vypustit takový kmen viru, který nebude příliš virulentní, jinak by se totiž nemusel v populaci uchytit (Kerr and Best 1998). Pokud by byl příliš virulentní, mohl by usmrtit populaci, ve které byl vysazen, dříve, než by se rozšířil dál (Gandon and Michalakis 2000). Probíhaly tedy experimenty s virulencí (Kerr and McFadden 2002) a nakonec byl v roce 1950 vypuštěn kmen SLS (standardní laboratorní kmen) známý též jako kmen Moses izolovaný v Brazílii (Stanford et al. 2007). Tento kmen je vysoce hyperakutní a řadí se do kategorie 1 (viz. dále v textu; Kerr 2012; Bertagnoli and Marchandeu 2015).

\*Kerr and Best (1998); cit. dle Bull and Mules (1944) tvrdí, že první pokusy o snížení populace v Austrálii i Evropě byly již v 30. letech 20. století. Vypuštěn byl kmen Moses, ale neuchytil se v populaci pravděpodobně z důvodu nedostatku krevsajících členovců. Další pokus o rozšíření se poté uskutečnil v 50. letech. Ostatní zdroje ale potvrzují, že prvotní vysazení proběhlo až v 50. letech 20. století a také

se shodují na kmenu SLS neboli kmen Moses (Dwyer et al. 1990; Best and Kerr 2000; Best et al. 2000; Stanford et al. 2007; Bertagnoli and Marchandeu 2015).

### 3.3.1 Myxomatóza v Austrálii

První rok od vypuštění zahynulo 99% populace, ale další rok už jen 90% (\*Dwyer et al. 1990; cit. dle Fenner and Ratcliffe 1965). Objevila se zde rapidní selekce ve prospěch méně virulentních kmenů (Best and Kerr 2000). Během několika let klesla virulence viru na střední hodnotu (vysvětleno níže), zatímco paralelně s tímto procesem rezistence králíků prudce vzrostla (Dwyer et al. 1990). Došlo k simultánním evolučním změnám v hostiteli i parazitovi. Do tohoto procesu byla zapojena přirozená selekce, která zvýhodňuje více geneticky odolné králíky. V tomto systému lze aplikovat hypotézu Červené královny. Králíci jakožto hostitele se snaží uniknout před svým parazitem (virem myxomatózy), a proto se musí neustále vyvíjet. V pokusu při sekvenování francouzských králíků, kteří v sobě měli přirozeně atenuované kmeny, bylo zjištěno 73 genetických modifikací oproti původnímu genomu (Morales et al. 2009). Poslední studie ukázali, že se virus vyvíjí s průměrnou mírou  $10^{-5}$  substitucí za rok – jeden z nejvíce se měnících DNA virů (Kerr et al. 2013).

Pro lepší klasifikaci došlo vědci k rozdělení kmenů viru do kategorií podle své virulence od 1 do 5 (Fenner and Marshall 1957). Stupeň 1 a 2 produkují akutní formy onemocnění a jsou obvykle fatální (Bertagnoli and Marchandeu 2015). Smrt nastává do 10-15 dnů po inokulaci. Hostitel je obvykle zabit dříve, než se parazit rozšíří do dalších hostitelů, a proto jsou tyto kmeny neschopné infikovat celou populaci (Dwyer et al. 1990). Stupeň 5 je naopak nejméně virulentní zabije méně než 50% nakažených (Best and Kerr 2000). Zároveň se vyznačuje nízkou mírou přenosnosti způsobenou malým množstvím patogena v kůži (Dwyer et al. 1990). Vyšší hustota parazitů v hostiteli zvyšuje možnost přenosu (Frank and Schmid-Hempel 2008).

V Austrálii se ustálil kmen se střední hodnotou virulence – tedy stupně 3. Jedná se o trade-off mezi rychlostí usmrcení jedince a možností přenosu do dalších hostitelů (Best and Kerr 2000). Po pěti letech od rozšíření, se při testování nenašly žádné stupně 1 a 2 (Fenner and Chapple 1965). S vysokou virulencí se můžeme setkat pouze lokálně na konkrétních místech, které jsou oddělené od ostatních populací (Dwyer et al. 1990). Převládnutím méně virulentního kmene zde nastala možnost selekce přirozeně rezistentních králíků, kteří postupně ovládli populaci (Best and Kerr 2000). Otázkou zůstává, zda tato koevoluce plyne k tzv. „neustálému zbrojení“ nebo nastane v systému rovnováha (Dwyer et al. 1990). Proběhly zde pokusy o zavedení vyššího stupně virulence pomocí blech (ty přenášejí více virulentní kmeny, než komáři), ale i tyto pokusy selhaly a opět se ustálil stupeň 3 (Bertagnoli and Marchandeu 2015).

### 3.3.2 Myxomatóza v Evropě

Informace o rozšíření viru v Evropě se rozcházejí. Na začátku 50. let byla dopravena do Francie i Velké Británie (Dwyer et al. 1990). Kerr and Best (1998) a Kerr (2012) tvrdí, že byl z Brazílie dovezen kmen do Švýcarska, kde došlo k vyšlechtění tzv. Lausannského kmene, který byl v létě 1952 vypuštěn v populaci králíků ve Francii. Jiný zdroj tvrdí, že ve Francii byl virus vypuštěn ilegálně (Bertagnoli and Marchandeu 2015) a dovezl ho vlastník pozemků, na němž se králíci vyskytovali (Stanford et al. 2007). Lausannský kmen byl zařazen do kategorie hyperakutní (stupeň 1) stejně jako SLS (Bertagnoli and Marchandeu 2015). V Británii byl virus objeven o 15 měsíců později než ve Francii s pravděpodobně pouze jedním místem vysazením, konkrétně the Bough Beech. Byl určen stejně virulentní jako Lausannský kmen (Muirhead-Thomson 1956; Fenner and Chapple 1965).

Průběh měla podobný jako v Austrálii, v prvních letech virus zdecimoval populace (Dwyer et al. 1990). Ve Francii byla úmrtnost mezi lety 1952-1955 90 až 98% (Arthur and Louzis 1988). V Británii byla mortalita v první letech dokonce až 99% (Kerr 2012). Po 9 letech od nákazy byly v Británii stále nalezeny kmeny 1. stupně a všeobecně menší výskyt stupně 5, než tomu bylo po uplynutí této konkrétní doby v Austrálii (Fenner and Chapple 1965). Avšak v roce 1976 byl i ve Velké Británii zaznamenán pokles mortality z původních 90-95% u kmene 3 klesla v roce 1976 na 21% (Dwyer et al. 1990). Ve Francii došlo k ustálení virulence na stupni 3 až 4 (Dwyer et al. 1990; Kerr 2012), zatímco ve Velké Británii stupně 2 až 3 (Fenner and Chapple 1965; Kerr 2012). Tento rozdíl je pravděpodobně způsoben vektorem, díky kterému se nemoc šířila (Fenner and Chapple 1965). Ve Francii se nemoc přenáší pomocí komárů i blech. Zatímco v Británii je hlavním přenašečem již dříve zmíněná blecha (*Spilopsyllus cuniculi*; Ross et al. 1989), která je schopna přenášet vysoce virulentní kmeny. Uvádí se, že přenos vysoce virulentních kmenů je způsoben životním stylem vektoru (Fenner and Chapple 1965). Blecha opustí hostitele většinou až po jeho smrti, tím se prodlužuje mezi nakažením prvního a nakažením dalšího hostitele. Zatímco komár může sát během 24 hodin např. 4 jedince (Arthur and Louzis 1988).

