

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

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Botanika



**Bc. Štěpánka Žárová**

Dermatofyty izolované ze srsti volně žijících hlodavců  
Dermatophytes isolated from the hair of free-living rodents

Diplomová práce

Vedoucí závěrečné práce: Mgr. Adéla Čmoková

Praha 2020

## **Prohlášení**

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

V Praze, 1. 6. 2020

.....  
Štěpánka Žárová

## Poděkování

Na tomto místě bych ráda poděkovala všem těm, kteří mi pomohli během psaní této práce. Na prvním místě bych ráda poděkovala své školitelce Mgr. Adéle Čmokové za její iniciativu, laskavé vedení, vstřícné předávání zkušeností a za to, s jakou samozřejmostí jsem se na ni mohla kdykoli s čímkoli obrátit.

Děkuji MUDr. Vítu Hubkovi, Ph.D. a RNDr. Miroslavu Kolaříkovi, Ph.D. za možnost konzultací a jejich přínosné podněty a rady. Poděkování za pomoc a poskytnuté rady při práci v Laboratoři genetiky a metabolismu hub Mikrobiologického ústavu Akademie věd ČR patří také RNDr. Miladě Chudičkové, Mgr. Karlu Švecovi, Ing. Soně Kajzrové, RNDr. Aleně Novákové, CSc., Mgr. Františku Sklenářovi, Mgr. Tereze Veselské a Bc. Aleně Gabrielové. Děkuji také Mgr. Tomáši Větrovskému, Ph.D. za možnost využít vznikající databázi GlobalFungi.

Doc. Mgr. Ondřeji Koukolovi, Ph.D., který mě k mykologii přivedl, vděčím za jiný úhel pohledu a za možnost prezentovat postup práce na seminářích kryptogamologické sekce katedry botaniky, které mi poskytly cennou zpětnou vazbu a prostor pro odbornou diskusi. Z katedry botaniky Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy dále děkuji RNDr. Aleně Kubátové, CSc. a Bc. Petře Seifertové za jejich ochotnou pomoc. Ráda bych poděkovala také prom. biol. Karlu Prášilovi, CSc. za jeho povzbudivý přístup a nakažlivé nadšení.

Za pomoc se sběrem vzorků děkuji Mgr. Lucii Novákové, Mgr. Tereze Matějkové, doc. Mgr. Pavlu Stopkovi, Ph.D., prof. RNDr. Miloši Macholánovi, CSc. a Mgr. Zuzaně Hiadlovské. Děkuji e-infrastruktuře MetaCentrum CESNET za poskytnutí výpočetní kapacity.

Velký dík patří mým nejbližším, kteří mi pomáhali jak duševní podporou a odreagováním, tak cennými radami při vypracování práce.

## Abstrakt

Dermatofyty (řád Onygenales, Ascomycota) jsou mikroskopické vláknité keratinofilní houby, které mohou způsobovat kožní infekce známé jako dermatofytózy. Nejdiverzifikovanější a zároveň nepříliš prozkoumaný rod *Arthroderma* prošel v nedávné době revizí (Míková 2018), která položila základy pro další výzkum. Tento rod zahrnuje zejména druhy s předpokládaným rezervoárem v půdě. Nedostatek informací o jejich ekologii a častá izolace některých druhů ze srsti volně žijících savců (především hlodavců) by však mohly vypovídat o silné vazbě na hostitele. Hlodavci by tak mohli představovat skrytý rezervoár těchto druhů.

Pro účely této práce jsem vybrala tři ekologicky rozdílné druhy hlodavců: myš domácí, myšiči lesní a norníka rudého. Izoláty jsem získala ze stěrů srsti asymptomatických jedinců, které jsem kultivovala na selektivním mediu. Získané kmeny (n = 30) jsem následně molekulárně identifikovala. Na základě tří vysoce variabilních úseků DNA (ITS, *tubb* a *tefla*) jsem izoláty zařadila do fylogenetické analýzy vycházející z monografie rodu *Arthroderma* (Míková 2018). Dále jsem charakterizovala fenotyp vybraných izolátů s použitím morfologických a fyziologických dat včetně schopnosti rozkládat keratin a produkovat siderofory. U některých kmenů jsem na základě zjištěných MAT genů za pomoci nově navržených primerů úspěšně navodila tvorbu pohlavního stadia.

Spektrum izolovaných dermatofytů se lišilo mezi druhy volně žijících hlodavců. Nižší diverzita druhů byla zjištěna u synantropní myši domácí a izolovaných kmenů bylo celkově méně. U hlodavců z volné přírody se vyskytovaly jiné druhy a diverzita byla vyšší. Celkově se podařilo identifikovat osm druhů rodu *Arthroderma*, z nichž čtyři nebyly dosud popsány. Nejvíce izolátů (n = 17) náleželo v této práci nově navrženému druhu *Arthroderma* sp. 16. Výhradní izolace tohoto druhu ze srsti hlodavců nasvědčuje silné vazbě na tyto hostitele. Ačkoli byl druh získán z asymptomatických jedinců a nebyl schopný růst při teplotě 37 °C, je možné, že napadá pouze oslabené jedince např. během hibernace nebo na distálních částech těla a díky dlouhodobé koevoluci nezpůsobuje infekce u zdravých jedinců. Keratinolytická aktivita a produkce sideroforů se mezi druhy signifikantně lišily, ale nezávisle na jejich příslušnosti k tradičním ekologickým skupinám (geofilní, zoofilní, antropofilní).

**Klíčová slova:** *Arthroderma*, geofilní dermatofyty, izolace kmenů, keratinolýza, MAT geny, polyfázická taxonomie, vícegenová fylogenetická analýza, volně žijící hlodavci

## Abstract

Dermatophytes (order Onygenales, Ascomycota) are microscopic filamentous keratinophilic fungi that can cause skin infections known as dermatophytosis. The most diverse but not very studied genus *Arthroderma* has been revised recently (Míková 2018) which was essential for further research. This genus comprises mostly species with a supposed reservoir in soil. Lack of information about their ecology and frequent isolation of some species from the hair of free-living mammals (mainly rodents) may testify a strong host association. Rodents could thus represent the hidden reservoir of this species.

For this thesis, I have chosen three ecologically distinct rodent species: *Mus musculus*, *Apodemus flavicollis*, and *Clethrionomys glareolus*. I obtained the material by brushing the hair of asymptomatic individuals and used this material for cultivation on selective medium. I identified the isolates of dermatophytes (n = 30) using molecular methods. I used sequences of three highly variable loci (ITS, *tubb* a *tefla*) to incorporate these isolates in the phylogenetic analysis based on the monography of the genus *Arthroderma* (Míková 2018). I characterized the phenotype of selected strains based on morphological and physiological data including the ability to utilize keratin and the production of siderophores. The detection of mating types using newly designed primers led to the induction of the sexual stage in some of the strains.

The spectrum of isolated dermatophytes differed between the species of free-living rodents. Lower diversity of species was observed in synanthropic *Mus musculus* and fewer strains were isolated. Different species occurred among rodents living in nature and the diversity was higher. In total, eight species of the genus *Arthroderma* were identified, four of which are yet undescribed. Most of the isolates (n = 17) represent newly proposed species *Arthroderma* sp. 16. Exclusive isolation of this species from the hair of rodents suggests a strong association with these hosts. Although the isolates were obtained from asymptomatic individuals and they were not able to grow at 37 °C, this species may infect weakened individuals only e.g. during hibernation or on distal body parts and thanks to long-term coevolution do not cause infection in healthy individuals. Keratinolytic ability and production of siderophores differed significantly among species, independently on their traditional ecological grouping (geophilic, zoophilic, anthropophilic).

**Key words:** *Arthroderma*, geophilic dermatophytes, isolation of strains, keratinolysis, mating type genes, polyphasic taxonomy, multigene phylogenetic analysis, free-living rodents

# Obsah

1. ÚVOD .....	1
1.1. Dermatofyty .....	1
1.2. Taxonomické změny .....	1
1.3. Vazba na hostitele .....	3
1.3.1. Volně žijící obratlovci .....	4
1.3.2. Hlodavci .....	4
1.4. Biologická aktivita dermatofytů a keratinolýza .....	7
1.5. Rozmnožování dermatofytů .....	8
2. CÍLE .....	9
3. METODIKA .....	10
3.1. Materiál .....	10
3.2. Izolace a kultivace .....	11
3.3. Identifikace izolátů .....	11
3.3.1. Extrakce DNA .....	11
3.3.2. PCR amplifikace .....	12
3.3.3. Purifikace PCR produktů .....	13
3.3.4. Sekvence DNA .....	14
3.4. Fylogenetická analýza .....	14
3.5. Analýza fenotypu .....	15
3.5.1. Amplifikace MAT genů a indukce pohlavního stadia .....	15
3.5.2. Makromorfologie .....	16
3.5.3. Mikromorfologie .....	16
3.6. Testy biologické aktivity .....	16
3.6.1. Změny pH při keratinolýze .....	16
3.6.2. Měření keratinolytické aktivity, kvantifikace sideroforů .....	17
3.7. Statistické zpracování dat .....	17
4. VÝSLEDKY .....	18
4.1. Izolované kmeny dermatofytů .....	18
4.2. Fylogenetická analýza .....	18
4.3. Analýza fenotypu .....	23
4.3.1. Amplifikace MAT genů a indukce pohlavního stadia .....	23
4.3.2. Makromorfologie .....	24