### 3.4 Projevy onemocnění

Způsobuje smrtelné onemocnění myxomatózu – systémové rozšíření viru a tvorba lézí (myxomů – mukózní kožní nádory; Best et al. 2000). Sekundární léze jsou důležité pro šíření viru. Projev nemoci je ovlivněn několika faktory: stavem imunitního systému, věkem, kondicí, teplotou okolí a nakonec i genetickou výbavou jedince (Kerr and Best 1998). Virus je detekovatelný již 24 hodin od průniku do těla a replikuje se v T-lymfocytech (Kerr and McFadden 2002). Převážně jsou napadeny T-lymfocytech parakortexu (Best et al. 2000), ale i jiných tkání (Kerr and McFadden 2002). Infekce vede k masivní redukci lymfocytů v lymfatických uzlinách.

Okolo 4. dne má králík lehčí zánět spojivek a vyšší teplotu (Kerr 2012). Virus již pronikl do odvodných lymfatických uzliny a navyšuje svůj počet (Kerr and Best 1998). Stav jedince se zhoršuje, objevuje se výtok z nosu a očí (Jeklova et al. 2008) a nastává systémové šíření pomocí T-lymfocytů. Virus napadá slezinu, plíce, varlata atd. (Kerr and Best 1998). Postupně vznikají léze v okolí uší, očí a po určité době začnou vznikat po celém těle. Úmrtí nastává obvykle během 17-28 dnů po nakažení středně virulentním kmenem (Best and Kerr 2000). Ne všechny kmeny myxomatózy jsou u divokých králíků letální (viz. amyxomatózní forma; Stanford et al. 2007). Jedinec nakažený virulentnějším kmenem zemře 9. až 12. den po nákaze (Pinheiro et al. 2016).

Patologie je nacházena převážně v lymfatických uzlinách a v kůži – změna orgánů je také patrná (Best et al. 2000). V epidermis dochází k proliferaci epiteliálních buněk a narušení struktury. (Kerr and McFadden 2002). Histologie ukazuje kombinaci buněčné proliferace a nekrózy v infikovaných tkáních (Best and Kerr 2000). Hlavním rysem infekce je apoptóza lymfocytů v mízních uzlinách (Best et al. 2000). Apoptické buňky kůže neobsahují žádné virové antigeny, ale původně sousedili s infikovanými buňkami. Virus lze také nalézt v endoteliálních buňkách malých cév a uvnitř velkých buněk označovaných jako myxoma buňky (Kerr and McFadden 2002).

Přesná příčina úmrtí jedince se neví, ale pravděpodobná možnost je úmrtí důsledkem sekundární infekce (Kerr and Best 1998; Best and Kerr 2000; Kerr and McFadden 2002), ve spojitosti s potlačením imunitního systému. Často jsou pozorováni původci sekundární infekce gram negativní bakterie, konkrétně *Pasteurella multocida* a *Bordetella bronchiseptica* (Bertagnoli and Marchandeanu 2015). Virus jako takový nezpůsobuje selhání orgánů (Kerr and Best 1998). Otázkou zůstává, zda by došlo k selhání orgánů, kdyby mohl virus působit déle a nehrozila by sekundární infekce. Ovšem pokud se jedná o vysoce virulentní kmen, smrt nastává i bez sekundární infekce (Kerr and McFadden 2002), což může být způsobeno právě selháním orgánů.

### 3.4.1 Boj proti hostitelově imunitě

Neustálý vývoj parazita a jeho hostitele má vliv na hostitelův vývoj imunitní soustavy a její komplexnost (Nash et al. 1999). Virus si vyvinul proteiny potřebné k manipulaci imunitní odpovědi (Stanford et al. 2007). Přibližně 28 genů viru myxomatózy kóduje proteiny, které mají potenciál být „imunomodulační“ nebo regulátory apoptózy (Kerr and McFadden 2002; Jeklova et al. 2008). Virus má typicky dvě strategie obrany proti hostitelově imunitě (Nash et al. 1999). Extracelulární – proteiny na povrchu buňky, které narušují obvyklou imunitní odpověď proti patogenu (dále se dělí na viroreceptory, virokiny a „viromitigators“) Intracelulární – virus nedovolí infikované buňce, aby na sebe upozornila imunitní systém či spustila svou apoptickou dráhu – dále lze dělit na inhibici apoptózy či ovlivňování povrchových receptorů.

První typem je extracelulární strategie. Ta je založena na manipulaci s hostitelovou imunitní odpovědí. Imunomodulátory viru můžeme rozdělit do 3 skupin (Kerr and McFadden 2002): viroceptory (MT1, M-T2, M-T7) – virem vytvořené receptory na povrchu buňky, které vycytávají cytokiny a brání jim tak v nasednutí na jejich pravé receptory, které by zpustili imunitní reakci (Nash et al. 1999); virokiny (Serp 1 and MGF) – sekretované napadenou buňkou, napodobují inhibitory či růstové faktory hostitelovi imunity (Kerr and McFadden 2002); „viromitigators“ (Serp 2, M11L, M-T2, MT-4, and MT-5) – mají antiapoptické účinky; povrchové proteiny, které inhibují makrofágy a lymfocyty (Manev and Genova 2016).

Druhý typ je založen na ovlivňování prezentace antigenů na povrchu buněk, či spuštění apoptické dráhy. Myxomatóza snižuje počet MHC I molekul na povrchu infikovaných buněk a počet MHC II v napadených lymfocytech (Best and Kerr 2000; Kerr and McFadden 2002). Regulací MHC I si zajišťuje nerozeznání infikované buňky imunitním systémem (Kerr and Best 1998). Podle studií jsou více ovlivňovány T-lymfocyty než B-lymfocyty (Jeklova et al. 2008). Ale zatím neexistuje studie o reakcích T a B lymfocytů na virus (Manev and Genova 2016). Apoptózu ovlivňuje 5 virem kódovaných proteinů (Nash et al. 1999). Pokud je hostitelova napadena, zpravidla sama spustí apoptickou dráhu (Stanford et al. 2007). Řízená buněčná smrt by znamenala uhynutí buňky a neschopnost viru se v ní replikovat (Kerr and Best 1998), proto se tomu virus snaží zabránit. Oba tyto způsoby obrany způsobují těžké imunosuprese, které vedou ke smrti způsobené sekundární infekcí (Manev et al. 2018).

Zvyšující se rezistence je spjata s imunizací po prodělané infekci. Délka trvání imunního stavu záleží na konkrétním jedinci (Kerr 1997). Uvádí se doba 12-24 měsíců po proděláním infekce (Marchandeanu et al. 2014). Během této doby může být jedince znovu infikován, avšak s lehčím průběhem (pokud se nejedná o silně virulentní kmeny). Určitý druh ochrany je předáván i z matky na potomstvo (Manev and Genova 2016). Imunizace mláďat je závislá na protilátkách od matky. Pokud samice přežila infekci vysoce virulentním kmenem, mláďata budou imunní po delší dobu, než pokud by jejich matka byla infikována méně virulentním kmenem (Fenner and Marshall 1954). Protilátky od matky nechrání zaručeně, ale ulehčují průběh nemoci (Manev and Genova 2016). Imunologická odpověď proti viru je zajištěna protilátkami IgM a IgG (tato navíc prostupuje z matky do potomka přes placentu), které se vyvinou (přízpůsobí) po kontaktu s virem (Kerr and McFadden 2002).