4.3.3. Mikromorfologie .....	24
4.4. Charakterizace druhů.....	26
4.5. Testy biologické aktivity .....	45
5. DISKUSE .....	48
5.1. Dermatofyty izolované z hlodavců .....	48
5.2. Fylogenetická analýza rodu <i>Arthroderma</i> .....	49
5.3. Charakterizace vybraných druhů rodu <i>Arthroderma</i> .....	50
5.4. Problematika tradiční klasifikace dermatofytů .....	52
5.5. Keratinolýza a biologická aktivita dermatofytů .....	54
6. ZÁVĚR.....	56
7. ZDROJE .....	57
8. PŘÍLOHY.....	64
8.1. Informace o chycených hlodavcích.....	64
8.2. Kmeny použité v diplomové práci .....	66
8.3. Fylogenetické stromy .....	76
8.4. Morfologická data .....	84
8.5. Změny pH při inkubaci se zdrojem keratinu .....	88

# 1. ÚVOD

## 1.1. Dermatofyty

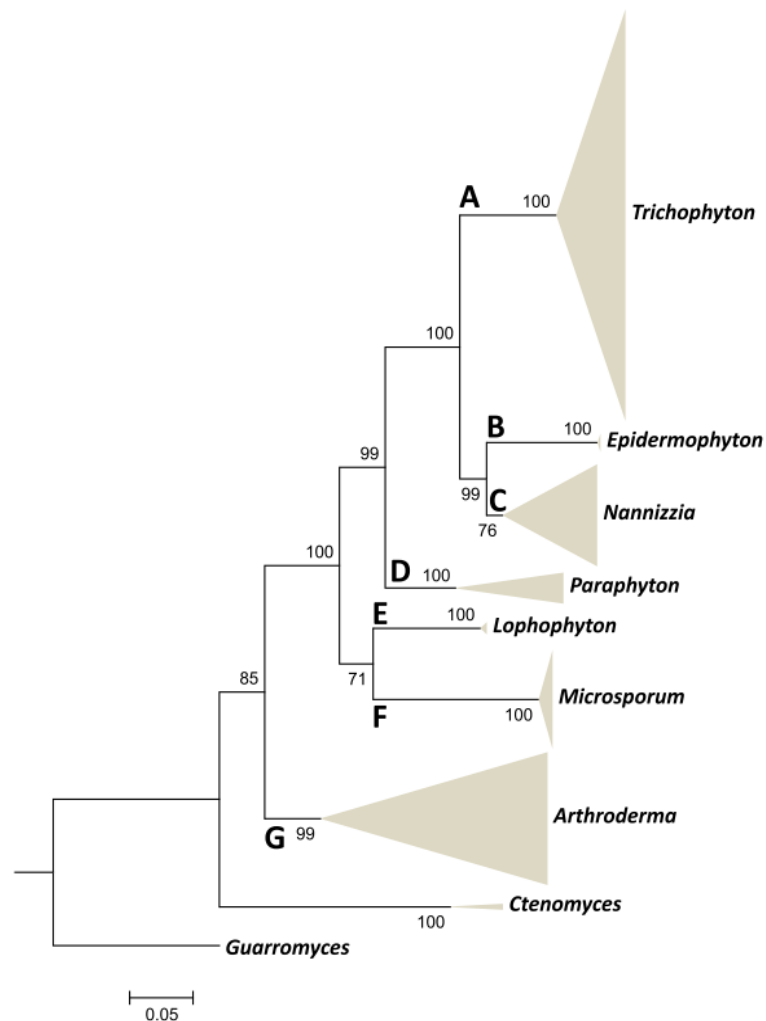
Dermatofyty jsou mikroskopické vláknité houby z řádu Onygenales, čeledi *Arthrodermataceae* (Ascomycota, Pezizomycotina), které jsou schopné rozkládat keratin (Gräser et al. 1999). Tato vlastnost umožnila přechod některých druhů od saprofytického k parazitickému způsobu života, kdy napadají kůži a kožní deriváty nejčastěji ptáků a savců včetně člověka. Způsobují tak infekce nazývané dermatofytózy, které patří mezi nejčastější kožní onemocnění člověka (Hayette & Sacheli 2015).

Tradičně se dermatofyty dělí na základě ekologie do tří skupin: geofilní, zoofilní a antropofilní (Georg 1960). Za evolučně původní jsou považovány geofilní dermatofyty, které mají rezervoár v půdě a příležitostně napadají obratlovce včetně člověka (Brasch & Gräser 2005; Weitzman & Summerbell 1995). Postupnou adaptací na kůži a kožní deriváty obratlovců se předpokládá vznik druhů zoofilních (Hameed et al. 2017). Rezervoárem této skupiny jsou obratlovci, z nichž se infekce často přenáší na člověka. Antropofilní dermatofyty se pak specializovaly na člověka coby primárního hostitele. Příslušnost druhu k ekologické skupině však nesouvisí s jeho fylogenetickým postavením, k adaptaci na hostitele došlo v různých rodech nezávisle na sobě. Geofilní druhy v dnešním pojetí jsou řazeny do rodů *Arthroderma*, *Paraphyton* a *Nannizzia*, zoofilní druhy spadají do rodů *Lophophyton*, *Microsporium* a *Trichophyton*, antropofilní druhy nacházíme v rodech *Trichophyton* a *Epidermophyton* (Obr. 1).

## 1.2. Taxonomické změny

Nomenklatura a taxonomie skupiny dermatofytů prošly v uplynulých letech mnoha změnami, které znesnadňují interpretaci výsledků předchozích studií a možnost jejich porovnání. Většina nových druhů byla v počátcích studia dermatofytů popisována na základě morfologických znaků (Sabouraud 1910). Ukázalo se však, že se geneticky identické kmeny dermatofytů jednoho druhu často morfologicky liší a navíc jsou v kulturách proměnlivé v čase (Brilhante et al. 2005; Faggi et al. 2001). Na základě morfologického konceptu druhu tak vzniklo velké množství jmen (Georg 1957; Sabouraud 1910), která byla posléze s příchodem molekulární éry synonymizována (de Hoog et al. 2017; Gräser et al. 1999). Zároveň bylo v minulosti nepohlavní (anamorfa) a pohlavní (teleomorfa) stadium životního cyklu houby z důvodu leckdy výrazně odlišné morfologie pojmenováváno odlišnými jmény. V roce 2012

byla duální nomenklatura zrušena (McNeill et al. 2012) a do praxe se začalo zavádět pravidlo „One fungus, one name“ (jedno jméno pro jednu houbu) (de Hoog et al. 2015, 2017).



**Obr. 1** Maximum likelihood fylogenetický strom čeledi *Arthrodermataceae* vytvořený na základě ITS regionu rDNA, části genu pro LSU rDNA, *TUB* a sekvence 60S ribozomálního proteinu L10. Převzato z de Hoog et al. 2017.

Zatímco ve většině případů výše popsané změny vedly k redukci počtu druhů, v některých případech došlo naopak k nárůstu počtu uznávaných rodů a řadě přesunů druhů mezi nimi. To se týká zejména rodů *Paraphyton*, *Nannizzia* a *Arthroderma* (de Hoog et al. 2017). Například v minulosti ze srsti hlodavců nejčastěji izolovaný druh *Trichophyton terrestre* se posléze ukázal být komplexem několika druhů, v dnešním pojetí se jedná o fylogeneticky dobře oddělené geofilní druhy *Arthroderma insingulare*, *A. lenticulare* a *A. quadrifidum*, zatímco *T. terrestre* zůstává samostatným druhem. Ten by měl být nově zařazen také do rodu *Arthroderma* pod jménem *A. terrestre* (Hainsworth et al. 2020, v přípravě), které budu v této práci dále používat. Ke zvýšení počtu uznávaných druhů došlo

také v případě původně jediného druhu *Trichophyton mentagrophytes*, v němž nebyly současné druhy odlišovány, případně byly označovány jako jeho variety. Jednalo se např. o *T. mentagrophytes* var. *granulosum*, *T. mentagrophytes* var. *mentagrophytes* (v dnešním pojetí jsou oba tyto dříve rozlišované poddruhy považovány za *T. mentagrophytes*), *T. mentagrophytes* var. *interdigitale* (dnešní *T. interdigitale*, tedy antropofilní druh), *T. mentagrophytes* var. *erinacei* (dnešní *T. erinacei*) a *T. mentagrophytes* var. *quinckeanum* (dnešní *T. quinckeanum*) (Beguin et al. 2012; Chollet et al. 2015; de Hoog et al. 2017; Gräser et al. 2000; Nenoff et al. 2007). Stejně tak dnes již samostatné zoofilní druhy *T. benhamiae* a *T. simii* byly dříve považovány za další dvě pohlavní stádia náležící druhu *T. mentagrophytes* pod jmény *A. benhamiae* a *A. simii* (de Hoog et al. 2017).

### 1.3. Vazba na hostitele

Síla vazby dermatofytů na hostitele by měla souviset s jejich ekologickou klasifikací: antropofilní druhy jsou přímo vázané na člověka (např. *T. rubrum*, *T. tonsurans*), zoofilní druhy více či méně specificky napadají různé druhy obratlovců. Například *Trichophyton erinacei* je úzce spjat s ježky (Morris & English 1969), zatímco druh *Microsporum canis* nejčastěji napadá kočky (hlavní hostitel), ale relativně časté jsou též infekce dalších druhů savců, např. psů a koní (Chermette et al. 2008). Jiné druhy dermatofytů jsou tak málo specifické, že je obtížné určit, kdo je jejich hlavním hostitelem (např. *T. mentagrophytes*) (Chermette et al. 2008). Můžeme se tedy domnívat, že jejich rezervoár, tedy místo, kde se vyskytují v největší míře a odkud se šíří dále, doposud nebyl objeven. Toto by mohlo platit také pro druhy klasifikované jako geofilní.

Znakem ukazujícím na vzájemnou adaptaci může být asymptomatická přítomnost dermatofyta, kterou pozorujeme u na hostitele silně vázaných zoofilních druhů, např. *M. canis* u koček (Khosravi 1996) nebo *T. benhamiae* u morčat (Kupsch et al. 2017). Přítomnost takových druhů dermatofytů se projevuje většinou pouze u mladých či imunitně oslabených hostitelů (Chermette et al. 2008; Donnelly et al. 2000; Khosravi 1996; Romano et al. 1997). Asymptomatictí jedinci jsou však důležitými vektory, které napomáhají šíření dermatofytů (Romano et al. 1997). Pokud se infekce projeví, symptomy u hlavního hostitele bývají mírné, nezávažné, avšak chronické (to platí i pro antropofilní dermatofyty), zatímco infekce způsobené geofilními či zoofilními druhy u jiných zvířat bývají akutní, vysoce závažné (tedy vyvolávají silnou imunitní odpověď naivního hostitele), ale relativně snadno léčitelné (Chermette et al. 2008).

### 1.3.1. Volně žijící obratlovci

Na rozdíl od hospodářských a domácích zvířat není spektrum dermatofytů u většiny volně žijících obratlovců zatím známé. Nejčastěji u nich nacházíme druhy klasifikované jako geofilní, jde především o druhy rodu *Arthroderma* (např. *A. curreyi*, *A. quadrifidum*, *A. lenticulare* a *A. insingulare*) nebo druhy rodu *Nannizzia* (například *N. gypsea*) (Chabasse et al. 1987; Hubálek et al. 1979; Kubo et al. 1990; Papini et al. 2008). Vzácně se u volně žijících obratlovců setkáváme i s dermatofyty známými z klinických dat. Tyto druhy jsou však častěji izolovány ze zvířat asociovaných s člověkem, která přicházejí s lidmi do bližšího kontaktu (Romano et al. 1997; Rostami et al. 2010; Ziółkowska et al. 2015). Výjimku představuje druh *Trichophyton erinacei*, jehož hlavním hostitelem jsou volně žijící ježci (především ježek západní, *Erinaceus europaeus*) (Morris & English 1969). K infekci člověka tímto druhem dermatofyta však častěji dochází přenosem z jedinců chovaných v domácnostech (především ježka bělobřichého, *Atelerix albiventris*) (Drira et al. 2015; Perrier & Monod 2015; Weishaupt et al. 2014).

Stejně jako u hospodářských zvířat jsou i u volně žijících obratlovců dermatofyty často nalézány bez klinických příznaků (Nardoni et al. 2009; Papini et al. 2008). Některé z izolovaných geofilních druhů pravděpodobně mají rezervoár v půdě a jejich přítomnost na povrchu obratlovců je čistě náhodná. Jsou to druhy nalézané u obratlovců s nízkou frekvencí, které můžeme pokládat za kontaminaci z prostředí, jako tomu bylo při průzkumu spektra houbových patogenů divokých prasat (Mancianti et al. 1997). English et al. uvedli, že geofilní druh „*T. terrestre*“ z volně žijících savců izolovali často, ale tyto výsledky nezaznamenali s tím, že tato houba není patogenní, ve francouzské studii tento druh také nezapočítávali (English 1969; Mariat et al. 1976). Na druhou stranu v případě studie provedené na drobných savcích ve Francii byla přítomnost tohoto druhu tak častá, že autoři možnost kontaminace vyloučili a považují některé savce za přenašeče či hostitele tohoto druhu (Chabasse et al. 1987).

### 1.3.2. Hlodavci

Z hlediska přítomnosti dermatofytů a možné asociace s nimi se jeví zajímavými především hlodavci. Z tabulky 1 je patrné, že např. zástupci rodu *Arthroderma* byli izolováni ze všech zkoumaných skupin savců, ale společně se zajícovci a šelmami jsou hlodavci jedinou skupinou, z nichž byly izolovány i všechny další vypsány rody dermatofytů. Specifikem tohoto druhově nejbohatšího řádu savců, které může být zajímavé pro výskyt dermatofytů, je

rozdílná ekologie jednotlivých druhů hlodavců. Některé druhy žijí ve volné přírodě, kde přicházejí do přímého kontaktu s půdou, v níž se vyskytuje široké spektrum keratinofilních hub. Jiné druhy jsou synantropní a preferují blízkost lidských sídel, což může vést k častějšímu kontaktu s domestikovanými zvířaty i s člověkem, kteří mohou hostit odlišné spektrum patogenních druhů.

Ze srsti hlodavců bylo izolováno široké spektrum dermatofytů, zahrnující pro obratlovce vzácné druhy i druhy známé z klinických dat (např. *T. mentagrophytes*, *M. canis*) (Gallo et al. 2005a; Mantovani et al. 1982; Papini et al. 2008). Hlodavci jsou považováni za hlavního hostitele druhu *T. quinckeanum* (dříve *T. mentagrophytes*) způsobujícího myši favus (Beguin et al. 2012; Blank 1957; Donnelly et al. 2000; Uhrlaß et al. 2018). Vzácně jej nacházíme také v půdě neasociované s hlodavci, jeho ekologie je tedy zatím nejasná (Evolceanu et al. 1963). Hlodavci pravděpodobně hostí také druh *T. mentagrophytes*, jehož rezervoár je doposud neznámý a který nalézáme u mnoha zřejmě náhodných hostitelů (např. koček, psů) (Chollet et al. 2015). V 60. letech byla v Československu pozorována přímá závislost lidské dermatofytózy způsobené druhem *T. mentagrophytes* na vývoji populace divokých myší (ovlivněné epidemií tularémie a silnými dešti) (Chmel et al. 1967; Kleibl 1963). Stejně tak byla prokázána nákaza tímto druhem přeneseným z polních myší (rod *Apodemus*) u 57 zemědělců, kteří na poli mlátili žito (Umnova & Fomenko 1960).

**Tab. 1** Skupiny volně žijících savců, které byly zkoumány z hlediska přítomnosti dermatofytů, a rody dermatofytů, které u nich byly nalezeny. Příslušnost izolovaných druhů k rodům vychází ze současné taxonomie včetně zařazení dřívějšího druhového komplexu *T. terrestre* do rodu *Arthroderma*. Čísla v tabulce jsou odkazy na citované studie, vysvětlivky jsou pod čarou.

Skupina savců	<i>Microsporium</i>	<i>Trichophyton</i>	<i>Arthroderma</i>	<i>Nannizzia</i>	<i>Paraphyton</i>
<b>hlodavci</b>	19,25	1-3,5,10-16,19,20,25,28	6,11-13,17,19,20,25,28	1-3,5,9,10,13,15-17,19,20,25,28	1-3,15,17,19,25
<b>zajícovci</b>	24,26,30	6,12,19,24,30	4,12,19,20,24,30	19,24,30	2,24
<b>šelmy</b>	22	6,12,18,21,22	6,12,19,21	10,22	2
<b>hmyzožravci</b>		10,11,14,15,19,20	6,11,17,19,20	9,10,15	11
<b>kopytníci</b>		6,12,19,23,27,29	6,12,19,23		
<b>vačnatci</b>		1,2,11	11		2,11
<b>letouni</b>	8	8	17	7	

Zdroje: 1. Menges et al. 1957, 2. Kaplan et al. 1958, 3. McKeever et al. 1958 4. Dawson 1963, 5. Taylor et al. 1964, 6. Alteras et al. 1966, 7. English 1966, 8. Grose & Marinkelle 1966, 9. English & Southern 1967, 10. English 1969, 11. Smith et al. 1969, 12. Knudtson & Robertstad 1970, 13. Houin et al. 1972, 14. Chmel et al. 1975, 15. Mariat et al. 1976, 16. English & Bayley 1978, 17. Hubálek et al. 1979, 18. Knudtson et al. 1980, 19. Mantovani et al. 1982, 20. Chabasse et al. 1987, 21. Kubo et al. 1990, 22. Mancianti et al. 1993, 23. Mancianti et al. 1997, 24. Gallo et al. 2005b, 25. Gallo et al. 2005a, 26. Tizzani et al. 2007, 27. Marco et al. 2007, 28. Papini et al. 2008, 29. Peano et al. 2008, 30. Nardoni et al. 2009.

Některí hlodavci mohou představovat sekundární rezervoár onemocnění, jak bylo navrženo v případě přenosu zoofilního druhu *Microsporium canis* z lišek na sviště (Malmasi et al. 2009; Moretti et al. 2013). Je možné, že se druh *M. canis*, typický pro šelmy, adaptoval na sviště přenosem z lišky v oblasti severních italských Alp, kde tyto dva savci sdílejí teritorium a liška představuje hlavního predátora svišťů. Pouze zlomek pokusů o ulovení sviště vede k jeho úhynu, a může tedy dojít k přenosu houby, nebo mohou lišky šířit arthrokonidie do půdy v okolí nor svišťů, které prozkoumávají (Gallo et al. 2005a). Hlodavci a jiní obratlovci tedy mohou mít roli pasivních přenašečů, kteří napomáhají šíření dermatofytů (Mantovani et al. 1982).

Dermatofyty byly izolovány z celé řady hlodavců, vybrané druhy hlodavců a druhy dermatofytů, které z nich byly izolovány, jsou i s frekvencemi výskytu shrnuté v Tab. 2. Houin et al. (1972) hovořili o hostitelské specifitě, kdy u myšice křovinné převažoval druh *T. mentagrophytes* (43 % jedinců), zatímco u norníka rudého druh *N. persicolor* (35 % jedinců). Tohoto vzorce si všimaly i další studie (English & Bayley 1978; Mariat et al. 1976), v jiné studii z norníka rudého izolovali dokonce pouze druh *N. persicolor* (19 % jedinců) (English 1969).

**Tab. 2** Druhy hlodavců a vybrané druhy dermatofytů, které z nich byly izolovány. Jména izolovaných druhů vychází ze současné taxonomie, dřívější druhový komplex *T. terrestre* je uveden pod novým jménem *A. terrestre*. V tabulce jsou uvedeny nejvyšší podíly jedinců, z nichž byl daný druh dermatofyta izolován. Citovány jsou studie, které izolovaly dermatofyty z daných hlodavců. Vysvětlivky jsou pod čarou.