Základem rezistence jsou pravděpodobně lepší vrozené imunitní mechanismy, které poskytují silnější imunitní odpověď (Best and Kerr 2000; Manev and Genova 2016). Na vzniku rezistence se podílí polymorfismus na různých kritických genových lokusech, ovšem tyto lokusy nebyly identifikovány. Stále se neví genetická podstata rezistence u králíků divokých (Kerr and McFadden 2002; Bertagnoli and Marchandeanu 2015; Pinheiro et al. 2016), snižování virulence (Best and Kerr 2000) ani adaptace

imunitního systému (Kerr and McFadden 2002; Jeklova et al. 2008). Nejnovější článek autorů Alves et al. (2019) se věnuje změně genetické informace způsobené koevolucí s virem. Osekvenovali a porovnali genotypy jedinců z Austrálie, Francie a Velké Británie získaných v různých letech. Porovnáním určili několik alel, ve kterých došlo ke změnám pravděpodobně způsobené koevolucí. Poukazují však na to, že králíci se od 50. let 20. století nepotýkají pouze s myxomatózou, ale i s králičím morem (Rabbit haemorrhagic disease – RHD). Ten má samozřejmě také vliv na vývoj imunitního systému a je velice těžké rozlišit, které změny způsobila myxomatóza a které mor. Při porovnávání přišli na změny v alelách sousedících s geny pro CD96, FCRL3, IFN-a21A, and MHC I. Tvrdí, že změny v FCRL3, IFN-a21A jsou patrné ve vzorcích z Austrálie i Británie. Jako potvrzení zpětné vazby nechali vytvořit dvě izoformy IFN-a21A a měřili jejich antivirový potenciál v králičích buňkách. Obě izoformy narušili replikaci viru uvnitř buňky. Navíc zjistili, že izoformy IFN-A21A jsou pozitivně selektovány. Tento výzkum by mohl být v budoucnu průkopníkem pochopení vztahu králík-myxomatóza.

### 3.5 Možnosti imunizace

Obranou proti myxomatóze je očkování (Manev et al. 2018). Existují 2 typy vakcín – homologní a heterologní. Heterologní obsahuje „shope fibroma virus“ a zaručuje vysokou, ale krátkodobou ochranu. Králíci v chovech se imunizují pomocí této vakcíny (Barcena et al. 2000). Může se podávat od 28 dne života mláďete, lepší klinickou ochranu představuje interdermální injekce (viz. níže) (Bertagnoli and Marchandeanu 2015). Tento slabý kmen je možné podat i zvířeti s dýchacími problémy, bohužel oproti homologní chrání krátkodobě a neposkytuje obranu proti vysoce virulentním kmenům.

Homologní vakcinace se vyznačuje vpravením oslabeného původního kmene (South America nebo California) na který reaguje imunitní systém a vytvoří si protilátky (Manev et al. 2018). Není 100% bezpečná pro mladá zvířata (Bertagnoli and Marchandeanu 2015) a je účinná pouze u domácích králíků, nikoliv u divokých (Barcena et al. 2000). Existuje očkování dvojího typu: buď vakcína proti myxomatóze, nebo kombinovaná dávka proti myxomatóze a králičímu moru (Manev et al. 2018). Tato kombinace buď obsahuje oba oslabené kmene patogenu, nebo geneticky upravený virus myxomatózy, který může exprimovat i hlavní strukturní proteiny králičího moru. V České republice se nejčastěji očkuje kombinovanou vakcínou (osobní sdělení; MVDr. Hana Miškaninová, Veterina Beřkovic)

Injekce se aplikují buď do povrchové vrstvy kůže tzv. intradermální aplikace, subkutánní – neboli zanoření celé jehly do kůže a intramuskulární – do svalu (ta je nejméně vhodná; Manev et al. 2018). Různá podání vakcíny mohou vést k odlišným odpovědím imunitního systému. Očkovat divoké králíky je složité, protože injekce nepřichází v úvahu. Používají se tedy různé návady, které králík pozře – toto se používá v Evropě a Severní Americe (Barcena et al. 2000). Pokusy o vakcinaci neaktivním kmenem za účelem vytvoření protilátek selhaly, dokonce i pasivní podání protilátek injekcí selhalo (Kerr and

McFadden 2002). Jediné očkování, které funguje, je podání oslabeného živého kmene myxomatózy. Vakcinace není vždy 100% - z důvodu např. použití nekonvenčních způsobů podávání (u divokých králíků), nebo kvůli interferenci mezi vakcínou a přirozenými „antibodies“ (Manev et al. 2018)



## 4 Hýl mexický a *Mycoplasma gallisepticum*

### 4.1 Interagující organismy

*Mycoplasma gallisepticum* je bakterie třídy *Mollicutes* z čeledi *Mycoplasmataceae* (Stipkovits and Kempf 1996). Jedná se o parazita s minimálním objemem genetické informace a nedostatečně funkční buněčnou stěnou (Levisohn 2000). Tyto nedostatky ji dělají závislou na svých hostitelích, a proto je hostitelsky specifická (Dhondt et al. 2005). Je celosvětově rozšířená a kmeny se od sebe navzájem liší patogenitou, infekčností a přenosem (Levisohn 2000). Je známá kvůli způsobování chronických onemocnění (Grodio et al. 2013). Vyznačuje se vysokou variabilitou povrchových antigenů, které mění uvnitř hostitele, a je schopna takto utíkat před imunitním systémem.

*M. gallisepticum* je jedna z 23 mykoplasem známých u ptáků a celkově třetí, která se nachází u drůbeže (Dhondt et al. 2005). Původně infikovala pouze drůbež (kuřata, krůty), ale v 90. letech 20. století byla zaznamenána u hýla mexického (*Haemorrhous mexicanus*; Bonneaud et al. 2012). Pravděpodobná možnost přenosu na hýla byla skrz sdílený zdroj potravy s kuřaty v domácích chovech (Dhondt et al. 2005). O možném přenosu parazita se zmiňují i další autoři např. Bonneaud et al. (2012); Adelman et al. (2013). Zatím nebyl její výskyt zaznamenán u žádného savce ani člověka (Levisohn 2000). Nový kmen této mykoplasmy se rozšířil ve východní populaci hýlů mexických v Severní Americe (Hawley et al. 2010). Infekce byla také identifikována v některých amerických příbuzných druzích jako např. čížek žlutý (*Carduelis tristis* L.), hýl nachový (*C. purpureus* Gmelin), dlask žlutočelý (*Coccothraustes vespertinus* Cooper) a hýl křivčí (*Pinicola enucleator* L.) ovšem s nižší prevalencí, než v hýlovi mexickém (Hartup et al. 1998).

Hýl mexický (*Haemorrhous mexicanus*) je malý ptáček s hmotností okolo 20 g (Dhondt et al. 2005). Původně obýval suché oblasti do výšky 2000 m. n. m. v západních státech Severní Ameriky a Mexika (Faustino et al. 2004). Okolo roku 1940 byl dovezen jako domácí mazlíček na východní pobřeží (Elliott and Arbib 1953) – konkrétně na Long Island (Dhondt et al. 1998). Odtud se poté začal rozšiřovat i do volné přírody. Začaly vznikat populace, které byly schopné po nějaké době v zimních měsících migrovat za teplem (Dhondt et al. 2005). Jejich expanze je zapříčiněna globalizací a zároveň přivyknutím na život poblíž lidských sídel. V roce 1870 byl druh zanesen i na Havajské ostrovy. Dříve se obě populace (východní i západní) nemíchali, ovšem v dnešní době dochází k slabému genovému toku v rámci populací.

Živí se semínky a často navštěvují krmítka (Dhondt et al. 2005). Žijí samostatně, nebo v menších koloniích (Hosseini et al. 2004). Jsou neteritoriální a často mění svá hnízdiště. Samice může sedět na

snůšce až 6x do roka v období od března do července (Dhondt et al. 2005), ale úspěšně vylodí vejce maximálně 3x (Hosseini et al. 2004). Celý proces, od snůšky po vylodění mladých jedinců z hnízda trvá přibližně 33 dnů. Během hnízdního období nejsou ptáci nijak nepřátelští, avšak kontakt mezi jedinci je omezen. Sezóna rozmnožování je ovlivněna globálními podmínkami (teplotou, dostatkem potravy). Mimo hnízdní období se nachází u zdrojů potravy (např. i v chovech drůbeže, u budov; Dhondt et al. 2005). Po skončení sezóny se začínou shlukovat do hejn a působí jako větší societa (Hosseini et al. 2004). Okolo ledna velikost skupiny kulminuje a za následující 2 měsíce se začínou tvořit páry a soužití je u konce.