Druh hlodavce	MC	TE	TM	AT	AL	ACN	ACI	ACR	AU	AQ	As	NP	NG	Zdroj
<b>myš domácí</b>	až 1%	až 1%	až 9%	až 5%					až 1%	až 3%			až 3%	2,4,7,8
<b>myšice</b>														
<b>křovinná</b>		až 1%	až 45%	až 42%		až 5%	až 8%	až 9%		až 5%	až 1%	až 14%	až 2%	1,3,4,6-9
<b>myšice lesní</b>			až 4%		až 1%	až 1%	až 1%	až 16%		až 3%	až 2%			4,7
<b>myšice sp.</b>			až 14%									až 4%		5
<b>norník rudý</b>			až 9%	až 39%		až 16%	až 4%	až 38%				až 35%		1,3-7,9

MC = *Microsporium canis*, TE = *Trichophyton erinacei*, TM = *T. mentagrophytes*, AT = *Arthroderma terrestre*, AL = *A. lenticulare*, ACN = *A. cuniculi*, ACI = *A. ciferrii*, ACR = *A. curreyi*, AU = *A. uncinatum*, AQ = *A. quadrifidum*, As = *Arthroderma* sp., NP = *Nannizzia persicolor*, NG = *N. gypsea*. Zdroje: 1. English 1969, 2. Smith et al. 1969, 3. Houin et al. 1972, 4. Chmel et al. 1975, 5. Mariat et al. 1976, 6. English & Bayley 1978, 7. Hubálek et al. 1979, 8. Mantovani et al. 1982, 9. Chabasse et al. 1987.

Ve studii Hubálka et al. (1979) provedené v Československu a Jugoslávii, která zahrnovala všechny zmíněné druhy hlodavců, se tyto dermatofyty vůbec nevyskytovaly (pouze jeden izolát *N. persicolor* z hraboše polního). Autoři zaznamenali na svou dobu výjimečně mnoho druhů rodu *Arthroderma*, rozlišovali např. druhy *A. lenticulare* a

*A. quadrifidum* (Hubálek et al. 1979). Jiní autoři rozlišovali méně druhů, například studie z Francie uvádí výše zmíněné druhy ještě souhrnně pod názvem „*T. terrestre*“, což může být příčinou toho, že tento „druh“ byl ve výzkumu nejčastěji izolovaným (Chabasse et al. 1987).

Obecně je nutné zjištění dřívějších studií interpretovat obezřetně, zejména kvůli obtížné morfologické identifikaci dermatofytů, která byla v minulosti jedinou používanou, a dále pak kvůli mnoha taxonomickým změnám, jak bylo popsáno v kapitole 1.2 (str. 1).

#### **1.4. Biologická aktivita dermatofytů a keratinolýza**

Primárně půdní druhy, druhy asociované s obratlovci a patogenní druhy mají odlišný způsob života. Ten se může kromě ekologie projevit i znaky, které souvisejí s biologickou aktivitou těchto druhů. V případě druhů asociovaných s obratlovci nebo patogenních jsou to faktory umožňující přetrvání na povrchu hostitele (např. schopnost růstu při tělesné teplotě nebo produkce sideroforů), obecně se druhy mohou lišit spektrem produkovaných enzymů. Specifické enzymy dermatofytů mají v jejich ekologii zásadní roli, neboť jim umožňují využívat keratin jako zdroj živin.

Keratin je po celulóze a chitinu třetím nejčastěji se v přírodě vyskytujícím polymerem (Lange et al. 2016). Je důležitou součástí kůže a jejích derivátů (vlasů, chlupů, peří, nehtů, rohů) mnoha obratlovců. Jedná se o stabilní protein, který je velmi odolný zejména díky vysokému obsahu cystinu, který se propojuje disulfidickými můstky. Díky tomu může pro obratlovce představovat ochranu před abiotickým i biotickým stresem. Navzdory jeho častému výskytu známe relativně málo mikroorganismů schopných degradace keratinu, z hub jsou to zástupci řádů Onygenales (nejvíce je v tomto ohledu prozkoumán rod *Onygena*), Eurotiales, Microascales, Hypocreales a Saccharomycetales (Lange et al. 2016).

Schopnost hub rozkládat keratin může být prokázána pomocí přímé mikroskopie na základě testu perforace vlasu (Bahuguna & Kushwaha 1989; Deshmukh & Agrawal 1982) nebo použitím novějších metod založených na uvolnění barvy vázané na keratin (Scott & Untereiner 2004). Postupné uvolňování barvy v závislosti na aktivitě a množství vylučovaných enzymů může být použito ke kvantitativnímu posouzení schopnosti keratinolýzy, kdy je keratinolytická aktivita vyjádřena relativními rozdíly v absorbanci (Apodaca & McKerrow 1990; Letourneau et al. 1998; Sivakumar & Raveendran 2015).

Ke keratinolýze dochází působením keratináz, proteáz s keratinolytickou aktivitou. Obecně je aktivita enzymů závislá na pH, během rozkladu keratinu dermatofyty se extracelulární pH zvyšuje a dosahuje zásaditých hodnot. S měnícím se pH se mění produkce

složek keratinolytické dráhy (Maranhão et al. 2007). Pro dermatofyty je tedy důležité vnímání a úprava pH pokožky (Martinez-Rossi et al. 2012). To je u různých obratlovců odlišné, u člověka je oproti ostatním savcům kyselější, typicky 4-4,9 (Matousek & Campbell 2002).

Různé druhy dermatofytů produkují různé kombinace keratináz v různých poměrech a bylo zjištěno, že keratinolytická aktivita může pozitivně korelovat s virulencí (Viani et al. 2001). Kmeny *Microsporum canis* izolované ze symptomatických psů a koček vykazovaly vyšší keratinázovou aktivitu než izoláty z asymptomatických zvířat. Zároveň kmeny s vysokou *in vitro* keratinázovou aktivitou vyvolaly u experimentálně nakažených morčat akutní infekci vyvíjející se rychleji než infekce způsobená kmeny s nízkou keratinázovou aktivitou (Viani et al. 2001). Vzhledem k rozdílné virulenci při infekci primárního a sekundárního hostitele by mohla být keratinolytická aktivita jedním z faktorů ovlivňujících hostitelskou specifitu dermatofytů, aktivita keratináz může být specifická dle substrátu (Gnat et al. 2019). Enzymy 28 izolátů druhu *T. verrucosum*, jehož hlavním hostitelem je skot domácí, byly inkubovány se srstí či peřím deseti druhů obratlovců včetně člověka a všechny izoláty vykazovaly vyšší keratinolytickou aktivitu v přítomnosti srsti krávy a ovce (Gnat et al. 2019).

Mnoho enzymů využívá jako prostetickou skupinu železo, které je významným mikrobiogenním prvkem (Dunn et al. 2007). U dermatofytů je známo získávání železa především prostřednictvím sideroforů, chelatačních činidel, která specificky vážou železité ionty (Mor et al. 1992; Neilands 1995). Vazba na siderofory zároveň chrání organismy před toxickými vlastnostmi železa, které se v nevázané formě podílí na vzniku reaktivních kyslíkových radikálů (Halliwell & Gutteridge 1984). Z těchto důvodů může být produkce sideroforů považována za faktor virulence (Haas et al. 2008).

## 1.5. Rozmnožování dermatofytů

Většina dermatofytů je heterothalických, což znamená, že se při pohlavním procesu musí setkat opačně pohlavně ladění jedinci (Metin & Heitman 2017). Mluvíme o párovacích typech, které se u dermatofytů někdy označují jako (-) a (+). Párovací typ jedince je určen na genetické úrovni přítomností jednoho ze dvou genů MAT (mating type) lokusu, které jsou označovány *MAT1-1* (-) a *MAT1-2* (+) (Metin & Heitman 2017). Některé druhy jsou však považovány za homothalické, např. *Arthroderma ciferrii*, *A. crocatum* a *A. curreyi* (Metin & Heitman 2017; Padhye & Carmichael 1971; Varsavsky & Ajello 1964). V takovém případě se

mohou zkřížit jakékoli dva kmeny, případně může dojít k parasexuálnímu procesu v rámci jednoho kmene.

K pohlavnímu procesu dermatofytů dochází pravděpodobně v půdě (Summerbell 2000). Geofilní druhy se běžně rozmnožují pohlavně, naopak u druhů adaptovaných na člověka a hospodářská zvířata, kde dochází ke ztrátě trvalého kontaktu s půdou, pozorujeme postupnou ztrátu pohlavního procesu (Gräser et al. 2000, 2006; Summerbell et al. 1999). Tyto druhy se šíří převážně klonálně (nepohlavními arthrosporami v kožních šupinách), u mnoha z nich dokonce známe pouze jedince jednoho párovacího typu (Kano et al. 2014; Metin & Heitman 2017). Na druhou stranu u jiných druhů jsou známy oba párovací typy a kmeny jsou i navzdory klonálnímu šíření stále diverzifikované (např. *Trichophyton benhamiae*, *T. mentagrophytes*, pravděpodobně také *T. tonsurans*/*T. equinum*) (Kandemir et al. 2020). To by mohlo být způsobené existencí skrytého rezervoáru těchto druhů v prostředí, kde může k pohlavnímu procesu docházet (např. ve spojení s volně žijícími obratlovci) (Abdel-Rahman et al. 2010; Cmokova et al. 2015). V půdě okolo zvířecích nor je vlivem přítomnosti zvířat dostatek keratinu a relativně stabilní teplota a vlhkost v průběhu celého roku, díky čemuž zde mají dermatofyty vhodné podmínky pro růst a rozmnožování (Dawson 1963; Gallo et al. 2005a; Mantovani et al. 1982; Otčenášek 1978). Často je proto nacházíme v blízkosti nor, zatímco ve vzdálenější půdě chybí (Dawson 1963; Gallo et al. 2005a).

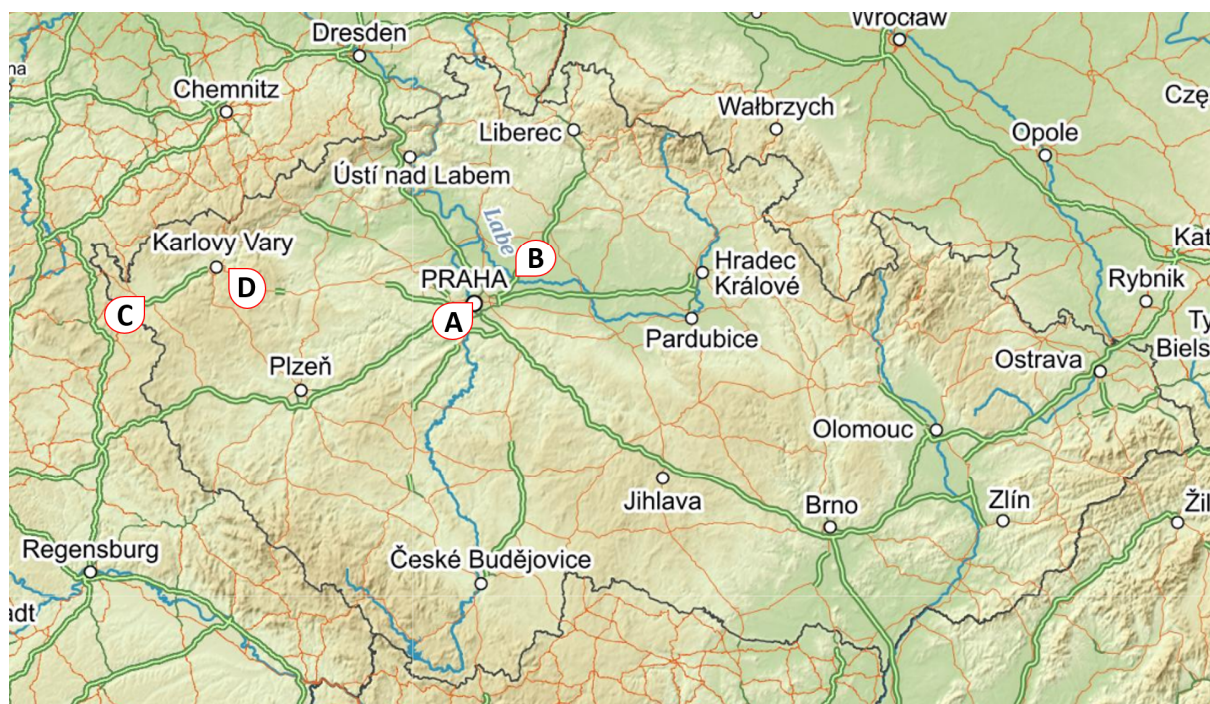
## 2. CÍLE

1. Pomocí kultivace zjistit spektrum dermatofytů v srsti volně žijících hlodavců.
2. Izolované kmeny podrobit molekulárně-genetické a fenotypové analýze a porovnat je s příbuznými izoláty z jiných substrátů.
3. Diskutovat roli volně žijících hlodavců v ekologii dermatofytů.

### 3. METODIKA

#### 3.1. Materiál

Odchyt hlodavců probíhal ve spolupráci s kolegy z katedry zoologie Přírodovědecké fakulty Univerzity Karlovy a Masarykovy univerzity na čtyřech lokalitách v České republice (Obr. 2, Tab. 3). Podrobné informace o chycených hlodavcích jsou součástí přílohy (Tab. P1). Odběr materiálu jsme prováděli za pomoci zubního kartáčku nebo sterilní výtěrové tyčinky FLOQSwabs (Copan, Murrieta, CA, USA), kterými jsme chycenému hlodavci několikrát přejeli po srsti na zádech, břiše a hlavě. Odebrané vzorky jsem uložila jednotlivě v plastových sáčcích a skladovala při teplotě -20 °C.



**Obr. 2** Mapa zachycující lokality v České republice. Lokality (A-D) jsou popsány v Tab. 3. Zdroj podkladové mapy: Mapy.cz

**Tab. 3** Popis lokalit – konkrétní místo, typ lokality, druhy a počty chycených hlodavců.

Lokalita	Místo	Typ lokality	Druhy chycených hlodavců	Počet
A	Praha a okolí (Chuchle, Lipence)	hospodářská stavení	myš domácí	4
B	Brandýs nad Labem	obytná budova	myš domácí	17
C	okolí Chebu (Loužek, Hartoušov, Povodí, Straas)	hospodářská stavení	myš domácí	12
D	Sedlečko, Karlovy Vary	volná příroda	myšice lesní	16
			norník rudý	14
			<b>celkem:</b>	<b>63</b>

## 3.2. Izolace a kultivace

Složení medií použitých pro izolaci a kultivaci kmenů je uvedeno v Tab. 4. Pro izolaci jsem použila selektivní izolační medium Sabouraudův glukosový agar s přidavkem antibiotik (SGA+ATB). Antibiotika jsem přidala po zkláfování do zchladlého media, aby nedošlo k jejich degradaci. Materiál jsem inokulovala trojbodově obtisknutím kartáčku/tyčinky na Petriho misky (Ø 9 cm) s tímto mediem. Kvůli cílení na zoofilní dermatofyty, které jsou schopné růst při tělesné teplotě teplokrevných obratlovců, jsem každý vzorek kultivovala při teplotě 25 °C a 30 °C, případně 37 °C za použití běžného Sabouraudova glukosového agaru (SGA). Vzorky jsem kultivovala jeden měsíc a morfortypově odlišné kolonie průběžně izolovala do čistých kultur na Petriho miskách (Ø 6 cm) s agarem se sladovým výtažkem (MEA). Toto živinami chudé medium je vhodné pro determinaci hub, protože na něm rostoucí kmeny snadno sporulují. Izoláty jsem kultivovala při teplotě 25 °C a kmeny makromorfologicky připomínající dermatofyty jsem identifikovala do druhu kombinací molekulárních a morfologických metod. Získané kmeny jsem pro dlouhodobé uchování uložila ve tmě při 4 °C na šikmých půdách s MEA.

Tab. 4 Složení medií použitých pro izolaci, kultivaci a charakterizaci kmenů a indukci pohlavního stadia.

Medium	Zkratka	Složení (na 1000 ml destilované vody)
Agar se semeny <i>Guizotia abyssinica</i> (de Vroey 1964)	GAA ( <i>G. abyssinica</i> agar)	30 g semen <i>Guizotia abyssinica</i> , 20 g agar
Agar se sladovým výtažkem	MEA (malt extract agar)	20 g malt extrakt (HiMedia, Mumbai, India), 20 g glukosa, 15 g agar, 1 g bakteriologický pepton (HiMedia, Mumbai, India)
Bramborodextrosový agar	PDA (potato dextrose agar)	39 g bramborodextrosový agar (HiMedia, Mumbai, India)
Ovesný agar	OA (oatmeal agar)	72,5 g ovesný agar (HiMedia, Mumbai, India)
Sabouraudův glukosový agar	SGA (Sabouraud glucose agar)	40 g glukosa, 20 g agar, 10 g bakt. pepton
Sabouraudův glukosový agar s přidavkem antibiotik	SGA+ATB (Sabouraud glucose agar with antibiotics)	20 g glukosa, 15 g agar, 10 g bakt. pepton, 500 mg cykloheximid, 40 mg chloramfenikol

## 3.3. Identifikace izolátů

### 3.3.1. Extrakce DNA

Z narostlých kultur jsem extrahovala DNA pomocí DNeasy UltraClean Microbial Kit (Qiagen, Hilden, Germany). Sterilní jehlou jsem seškrábala cca 1x1 cm mycelia do PowerBead kolonky se 300 µl PowerBead roztoku a dále postupovala podle pokynů výrobce s prodloužením doby vortexování z 10 na 20 min.

### 3.3.2. PCR amplifikace

Pro identifikaci izolovaných kmenů jsem zvolila úsek ITS (internal transcribed spacer) rDNA, který je vhodný pro druhovou identifikaci dermatofytů (Gräser et al. 1999; Makimura et al. 1999). Pro účely následné fylogenetické analýzy jsem amplifikovala geny pro  $\beta$ -tubulin (*tubb*) a translační elongační faktor 1- $\alpha$  (*tefla*). Primery použité k amplifikaci a sekvenaci jsou uvedeny v Tab. 5. Amplifikace probíhala v přístrojích Mastercycler gradient a Mastercycler pro S vapo.protect (Eppendorf AG, Hamburg, Germany) za použití DNA polymerázy MyTaq (Bioline, London, UK) nebo Perfect *Taq* (Quantabio, Beverly, MA, USA).