#### 4.2 Vývoj koevoluce mezi hýlem a mykoplasma

První záznam o mykoplasmě u hýla mexického byl pořízen v Marylandu v roce 1994 (Ley et al. 1996). Dále se objevovali jedinci se zánětem očí (slzením či úplným zalepením) ve Washingtonu, severní Virginii (Dhondt et al. 1998). Přibližně za 3 roky od objevení se z onemocnění stala epidemie, která postihla celé východní pobřeží Severní Ameriky (Dhondt et al. 2005). Ve volné přírodě od roku 1994 do 1998 zemřelo více než dvě stě milionů ptáků (Nolan 1998).

Ke sledování rozšiřování nemoci pomohli hlavně obyvatelé měst, kteří se zapojili do veřejného projektu (Dhondt et al. 2005). Náplň projektu spočívala ve sledování ptáků v okolí, sbírání dat a následně jejich odesílání vědcům. V rámci infekce došlo k rapidnímu poklesu počtu jedinců a tento výkyv se objevoval sezónně. V následujících letech byl pozorován rychlý vývoj rezistence uvnitř hostitele, přičemž frekvence rezistentních jedinců vzrostla z 20% na 80% během 12 let po propuknutí (Bonneaud et al. 2011). Na západ Severní Ameriky se choroba dostala až v roce 2002 (Dhondt et al. 2006), ovšem měla mnohem menší dopad, než na východě. Pro východní pobřeží byla typická daleko větší prevalence. Obě populace hýlů se liší genetickými znaky včetně variability v MHC komplexu – což je typické pro oddělené populace, které se nemísí (Adelman et al. 2013). Různá míra prevalence může být také způsobena výskytem několika různých kmenů mykoplasmy, které způsobují odlišnou míru projevu nemoci (Grodio et al. 2012). Podle mnoha studií je reakce hostitele na MG vysoce individuální. Zároveň mají vliv na dynamiku nemoci i sezónní změny (Hosseini et al. 2004)

#### 4.3 Možnosti přenosu

Bakterie *Mycoplasma gallisepticum* se přenáší buď přímým kontaktem, nebo nepřímo např. skrz nakaženou potravu, kontaminované země (Dhondt et al. 2005). U drůbeže je největším problémem vertikální přenos z rodičů na potomstvo (Levisohn 2000), ale u hýlů zatím selhaly veškeré pokusy o dokázání vertikálního přenosu (Hartup and Kollias 1999). Prevalence kolísá sezónně s viditelným nárůstem na podzim a v zimě (Dhondt et al. 1998). Během zimního období dynamika parazita zaznamenává dva vrcholy – podzimní vrchol (září-říjen) a zimní (leden-březen; Faustino et al. 2004).

Podzimní vrchol jsou takzvané podzimní epidemie, pravděpodobně způsobené tím, že parazit napadá susceptibilní mláďata narozená toho samého roku (mladí jedinci jsou náchylnější v důsledku ještě zcela nevyvinutého imunitního systému; Altizer et al. 2004).

Dalším faktor, který přispívá k podzimní prevalenci, je shlukování se ke zdrojům potravy (krmítka, drůbeží chovy; Altizer et al. 2004). Častý kontakt jedinců vede ke snadnějšímu přenosu. Jako alternativa je také uváděno přepeřování na konci léta, což je pro jedince energeticky náročné. Jedinec není na chvíli tepelně izolován a zároveň zde působí trade off mezi energií vloženou do výměny peří a do imunitního systému. Tento trade off byl dokázán u vrabce domácího (*Passer domesticus*; Moreno-Rueda 2010). Jedinec, který byl nakažen parazitem, přepeřoval déle a zároveň přepeřující jedinec vykazoval nižší míru imunitní odpovědi.

#### 4.4 Projevy onemocnění

Infekce má různé projevy (Levisohn 2000), které jsou patné na první pohled i z větší vzdálenosti (Dhondt et al. 2005). Primárním habitatem mykoplasmy v rámci hostitele jsou membrány dýchacích cest, urogenitální trakt, oči a klouby (Levisohn 2000). Jedná se převážně o extracelulární parazity, ale můžeme je najít i intracelulárně. V hostiteli se rozvíjí mírný až těžký zánět z očí – výtok z očí, zarudnutí (Hosseini et al. 2004) Způsobuje respirační problémy, otoky očí, redukce vaječné produkce (Dhondt et al. 2005). Do 4-5 dnů od nákazy se nemoc projevuje na očích – jedinci začnou slzet (Kollias et al. 2004). Závažnost výtoků z očí se mění v průběhu onemocnění (Adelman et al. 2013). Infekce trvá několik týdnů – v průběhu se většinou stále zhoršují příznaky (Altizer et al. 2004).

Při studiu nemoci bylo zjištěno, že infekce ovlivňuje váhu jedince (Kollias et al. 2004). Při laboratorních podmínkách, kde mají ptáci neomezený přístup k potravě a nejsou tudíž v „potravinovém stresu“, se infekce na hmotnosti neprojevuje (Adelman et al. 2013). Naopak ve volné přírodě je projev závislý na příslušnosti ke konkrétní populaci. Některé populace po nákaze tloustnou a některé naopak hubnou. Výsledky infekce jsou různé a odvíjejí se od konkrétního hostitele; pták buď zemře, stane se přenašečem nebo se vyléčí (Kollias et al. 2004). Vysoká úmrtnost hýlů ve volné přírodě je zapříčiněna stresem např. kvůli nedostatku potravy, náletům dravců, nestabilní teplotě. Proto jedinci v rámci pokusů obvykle přežívají (mají stabilní podmínky).

Onemocnění nezabije každého infikovaného ptáka. Existují jedinci, kteří se dokážou vyléčit. Hýl však zůstává nadále náchylný a může onemocnět znovu (Hosseini et al. 2004). Při jakémkoli další infekci je průběh lehčí a nemoc odezní rychleji. Jedná se tedy o jakousi dočasnou imunitu. Dalším možným způsobem vypořádání se s parazitem může být asymptomatická forma onemocnění. Jedinec je bez příznaku onemocnění, i když se parazit v těle hostitele vyskytuje, a stává se tak přenašečem nákazy.

Přenášet nákazu mohou i těžce infikovaní ptáci, kteří by ve volné přírodě nepřežili (Grodio et al. 2012). Těmto jedincům umožňuje dlouhodobější přežití umělé dokrmování ptáků v krmítkách.

Nolan (1998) se zabýval změnami jedinců, kteří přežili infekci. Samci hýlů jsou na hlavě, hřbetě a prsou barevně zbarveni (od bledé až do sytě červené). Červená barva značí kvalitního samce, který má dobré podmínky pro život. Červenější samci jsou více preferováni samice k páření (Hill and Montgomerie 1994). Ovšem jedinci, kteří se zotavili z nákazy mykoplasmou, se vyznačují červenějším zbarvením. Vybízí se zde otázka, zda budou přeživší více preferováni k páření, než individua, která se s infekcí nesetkala.

#### 4.5 Interakce s imunitním systémem

U hýlů, stejně jako u drůbeže, se patogen vyznačuje indukcí prozánětlivé odpovědi na úrovni systémové i lokální, včetně produkce prozánětlivých cytokinů, lokální infiltrace lymfocytů a neutrofilních granulocytů a vyvolání horečky (Adelman et al. 2013). Všechny tyto uvedené způsoby poškozují buňky hostitele. Manipulací s hostitelovým imunitním systémem nastává několik systémových změn v imunitních vlastnostech např. v počtu leukocytů v krvi, produkci protilátek (Grodio et al. 2012). Mykoplasma izolovaná ze vzorků posbíraných v letech (1994-2015) ukazuje vysokou variabilitu povrchových lipoproteinů, fenotypovou plasticitu a genomové změny (Ley et al. 2016). Porovnáním vzorků, které byly odebírány po dobu 20 let, bylo zjištěno, že hostitel odpovídá rezistencí na neustále se zvyšující virulenci patogena (Gates et al. 2018). Tato rychlá adaptace hostitele naznačuje, že nemoc pravděpodobně vyvolala silný selekční tlak na hostitelskou populaci. Tato hypotéza je dále podpořena vysokou mírou úmrtnosti pozorované ve volné přírodě od propuknutí infekce.