V případě použití MyTaq polymerázy jsem připravila PCR reakční směs v objemu 20  $\mu$ l ve složení:

deionisovaná H <sub>2</sub> O	14,2 $\mu$ l
5x MyTaq pufr	4 $\mu$ l
forward, reverse primer (25 pmol/ $\mu$ l)	každý 0,3 $\mu$ l
MyTaq DNA polymeráza	0,2 $\mu$ l
templátová DNA	1 $\mu$ l

Pro PCR reakci jsem použila jeden z amplifikačních cyklů:

- 94 °C/1 min; 94 °C/20 s, 55 °C/40 s, 72 °C/10 s (35x); 72 °C/10 min
- 95 °C/1 min; 95 °C/15 s, 55 °C/15 s, 72 °C/10 s (35x); 72 °C/10 min

Při použití polymerázy Perfect *Taq* jsem připravila PCR reakční směs v objemu 25  $\mu$ l ve složení:

deionisovaná H <sub>2</sub> O	19,75 $\mu$ l
Master mix 10x PCR pufr	2,5 $\mu$ l
nukleotidy	0,5 $\mu$ l
forward, reverse primer (25 pmol/ $\mu$ l)	každý 0,5 $\mu$ l
Perfect <i>Taq</i> DNA polymeráza	0,25 $\mu$ l
templátová DNA	1 $\mu$ l

Pro PCR reakci jsem použila amplifikační cyklus:

- 94 °C/3 min; 94 °C/30 s, 55 °C/30 s, 72 °C/1 min (35x); 75 °C/10 min

PCR produkty jsem zobrazila na gelové elektroforéze s elektroforetickým pufrem TBE. Nanesla jsem 2,5  $\mu$ l vzorku (v případě Perfect *Taq* polymerázy jsem přidala 1  $\mu$ l nanášecí barvičky) na 1% agarosový gel s použitím 1,5  $\mu$ l žebříčku GeneRuler 100 bp DNA Ladder

(Thermo Fisher Scientific, Vilnius, Lithuania) nebo HyperLadder 50bp (Bioline, London, UK). Gel jsem prohlížela v přístroji Vilber Bio-Print za použití volně dostupného softwaru Biovision (Vilber Lourmat, Collégien, France).

**Tab. 5** Primery použité k amplifikaci a sekvenaci úseků DNA.

Úsek DNA	Forward primer (sekvence 5'-3')	Reverse primer (sekvence 5'-3')	Zdroj
ITS	ITS1-F (CTTGGTCATTTAGAGGAAGTAA)	ITS4 (TCCTCCGCTTATTGATATGC) NL4 (GGTCCGTGTTTCAAGACGG)	Gardes & Bruns 1993, White et al. 1990 O'Donnell 1993
	<i>tefla</i> EF-DermF (CACATTAACCTTGGTCGTTATCG)	EF-DermR (CATCCTTGGAGATACCAGC)	Mirhendi et al. 2015
<i>tubb</i>	Bt2a (GGTAACCAAAATCGGTGCTGCTTTC)	Bt2b (ACCCTCAGTGTAGTGACCCTTGGC)	Glass & Donaldson 1995
<i>MAT1-1</i>	ART-MAT1F1 (TCAAGTCTGGACTGCTTCG)	ART-MAT1R1 (ACAATCCAATGAADGGCMCA)	tato práce
<i>MAT1-2</i>	ART-MAT2F1 (TCCTTTGGCAGCATGCGATG)	ART-MAT2R1 (ACGCTATCCTCAAACGCCAC)	tato práce

### 3.3.3. Purifikace PCR produktů

PCR produkty jsem purifikovala srážením v octanu sodném (NaOAc) a etanolu podle postupu:

1. K PCR produktu (cca 20  $\mu$ l) jsem přidala 2  $\mu$ l 3M NaOAc a 50  $\mu$ l 96% etanolu, zvortexovala a inkubovala 10 min při pokojové teplotě.
2. Zcentrifugovala jsem 30 min při 3700 rpm (otáčkách za minutu) a 24 °C.
3. Zkumavky jsem otevřela a supernatant vylila opatrným otočením, bezbarvá sraženina zůstala na dně. Otočené zkumavky jsem položila na papírovou utěrku a krátce zcentrifugovala při cca 460 rpm.
4. Ke sraženině jsem přidala 100  $\mu$ l 70% etanolu, zvortexovala a zcentrifugovala 15 min při 3700 rpm a 24 °C.
5. Opět jsem vylila supernatant a zcentrifugovala. Sraženinu jsem dosušila v otevřených zkumavkách v termobloku ThermoCell MixingBlock MB-102 (Bioer, Hangzhou, P. R. China) při cca 40 °C během 5-10 min.
6. Purifikované PCR produkty jsem rozpustila v 20  $\mu$ l deionisované vody.

Alternativně jsem PCR produkty purifikovala pomocí přípravku ExoSAP-IT (Thermo Fisher Scientific, Vilnius, Lithuania). K PCR produktu jsem přidala 8  $\mu$ l ExoSAP-IT zředěného

v poměru 1:9 deionisovanou H<sub>2</sub>O a nechala zreagovat v přístroji Mastercycler na program: 37 °C/15 min, 80 °C/15 min.

### 3.3.4. Sekvence DNA

Sekvence byla provedena servisně firmou MacroGen Europe (Amsterdam, the Netherlands), Microsynth (Balgach, Switzerland) nebo v Laboratoři sekvenace DNA PřF UK (Biocev, Vestec, ČR). Purifikované PCR produkty jsem připravila na sekvenaci dle požadavků konkrétní sekvenační společnosti. K sekvenaci byly použity oba primery použité při amplifikaci (Tab. 5).

Se získanými sekvencemi jsem pracovala v programu FinchTV v1.4.0 (Geospiza Inc.) a předběžnou druhovou identifikaci jsem provedla porovnáním sekvencí ITS se sekvencemi v databázi NCBI (National Center for Biotechnology Information) pomocí online nástroje BLAST (Altschul et al. 1990).

## 3.4. Fylogenetická analýza

Sekvence ITS, *tubb* a *tefla* jsem upravila v softwaru BioEdit v7.2.6 (Hall 1999). Alignment jsem vytvořila pomocí online nástroje MAFFT v7 (Kato et al. 2019) z forward a reverse sekvencí kmenů získaných v této práci a kmenů využitých v diplomové práci zabývající se ověřením druhových hranic rodu *Arthroderma* (Miková 2018), seznam použitých kmenů je součástí přílohy (Tab. P2). Pro třígenovou fylogenetickou analýzu jsem sekvence spojila pomocí online nástroje Fasta alignment joiner (Villesen 2007). Vhodné substituční modely pro jednotlivé úseky DNA jsem určila na základě hodnoty bayesovského informačního kritéria (BIC) v programu jModelTest v2.1.10 (Darriba et al. 2012; Guindon & Gascuel 2003), zvolené modely jsou uvedeny v Tab. 6. K rekonstrukci Maximum likelihood (ML) fylogenetických stromů jsem použila software IQ-TREE v1.6.12 (Chernomor et al. 2016; Nguyen et al. 2015). Hodnoty podpor větví jsem získala pomocí neparametrického bootstrappingu s 1000 replikáty. Bayesovské posteriorní pravděpodobnosti jsem vypočítala v programu MrBayes v3.2.6 (Ronquist et al. 2012) s nastavením analýzy na 10<sup>6</sup> generací, 2 paralelní běhy se 4 řetězci a 25 % stromy vyřazenými jako burn-in. Výsledné fylogenetické stromy jsem upravila v programu FigTree v1.4.2 (Rambaut 2014) a pomocí online nástroje iTOL v5.5 (Letunic & Bork 2019). Jako outgroup jsem použila izoláty *Pectinotrichum llanense* CBS 882.71, *Ctenomyces serratus* CBS 187.61 a *Onygenales* sp. CBS 143072.

**Tab. 6** Substituční modely zvolené pro jednotlivé alignmenty při konstrukci fylogenetických stromů a výpočtech podpor větvi pomocí metody Maximum likelihood (MA) a Bayesovské analýzy (BA).

Úsek DNA	Fylogenetická metoda	Substituční model
<b>kombinovaný dataset</b>	ML	<i>tubb</i> : TVM+I+G; <i>tefla</i> : TPM1uf+I+G; ITS: GTR+I+G
<i>tubb</i> + <i>tefla</i> + ITS	BA	<i>tubb</i> : SYM+I+G; <i>tefla</i> : HKY+I+G; ITS: GTR+I+G
<i>tubb</i>	ML	TVM+I+G
	BA	SYM+I+G
<i>tefla</i>	ML, BA	HKY+I+G
ITS	ML, BA	GTR+I+G

### 3.5. Analýza fenotypu

Vybrané kmeny dermatofytů jsem charakterizovala z hlediska makromorfologie, mikromorfologie a fyziologie. V návaznosti na projekt zabývající se revizí rodu *Arthroderma* jsem pro tuto analýzu zvolila stejnou metodiku (Míková 2018). Pro účely porovnání jsem ke kmenům získaným v této práci přidala již dříve získané izoláty stejných a příbuzných druhů *Arthroderma*. Charakterizované izoláty jsou vypsány u popisů druhů v kapitole 4.4 (str. 26).

#### 3.5.1. Amplifikace MAT genů a indukce pohlavního stadia

Vzhledem k vysoké genetické variabilitě MAT genů, a tudíž jejich komplikované amplifikaci univerzálními primery, jsem navrhla vnitřní primery na základě sekvencí MAT genů získaných při revizi rodu *Arthroderma* (Míková 2018) za použití online nástroje Primer-BLAST (Ye et al. 2012), navržené primery jsou v Tab. 5. PCR amplifikaci jsem provedla stejným způsobem, jaký byl popsán v kapitole 3.3.2 (str. 12). Pohlavní ladění charakterizovaných izolátů jsem určila na základě přítomnosti PCR produktu specifické délky na elektroforetogramu a zároveň absence PCR produktu opačného MAT genu. Správnost amplifikace jsem ověřila sekvenováním amplifikovaných úseků vybraného izolátu od každého párovacího typu každého ze zkoumaných druhů.

Indukci pohlavního rozmnožování u izolátů homothalických druhů a dvojic izolátů heterothalických druhů jsem provedla na mediu GAA (Tab. 4) na Petriho miskách (Ø 6 cm). Misky jsem inkubovala ve tmě při teplotě 17 °C a kontrolovala v týdenním intervalu po dobu 7 týdnů. Izoláty homothalických druhů jsem očkovala jednotlivě do středu misky, izoláty opačného párovacího typu heterothalických druhů jsem očkovala proti sobě ve vzdálenosti cca 10 mm.