Konkrétně např. vhlA, který se nachází na povrchu bakterie, a jeho antigenová variabilita pomáhá patogenu unikat před protilátkami vytvořené hostitelem (Grodio et al. 2013). Ke změně variant genu dochází i bez detekce protilátek v okolí a brání tak systému reagovat a tvořit správně působící protilátky. To vede ke vzniku chronického zánětu. Stále nevíme zcela přesně, jak funguje imunitní systém hostitele v rámci odpovědi na mykoplasmu (Vinkler et al. 2018). Několik studií ukázalo, že je odpověď proti patogenu spojená s hematologickými změnami; avšak fyziologické mechanismy, které umožňují zvířatům snášet infekci, jsou zatím nejasné (Adelman et al. 2013). Podle výzkumu od (Bonneaud et al. 2012) hraje roli nejen mutace v získané imunitní odpovědi, ale i mutace v odpovědi vrozené.

Je dokázáno, že jsou potřeba reciproké změny, aby byla koevoluce úspěšná (Bonneaud et al. 2018). Jeden z mechanismů variability rezistence a tolerance u zvířat zahrnuje rovnováhu mezi výhodami a nevýhodami zánětlivé odpovědi (Adelman et al. 2013). Pokud bude odpověď moc silná, hostitel se zbaví parazita, ale zároveň výrazně poškodí sám sebe. Obratlovci jsou schopni míru zánětlivosti

ovlivňovat buď nižší produkcí prozánětlivých cytokinů, nebo vyšší produkcí protizánětlivých ligandů. Objevením mechanismů rezistence by se daly následně vytvářet další ekologické modely. Koevoluce parazita hraje roli v eko-evolučních procesech včetně epidemiologické dynamiky a evoluce sexuálního rozmnožování (Bonneaud et al. 2018).

## Závěr

Tato bakalářská práce se věnuje koevoluci hostitele a parazita, která je velice významná ekologii. Studium koevoluce nám umožňuje pochopit přizpůsobování se parazitů svým hostitelům a naopak vznik obranných mechanismů v rámci hostitele v průběhu evoluce. Použité modely (konkrétně gene for gene a matching allele) vychází z určitých předpokladů a jejich konkrétní aplikace v přirozených populacích je složitá. Cílem mnohých studií je najít všeobecný vzorec, který by nám umožnil koevoluci předpovídat. Dle mého názoru není možné systémy hostitel-parazit generalizovat na takovou úroveň, aby se dal model univerzálně aplikovat. A toto si zdůvodňuji například: omezeným dostatkem zdrojů, migrací, způsobem života hostitele (jinak se bude chovat parazit, který se bude vyskytovat v početné populaci, a jinak parazit u samotářského druhu). Myslím si, že ekologické vlivy jsou nezanedbatelné, leč je téměř nemožné, je do obecných vzorců zahrnout.

Pro tuto práci jsem si vybrala dva modely. Prvním je systém králík divoký a virus myxomatóza. Tato koevoluce je uváděna v mnoha článcích jako ukázkový příklad vzniku obranného mechanismu vůči infekci. Od umělého vysazení v Austrálii uběhlo již více než 60 let, ale doposud se stále neví, jaký je způsob rezistence. A přesto, že se jedná o rezistenci, která by podle předpokladu měla vést k vyšší virulenci, je dokázáno, že se virulence postupně snižuje. Nižší virulence zároveň odporuje předpokladu pro horizontální přenos parazita. V tomto případě to může být například způsobeno vektorem, kterým je v Austrálii komár. Výskyt středně virulentní hodnoty je spojen s komárem, zatímco vyšší virulentní kmeny, jsou přenášeny blechou. Doposud není známo, jaké změny proběhly v králičím imunitním systému. Myslím si, že tyto nedostatky informací pramení ze složitějších možností výzkumu. V dnešní době je možné osekvenovat si téměř jakýkoli genom, což samozřejmě před 20 lety bylo možné také, ale trvalo to značně déle a cena byla také výrazně vyšší. Nehledě k tomu, že se sekvenační zařízení stále zlepšují a klesá jejich chybovost. Myslím si, že k výzkumu evoluce imunitní odpovědi by výrazně přispělo porovnání genotypů jedinců před nákazou a po naze (stejně postupuje i Alves et al. (2019)). Vytipovala bych si konkrétní pozměněná místa a následně si nasimulovala jejich transkripci. Výsledné komponenty bych poté porovnávala v jejich funkčnosti.

Dle mého názoru není myxomatóza zanedbatelné onemocnění, alespoň ne ve střední Evropě. Chovatelé králíků pravidelně očkují své jedince proti nemoci. Podle zprávy Ministerstva zemědělství 2018 se v České republice chová přibližně 5 303 000 králíků (Ministerstvo zemědělství 2018). Na jedince vychází očkovací dávka na 20 Kč (osobní sdělení; MVDr. Hana Miškaninová, Veterina Beřkovice). Při každoročním očkování budou náklady ve výši 106 060 000 Kč, což není zanedbatelná částka. Výskyt viru v chovu je nebezpečný, jelikož k přenosu myxomatózy stačí pouze dotek (viz.

kapitola Možnosti přenosu). V ohrožení jsou narozená mláďata, která nelze do určitého věku očkovat. Tato mláďata jsou stále v kleci s matkou a jejich kontakt je nevyhnutelný. Zjištěním principu rezistence, by se teoreticky dala vyšlechtit odolná plemena, která by se nemusela očkovat.

Druhý systém je hýl obecný a jeho parazit *Mycoplasma gallisepticum*. Zajímavostí tohoto systému je zvyšující se rezistence hýlů a zároveň zvyšující se virulence parazita. Tento fenomén je mnohem mladší než výše zmíněná myxomatóza, čemuž odpovídá i počet získaných informací o vývoji onemocnění v určitých časových úsecích. Osobně mě zaujal těžší průběh nemoci u východní populace. Tento jev si vysvětluji jako výsledek kolonizace. Ze západu byla na východ dovezena určitá genotypová variabilita, která neměla možnost se migrací obohatit (fungoval zde takzvaný efekt zakladatele). Celá populace tedy sdílela určitou sadu genů, a proto ji kmen mykoplasmy, jemuž shodou genotypů odpovídala, mohl zdevastovat. Naopak západní populace snížila prevalenci parazita právě vyšší genovou variabilitou. Ovšem stejně jako v první systému zatím nebylo nezjištěno, jak funguje rezistence a jaká probíhá změna v imunitním systému.

Když oba systémy porovnám, liší se především ve vývoji virulence. U myxomatózy se setkáme se sníženou virulencí oproti původní, naopak mykoplasma svou virulenci stále zvyšuje. U mykoplasmy tomu nic neodporuje, přenáší se horizontálně, nepotřebuje vektora k přenosu. Naopak u myxomatózy byl předpoklad vyšší virulence vyvrácen i přes to, že se také přenáší horizontálně. Osobně nevím, čím je tento jev zapříčiněn. Zda se bude snažit virus změnit svůj způsob přenosu na vertikální. Ovšem, to by vůči němu hostitel nesměl reagovat rezistencí. Jelikož v tomto případě má minimální šanci se do potomstva dostat, když ho organismus netoleruje a naopak se ho snaží vypudit.

Ve své diplomové práci se chci věnovat vzniku rezistence a vývoji imunitní odpovědi u hýla mexického a *Mycoplasmy gallisepticum*.