### **3.5.2. Makromorfologie**

Pro srovnání makromorfologických znaků, rychlosti a schopnosti růstu na různých mediích a při různých teplotách jsem kmeny trojbodově naočkovala na Petriho misky (Ø 9 cm) se čtyřmi různými medii (SGA, MEA, PDA a OA, složení viz Tab. 4) a kultivovala ve tmě při 25 °C po dobu tří týdnů. Schopnost růstu při 30 a 37 °C jsem u vybraných izolátů ověřovala na mediu MEA. Po 7, 14 a 21 dnech jsem měřila rozměry kolonií pro zjištění rychlosti růstu. Po 14 dnech jsem kolonie zdokumentovala fotoaparátem Canon EOS 500D a popsala jejich texturu, tvar a barvu (Kornerup & Wanscher 1978; Otčenášek & Dvořák 1973).

### **3.5.3. Mikromorfologie**

U kolonií na mediu MEA po 14 dnech při 25 °C jsem mikroskopicky pozorovala a měřila následující morfologické znaky: tvar, ornamentiku a rozměry mikro- a makrokonidií, počet buněk makrokonidií, větvení konidioforu. Pokud není uvedeno jinak, pro každý znak jsem u každého kmenu provedla minimálně 50 měření a vypočítala minimální a maximální hodnotu, průměr a směrodatnou odchylku. V případě úspěšného navození pohlavního stadia na mediu GAA po 6 týdnech při 17 °C jsem pozorovala a měřila plodnice, vřecka, askospory a peridiální hyfy. Preparáty jsem připravovala v kyselině mléčné s přídavkem bavlníkové modři, pozorovala a dokumentovala světelným mikroskopem Olympus BX51 s digitální kamerou Olympus DP72. Měření mikromorfologických znaků jsem provedla v programu QuickPHOTO MICRO 3.0 (PROMICRA, s.r.o., Praha, ČR).

## **3.6. Testy biologické aktivity**

U 15 druhů dermatofytů jsem zkoumala schopnost produkovat siderofory a rozkládat keratin na základě změn pH v průběhu kultivace se zdrojem keratinu, a dle absorbance keratin azure. Vybrány byly druhy izolované ze srsti obratlovců (7 druhů, většina izolátů pocházela z této práce) a druhy klasifikované jako antropofilní a zoofilní izolované z lidského klinického materiálu (8 druhů, uvedeny v příloze v Tab. P2 na konci).

### **3.6.1. Změny pH při keratinolýze**

Připravila jsem tekuté medium s malt extraktem ve složení: 10 g malt extraktu (HiMedia, Mumbai, India) a 0,5 g bakteriologického peptonu (HiMedia, Mumbai, India) na 1 l destilované vody. Do 250ml Erlenmeyerovy baňky jsem nalila 100 ml tohoto media a přidala jsem přibližně 1,5 g předem vysušené surové potní ovčí vlny jako zdroje keratinu. Baňky

jsem sterilizovala v autoklávu při 121 °C po dobu 20 min a po vychladnutí naočkovala houby. Jako inokulum jsem použila tři kousky kultury na pevném mediu MEA o rozměrech cca 0,5x0,5x0,5 cm. Všechny izoláty jsem naočkovala v triplicátech, jako negativní kontrola posloužily baňky s mediem, vlnou a kousky čistého media MEA (bez houbového inokula). Baňky jsem inkubovala na laboratorní třepačce ve tmě při 25 °C po dobu 6 týdnů. Před inokulací a pak vždy po sedmi dnech jsem sterilně odebrala 2,5 ml media pro účely měření pH.

### **3.6.2. Měření keratinolytické aktivity, kvantifikace sideroforů**

Enzymy produkované během inkubace se zdrojem keratinu jsem využila ke kvantifikaci sideroforů a porovnání keratinolytické aktivity. Za tímto účelem jsem použila keratin azure (Sigma-Aldrich, St. Louis, Missouri, USA) předem rozdrcený na prášek v tekutém dusíku. Reakční směs obsahovala: 10 mmol/l Tris-HCl (pH 8,5), 4 mg/ml keratin azure a extracelulární enzymy v poměru pufr:enzymy 4:1 (Letourneau et al. 1998; Sivakumar & Raveendran 2015). Enzymy jsem získala z kultur pěstovaných 6 týdnů na ovčí vlně z media odebraného na měření pH, které jsem zcentrifugovala při 4 °C a 10 000 rpm po dobu 10 min. Do mikrotitrační destičky jsem napipetovala 120 µl reakčního pufru s keratin azure a přidala 30 µl enzymů, pro každý vzorek v osmi opakováních. Směs se inkubovala na třepačce ve tmě při 37 °C po dobu 2 h v případě měření absorbance sideroforů, respektive cca 72 h v případě měření absorbance keratin azure. Reakce byla zastavena centrifugací při 4 °C a 3700 rpm po dobu 10 min. Supernatant byl přepipetován do nové destičky, v níž byla na spektrofotometru změřena absorbance při vlnové délce 435 nm (kvantifikace sideroforů, Oide et al. 2014) a 595 nm (keratin azure, podle protokolu výše).

### **3.7. Statistické zpracování dat**

Získaná data jsem statisticky vyhodnotila v programu R v3.6.3 (R Core Team 2020) za použití analýzy ANOVA a na ni navazujícího testu Tukey HSD.

## 4. VÝSLEDKY

### 4.1. Izolované kmeny dermatofytů

Z 63 chycených hlodavců jsem izolovala 30 kmenů dermatofytů, shrnutí je v Tab. 7. Všechna zvířata byla asymptomatická. Úspěšnější se ukázala kultivace při 25 °C, pouze jeden izolát jsem získala z kultivace při vyšší teplotě (izolát AFS13T-2, při 30 °C). Vybrané izoláty jsem uložila do Sbírký kultur hub (CCF) katedry botaniky PřF UK, Praha, ČR, pod číslý uvedenými v seznamu kmenů v příloze (Tab. P2).

**Tab. 7** Druhy chycených hlodavců, počet a podíl jedinců, z nichž jsem izolovala dermatofyta, a celkový počet izolovaných kmenů dermatofytů.

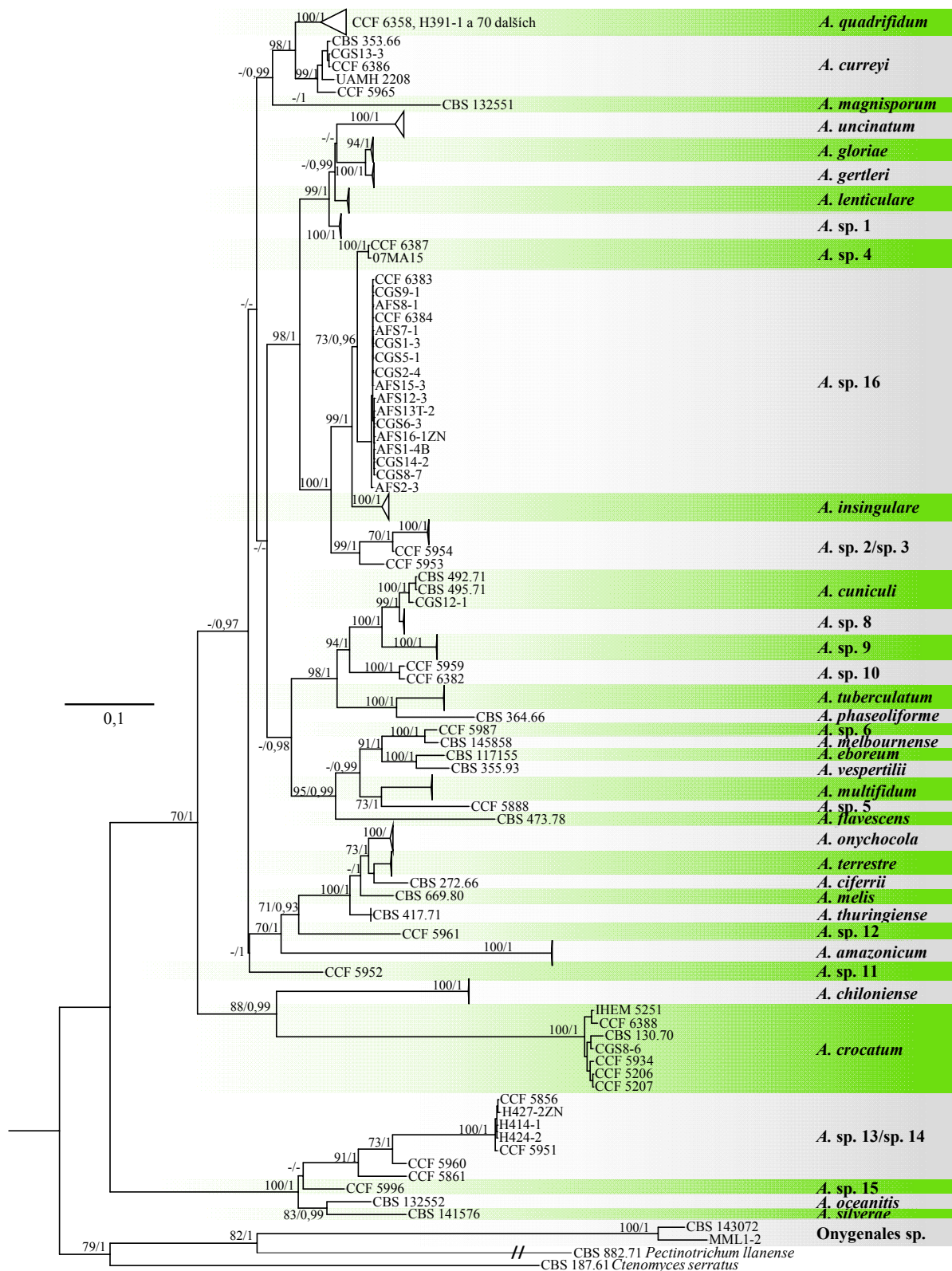
Druh hlodavce	Celkový počet jedinců	Počet/podíl jedinců s dermatofytem	Počet izolovaných kmenů
myš domácí	33	6/0,18	6
myšice lesní	16	9/0,56	9
norník rudý	14	10/0,71	15
<b>celkem:</b>	63	25/0,40	30