## Literatura

- Adelman JS, Kirkpatrick L, Grodio JL, Hawley DM (2013) House finch populations differ in early inflammatory signaling and pathogen tolerance at the peak of *Mycoplasma gallisepticum* infection. *The American Naturalist* 181:674–689
- Agrawal AF, Lively CM (2002) Infection genetics: gene-for-gene versus matching- alleles models and all points in between
- Alizon S, Hurford A, Mideo N, Van Baalen M (2009) Virulence evolution and the trade-off hypothesis: history, current state of affairs and the future: Virulence evolution and trade-off hypothesis. *Journal of Evolutionary Biology* 22:245–259. doi: 10.1111/j.1420-9101.2008.01658.x
- Altizer S, Davis AK, Cook KC, Cherry JJ (2004) Age, sex, and season affect the risk of mycoplasmal conjunctivitis in a southeastern house finch population. *Canadian Journal of Zoology* 82:755–763. doi: 10.1139/z04-050
- Alves JM, Carneiro M, Cheng JY, et al (2019) Parallel adaptation of rabbit populations to myxoma virus. *Science* 363:1319–1326. doi: 10.1126/science.aau7285
- Araújo MS, Bolnick DI, Layman CA (2011) The ecological causes of individual specialisation: The causes of individual specialisation. *Ecology Letters* 14:948–958. doi: 10.1111/j.1461-0248.2011.01662.x
- Arthur CP, Louzis C (1988) A review of myxomatosis among rabbits in France
- Barcena J, Morales M, Vazquez B, et al (2000) Horizontal transmissible protection against myxomatosis and rabbit hemorrhagic disease by using a recombinant myxoma virus. *Journal of Virology* 74:1114–1123. doi: 10.1128/JVI.74.3.1114-1123.2000
- Barry M, Lee SF, Boshkov L, Mcfadden G (1995) Myxoma virus induces extensive CD4 downregulation and dissociation of p56lck in infected rabbit CD4 T lymphocytes. *J VIROL* 69:9
- Bertagnoli S, Marchandea (2015) Myxomatosis. 549–556
- Best A, White A, Boots M (2008) Maintenance of host variation in tolerance to pathogens and parasites. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 105:20786–20791. doi: 10.1073/pnas.0809558105
- Best A, White A, Boots M (2014) The coevolutionary implications of host tolerance: coevolution of tolerance. *Evolution* 68:1426–1435. doi: 10.1111/evo.12368
- Best SM, Collins SV, Kerr PJ (2000) Coevolution of host and virus: cellular localization of virus in myxoma virus infection of resistant and susceptible European rabbits. *Virology* 277:76–91. doi: 10.1006/viro.2000.0505
- Best SM, Kerr PJ (2000) Coevolution of host and virus: the pathogenesis of virulent and attenuated strains of myxoma virus in resistant and susceptible European rabbits. *Virology* 267:36–48. doi: 10.1006/viro.1999.0104
- Bonneaud C, Balenger SL, Russell AF, et al (2011) Rapid evolution of disease resistance is accompanied by functional changes in gene expression in a wild bird. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 108:7866–7871. doi: 10.1073/pnas.1018580108



- Bonneaud C, Balenger SL, Zhang J, et al (2012) Innate immunity and the evolution of resistance to an emerging infectious disease in a wild bird. *Molecular Ecology* 21:2628–2639. doi: 10.1111/j.1365-294X.2012.05551.x
- Bonneaud C, Giraudeau M, Tardy L, et al (2018) Rapid antagonistic coevolution in an emerging pathogen and its vertebrate host. *Current Biology* 28:2978-2983.e5. doi: 10.1016/j.cub.2018.07.003
- Bonneaud C, Mazuc J, Gonzalez G, et al (2003) Assessing the cost of mounting an immune response. *The American Naturalist* 161:367–379. doi: 10.1086/346134
- Boots M, Best A, Miller MR, White A (2009) The role of ecological feedbacks in the evolution of host defence: what does theory tell us? *Philos Trans R Soc Lond B Biol Sci* 364:27–36. doi: 10.1098/rstb.2008.0160
- Boots M, Bowers RG (1999) Three mechanisms of host resistance to microparasites—avoidance, recovery and tolerance—show different evolutionary dynamics. *Journal of Theoretical Biology* 201:13–23. doi: 10.1006/jtbi.1999.1009
- Boots M, Haraguchi Y (1999) The evolution of costly resistance in host-parasite systems. 12
- Bovers R, Boots M, Begon M (1994) Life-history trade-offs and the evolution of pathogen resistance: competition between host strains. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* 257:247–253. doi: 10.1098/rspb.1994.0122
- Bremermann HJ, Pickering J (1983) A game-theoretical model of parasite virulence. *Journal of Theoretical Biology* 100:411–426. doi: 10.1016/0022-5193(83)90438-1
- Bronstein JL (2009) The evolution of facilitation and mutualism. *Journal of Ecology* 97:1160–1170. doi: 10.1111/j.1365-2745.2009.01566.x
- Bruno JF, Stachowicz JJ, Bertness MD (2003) Inclusion of facilitation into ecological theory. *Trends in Ecology & Evolution* 18:119–125. doi: 10.1016/S0169-5347(02)00045-9
- \*Bull LB, Mules MW (1944) An investigation of myxomatosis cuniculi with special reference to the possible use of the disease to control rabbit populations in Australia. *Journal of the Council for Scientific and Industrial Research, Australia* 17:
- Chamberlain SA, Bronstein JL, Rudgers JA (2014) How context dependent are species interactions? *Ecology Letters* 17:881–890. doi: 10.1111/ele.12279
- Cheney KL, Côté IM (2005) Mutualism or parasitism? The variable outcome of cleaning symbioses. *Biology Letters* 1:162–165. doi: 10.1098/rsbl.2004.0288
- Clay K, Kover PX (1996) The Red Queen hypothesis and plant/pathogen interactions. *Annual Review of Phytopathology* 34:29
- Clayton DH, Moyer BR, Bush SE, et al (2005) Adaptive significance of avian beak morphology for ectoparasite control. *Proceedings of the Royal Society B: Biological Sciences* 272:811–817. doi: 10.1098/rspb.2004.3036
- Davies PA (1980) Pathogen or commensal? *Archives of disease in childhood* 55:169–170. doi: 10.1136/adc.55.3.169

- Dhondt AA, Altizer S, Cooch EG, et al (2005) Dynamics of a novel pathogen in an avian host: Mycoplasmal conjunctivitis in house finches. *Acta Tropica* 94:77–93. doi: 10.1016/j.actatropica.2005.01.009
- Dhondt AA, Badyaev AV, Dobson AP, et al (2006) Dynamics of mycoplasmal conjunctivitis in the native and introduced range of the host. *EcoHealth* 3:95–102. doi: 10.1007/s10393-006-0019-7
- Dhondt AA, Tessaglia DL, Slothower RL (1998) Epidemic mycoplasmal conjunctivitis in house finches from eastern North America. *Journal of Wildlife Diseases* 34:265–280. doi: 10.7589/0090-3558-34.2.265
- Duffy MA, Forde SE (2009) Ecological feedbacks and the evolution of resistance. *Journal of Animal Ecology* 78:1106–1112. doi: 10.1111/j.1365-2656.2009.01568.x
- Dwyer G, Levin SA, Buttel L (1990) A simulation model of the population dynamics and evolution of myxomatosis. *Ecological Monographs* 60:423–447. doi: 10.2307/1943014
- Ebert D (1994) Virulence and local adaptation of a horizontally transmitted parasite. *Science* 265:1084
- Elliott JJ, Arbib RB (1953) Origin and status of the house finch in the eastern United states
- Ewald PW (1983) Host-parasite relations, vectors, and the evolution of disease severity. *Annual Review of Ecology and Systematics* 14:465–485
- Farsang A, Makranszki L, Dobos-Kovács M, et al (2003) Occurrence of atypical myxomatosis in Central Europe: Clinical and virological examinations. *Acta Veterinaria Hungarica* 51:493–501. doi: 10.1556/AVet.51.2003.4.7
- Faustino CR, Jennelle CS, Connolly V, et al (2004) *Mycoplasma gallisepticum* infection dynamics in a house finch population: seasonal variation in survival, encounter and transmission rate. *Journal of Animal Ecology* 73:651–669. doi: 10.1111/j.0021-8790.2004.00840.x
- Fenner F, Chapple PJ (1965) Evolutionary changes in myxoma virus in Britain. *J Hyg (Lond)* 63:175–185
- Fenner F, Marshall ID (1957) Comparison of the virulence for european rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) of strains of myxoma virus recovered in the field in Australia, Europe and America. 46
- Fenner F, Marshall ID (1954) Passive immunity in myxomatosis of the european rabbit (*Oryctolagus cuniculus*): the protection conferred on kittens born by immune does. *Journal of Hygiene* 52:321–336. doi: 10.1017/S0022172400027534
- \*Fenner F, Ratcliffe FN (1965) *Myxomatosis*. University Press, Cambridge [England
- Fenner F, Woodroffe GM (1953) The pathogenesis of infectious myxomatosis: the mechanism of infection and the immunological response in the European rabbit (*Oryctolagus cuniculus*). *Br J Exp Pathol* 34:400–411
- Flux JEC, Fullagar PJ (1992) World distribution of the rabbit *Oryctolagus funiculus* on islands. *Mammal Review* 22:151–205. doi: 10.1111/j.1365-2907.1992.tb00129.x

- Frank SA (1992) A kin selection model for the evolution of virulence. *Proceedings: Biological Sciences* 250:195–197
- Frank SA (1996) Models of parasite virulence. *The Quarterly Review of Biology* 71:37–78
- Frank SA (1994) Recognition and polymorphism in host-parasite genetics. 11
- Frank SA, Schmid-Hempel P (2008) Mechanisms of pathogenesis and the evolution of parasite virulence. *Journal of Evolutionary Biology* 21:396–404. doi: 10.1111/j.1420-9101.2007.01480.x
- Gandon S, Michalakis Y (2000) Evolution of parasite virulence against qualitative or quantitative host resistance. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* 267:985–990. doi: 10.1098/rspb.2000.1100
- Gates DE, Valletta JJ, Bonneaud C, Recker M (2018) Quantitative host resistance drives the evolution of increased virulence in an emerging pathogen. *Journal of Evolutionary Biology* 31:1704–1714. doi: 10.1111/jeb.13366
- Grodio JL, Hawley DM, Osnas EE, et al (2012) Pathogenicity and immunogenicity of three *Mycoplasma gallisepticum* isolates in house finches (*Carpodacus mexicanus*). *Veterinary Microbiology* 155:53–61. doi: 10.1016/j.vetmic.2011.08.003
- Grodio JL, Ley DH, Schat KA, Hawley DM (2013) Chronic *Mycoplasma conjunctivitis* in house finches: Host antibody response and *M. gallisepticum* VlhA expression. *Veterinary Immunology and Immunopathology* 154:129–137. doi: 10.1016/j.vetimm.2013.05.010
- Grosberg RK (2000) Mate selection and the evolution of highly polymorphic self/nonself recognition genes. *Science* 289:2111–2114. doi: 10.1126/science.289.5487.2111
- Hansen MHH, Koella JC (2003) Evolution of tolerance: the genetic basis of a host's resistance against parasite manipulation. *Oikos* 102:309–317. doi: 10.1034/j.1600-0706.2003.12537.x
- Hartup BK, Kollias GV (1999) Field Investigation of *Mycoplasma gallisepticum* Infections in House Finch (*Carpodacus mexicanus*) Eggs and Nestlings. *Avian Diseases* 43:572–576. doi: 10.2307/1592658
- Hartup BK, Mohammed HO, Kollias GV, Dhondt AA (1998) Risk factors associated with mycoplasmal conjunctivitis in house finches. doi: doi.org/10.7589/0090-3558-34.2.281
- Hawkins BA, Cornell HV, Hochberg ME (1997) Predators, parasitoids, and pathogens as mortality agents in phytophagous insect populations. *Ecology* 78:2145–2152. doi: 10.1890/0012-9658(1997)078[2145:PPAPAM]2.0.CO;2
- Hawley DM, Dhondt KV, Dobson AP, et al (2010) Common garden experiment reveals pathogen isolate but no host genetic diversity effect on the dynamics of an emerging wildlife disease. *Journal of Evolutionary Biology* 23:1680–1688. doi: 10.1111/j.1420-9101.2010.02035.x
- Hill GE, Montgomerie R (1994) Plumage colour signals nutritional condition in the house finch. *Proc R Soc Lond B* 258:47–52. doi: 10.1098/rspb.1994.0140

- Hörger AC, Ilyas M, Stephan W, et al (2012) Balancing selection at the tomato RCR3 guard gene family maintains variation in strength of pathogen defense. *PLoS Genetics* 8:e1002813. doi: 10.1371/journal.pgen.1002813
- Hosseini PR, Dhondt AA, Dobson A (2004) Seasonality and wildlife disease: how seasonal birth, aggregation and variation in immunity affect the dynamics of *Mycoplasma gallisepticum* in house finches. *Proceedings of the Royal Society of London Series B: Biological Sciences* 271:2569–2577. doi: 10.1098/rspb.2004.2938
- Hui C, Minoarivelo HO, Landi P (2018) Modelling coevolution in ecological networks with adaptive dynamics. *Mathematical Methods in the Applied Sciences* 41:8407–8422. doi: 10.1002/mma.4612
- Janzen DH (1980) When is it coevolution? *Evolution* 34:611–612. doi: 10.1111/j.1558-5646.1980.tb04849.x
- Jeklova E, Leva L, Matiasovic J, et al (2008) Characterisation of immunosuppression in rabbits after infection with myxoma virus. *Veterinary Microbiology* 129:117–130. doi: 10.1016/j.vetmic.2007.11.039
- Kerr PJ (1997) An ELISA for epidemiological studies of myxomatosis: persistence of antibodies to myxoma virus in European rabbits (*Oryctolagus cuniculus*). *Wildl Res* 24:53. doi: 10.1071/WR96058
- Kerr PJ (2012) Myxomatosis in Australia and Europe: A model for emerging infectious diseases. *Antiviral Research* 93:387–415. doi: 10.1016/j.antiviral.2012.01.009
- Kerr PJ, Best SM (1998) Myxoma virus in rabbits. 256–268
- Kerr PJ, McFadden G (2002) Immune responses to myxoma virus. 229–246
- Kerr PJ, Rogers MB, Fitch A, et al (2013) Genome scale evolution of myxoma virus reveals host-pathogen adaptation and rapid geographic spread. *J Virol* 87:12900–12915. doi: 10.1128/JVI.02060-13
- Kollias GV, Sydenstricker KV, Kollias HW, et al (2004) Experimental infection of house finches with *Mycoplasma gallisepticum*. *Journal of Wildlife Diseases* 79–86
- Koskella B, Lively CM (2009) Evidence for negative frequency-dependent selection during experimental coevolution of a freshwater snail and a sterilizing trematode. *Evolution* 63:2213–2221. doi: 10.1111/j.1558-5646.2009.00711.x
- Kubinak JL, Potts WK (2013) Host resistance influences patterns of experimental viral adaptation and virulence evolution. *Virulence* 4:410–418. doi: 10.4161/viru.24724
- Larsson K, van der Jeugd HP, van der Veen IT, Forslund P (1998) Body size declines despite positive directional selection on heritable size traits in a barnacle goose population. *Evolution* 52:1169–1184. doi: 10.1111/j.1558-5646.1998.tb01843.x
- Leung TLF, Poulin R (2008) Parasitism, commensalism and mutualism: exploring the many shades of symbioses
- Levisohn S (2000) Avian mycoplasmosis (*Mycoplasma gallisepticum*). 18

- Ley DH, Berkhoff JE, McLaren JM (1996) *Mycoplasma gallisepticum* Isolated from house finches (*Carpodacus mexicanus*) with conjunctivitis. *Avian Diseases* 40:480–483. doi: 10.2307/1592250
- Ley DH, Hawley DM, Geary SJ, Dhondt AA (2016) House finch (*Haemorhous mexicanus*) conjunctivitis, and *Mycoplasma* spp. isolated from North American wild birds, 1994–2015. *Journal of Wildlife Diseases* 52:669–673. doi: 10.7589/2015-09-244
- Lipsitch M, Nowak MA, Ebert D, May RM (1995) The population dynamics of vertically and horizontally transmitted parasites. *Proceedings: Biological Sciences* 260:321–327
- Lively CM (1999) Migration, virulence, and the geographic mosaic of adaptation by parasites. *The American Naturalist* 153:S34–S47. doi: 10.1086/303210
- Lively CM (2010) A review of red queen models for the persistence of obligate sexual reproduction. *Journal of Heredity* 101:S13–S20. doi: 10.1093/jhered/esq010
- Llaurens V, Whibley A, Joron M (2017) Genetic architecture and balancing selection: the life and death of differentiated variants. *Mol Ecol* 26:2430–2448. doi: 10.1111/mec.14051
- Ma W, Dong FFT, Stavrinides J, Guttman DS (2006) Type III effector diversification via both pathoadaptation and horizontal transfer in response to a coevolutionary arms race. *PLoS Genetics* 2:e209. doi: 10.1371/journal.pgen.0020209
- Manev I, Genova K (2016) Immune reactions against the rabbit myxoma virus. *Trakia Journal of Sciences* 190–194. doi: 10.15547/tjs.2016.02.012
- Manev I, Genova K, Lavazza A, Capucci L (2018) Humoral immune response to different routes of myxomatosis vaccine application. *World Rabbit Sci* 2018 2018:149–154. doi: 10.4995/wrs.2018.7021
- Marchandean S, Pontier D, Guitton J-S, et al (2014) Early infections by myxoma virus of young rabbits (*Oryctolagus cuniculus*) protected by maternal antibodies activate their immune system and enhance herd immunity in wild populations. *Vet Res* 45:26. doi: 10.1186/1297-9716-45-26
- Miller MR, White A, Boots M (2005) The evolution of host resistance: tolerance and control as distinct strategies. *Journal of Theoretical Biology* 236:198–207. doi: 10.1016/j.jtbi.2005.03.005
- Møller AP, Erritzøe J (1996) Parasite virulence and host immune defense: host immune response is related to nest reuse in birds. *Evolution* 50:2066–2072. doi: 10.1111/j.1558-5646.1996.tb03592.x
- Morales M, Ramirez MA, Cano MJ, et al (2009) Genome comparison of a nonpathogenic myxoma virus field strain with its ancestor, the virulent Lausanne strain. *Journal of Virology* 83:2397–2403. doi: 10.1128/JVI.02189-08
- Moreno-Rueda G (2010) Experimental test of a trade-off between moult and immune response in house sparrows *Passer domesticus*: Trade-off between moult and immune response. *Journal of Evolutionary Biology* 23:2229–2237. doi: 10.1111/j.1420-9101.2010.02090.x
- Muirhead-Thomson RC (1956) The part played by woodland mosquitoes of the genus *Aedes* in the transmission of myxomatosis in England. *J Hyg (Lond)* 54:461–471

- Nash P, Barrett J, Cao J-X, et al (1999) Immunomodulation by viruses: the myxoma virus story. *Immunological Reviews* 168:103–120. doi: 10.1111/j.1600-065X.1999.tb01286.x
- Nolan PM (1998) Sex, size, and plumage redness predict house finch survival in an epidemic. 6
- Paige KN (1992) Overcompensation in response to mammalian herbivory: from mutualistic to antagonistic interactions. *Ecology* 73:2076–2085. doi: 10.2307/1941456
- Pinheiro A, Neves F, Lemos de Matos A, et al (2016) An overview of the lagomorph immune system and its genetic diversity. *Immunogenetics* 68:83–107. doi: 10.1007/s00251-015-0868-8
- Raberg L, Sim D, Read AF (2007) Disentangling genetic variation for resistance and tolerance to infectious diseases in animals. *Science* 318:812–814. doi: 10.1126/science.1148526
- Ross J, Tittensor AM, Fox AP, Sanders MF (1989) Myxomatosis in farmland rabbit populations in England and Wales. *Epidemiol Infect* 103:333–357
- Roy BA, Kirchner JW (2000) Evolutionary dynamics of pathogen resistance and tolerance. *Evolution* 54:51–63. doi: 10.1111/j.0014-3820.2000.tb00007.x
- Salles P, Bredeweg B, Araujo S, Neto W (2002) Qualitative models of interactions between two populations. in: Cerri SA, Gouardères G, Paraguaçu F (eds) *Intelligent Tutoring Systems*. Springer Berlin Heidelberg, Berlin, Heidelberg, pp 1009–1009
- Sanjak JS, Sidorenko J, Robinson MR, et al (2018) Evidence of directional and stabilizing selection in contemporary humans. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 115:151–156. doi: 10.1073/pnas.1707227114
- Seet BT, Johnston J b., Brunetti CR, et al (2003) Poxviruses and immune evasion. *Annual Review of Immunology* 21:377. doi: 10.1146/annurev.immunol.21.120601.141049
- Shykoff (1998) Local adaptation in host–parasite systems. *Heredity* 81:361–470
- Sorci G (2013) Immunity, resistance and tolerance in bird–parasite interactions. *Parasite Immunology* 35:350–361. doi: 10.1111/pim.12047
- Stanford MM, Werden SJ, McFadden G (2007) Myxoma virus in the European rabbit: interactions between the virus and its susceptible host. *Veterinary Research* 38:299–318. doi: 10.1051/vetres:2006054
- Stipkovits L, Kempf (1996) Mycoplasmoses in poultry. 1495–1525
- Toor J, Best A (2016) Evolution of host defense against multiple enemy populations. *The American Naturalist* 187:308–319. doi: 10.1086/684682
- Vinkler M, Leon AE, Kirkpatrick L, et al (2018) Differing house finch cytokine expression responses to original and evolved isolates of *Mycoplasma gallisepticum*. *Front Immunol* 9. doi: 10.3389/fimmu.2018.00013
- Westwood JH, Yoder JI, Timko MP, dePamphilis CW (2010) The evolution of parasitism in plants. *Trends in Plant Science* 15:227–235. doi: 10.1016/j.tplants.2010.01.004

Woolhouse MEJ, Haydon DT, Antia R (2005) Emerging pathogens: the epidemiology and evolution of species jumps. *Trends Ecol. Evol*

Woolhouse MEJ, Taylor LH, Haydon DT (2001) Population biology of multihost pathogens. *Science* 292:1109–1112. doi: 10.1126/science.1059026

Woolhouse MEJ, Webster JP, Domingo E, et al (2002) Biological and biomedical implications of the co-evolution of pathogens and their hosts. *Nature Genetics* 32:569–577

Yang C, Liang W, Cai Y, et al (2010) Coevolution in action: disruptive selection on egg colour in an avian brood parasite and its host. *PLoS ONE* 5:e10816. doi: 10.1371/journal.pone.0010816

## Internetové zdroje

Ministerstvo zemědělství (2018) Situační a výhledová zpráva - králíci. Praha. URL: <http://eagri.cz/public/web/file/612397/Kralici.pdf>