### 4.2. Fylogenetická analýza

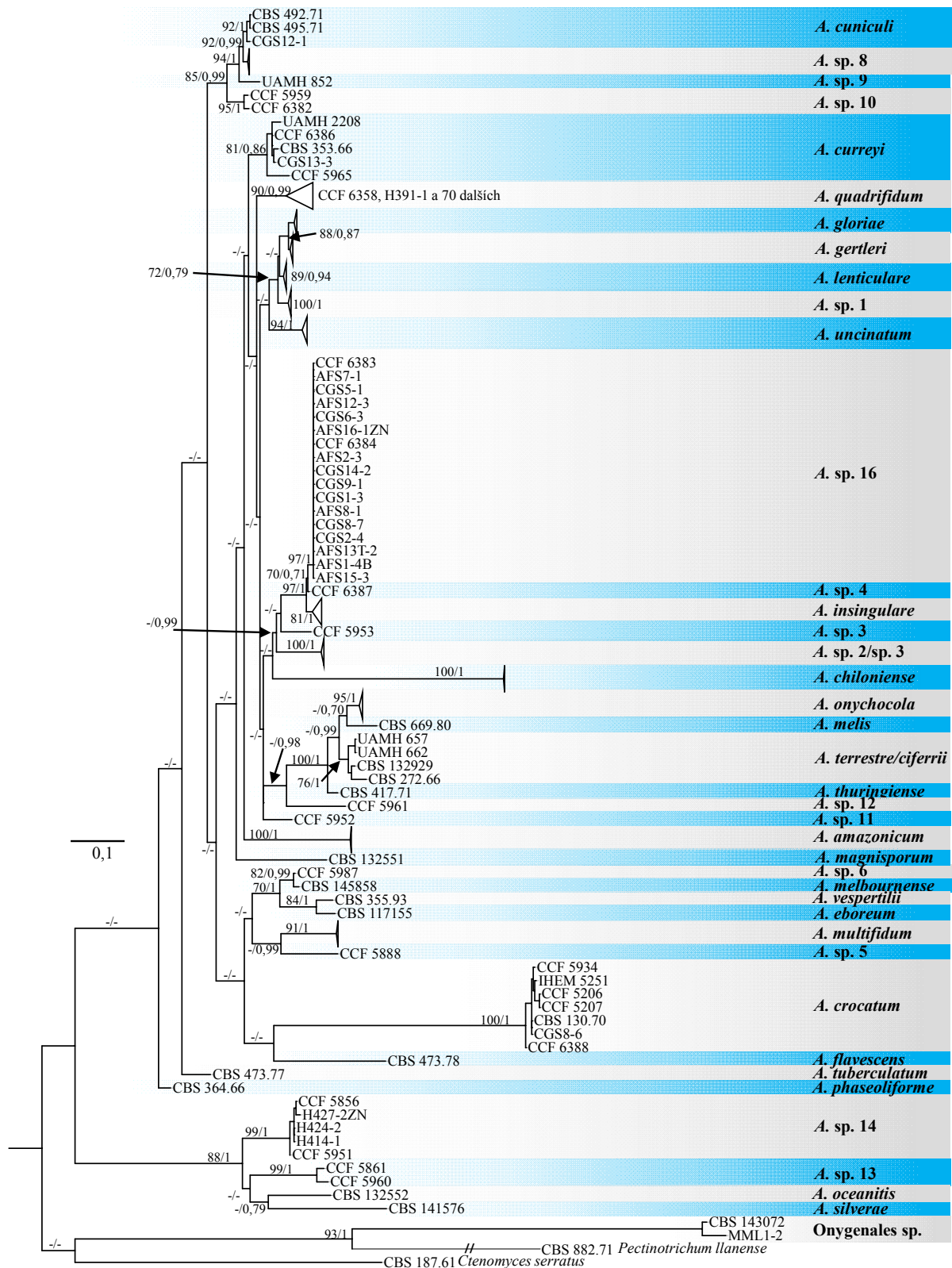
Do fylogenetické analýzy jsem zahrнула celkem 229 kmenů (Tab. P2 v příloze). Délky a počty variabilních pozic v alignmentech vytvořených pro jednotlivé úseky DNA jsou uvedeny v Tab. 8. Na základě těchto alignmentů jsem vytvořila jeden kombinovaný a tři jednolokusové fylogenetické stromy, zjednodušené (se sloučenými vnitřními větvemi) jsou na obrázcích 3-6, celé stromy jsou součástí přílohy (Obr. P1-P4). Topologie stromů z Maximum likelihood analýzy a Bayesovské analýzy se výrazně nelišila, proto jsou ve fylogenetických stromech uvedeny podpory větví z obou analýz. Stromy z Bayesovské analýzy obsahovaly polytomie, v nich neexistující větve jsou v Maximum likelihood stromech označeny nízkou podporou (-).

**Tab. 8** Délky alignmentů a počty variabilních a parsimonně informativních pozic.

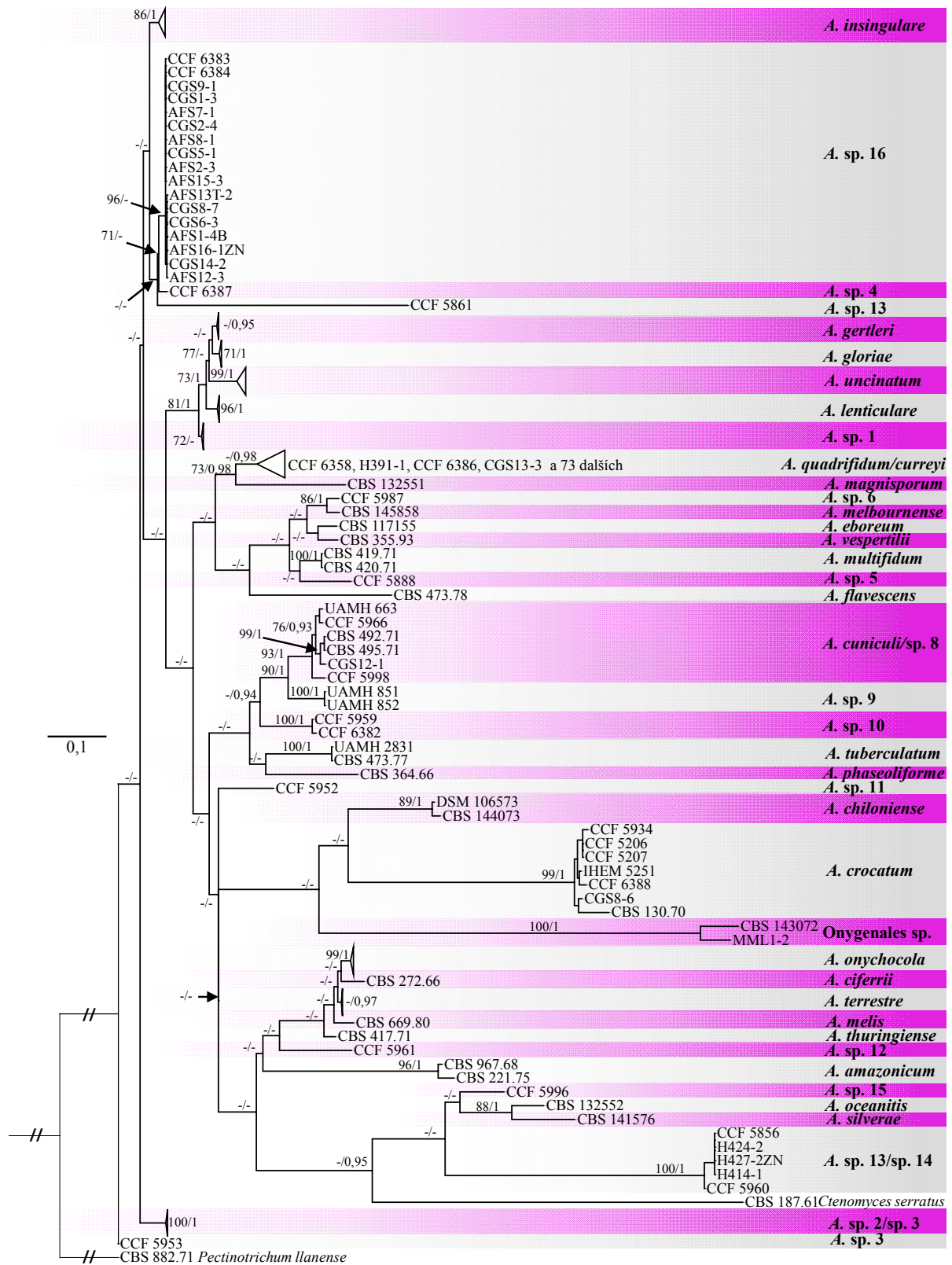
Úsek DNA	Počet sekvencí	Délka (počet bazí)	Variabilní pozice	Parsimonně informativní pozice
<b>kombinovaný dataset</b>	229	2039	1129 (55,4 %)	955 (46,8 %)
<i>tubb</i> + <i>tefla</i> + ITS				
<i>tubb</i>	183	496	290 (58,5 %)	267 (53,8 %)
<i>tefla</i>	224	779	449 (57,6 %)	367 (47,1 %)
ITS	229	764	390 (51,0 %)	321 (42,0 %)



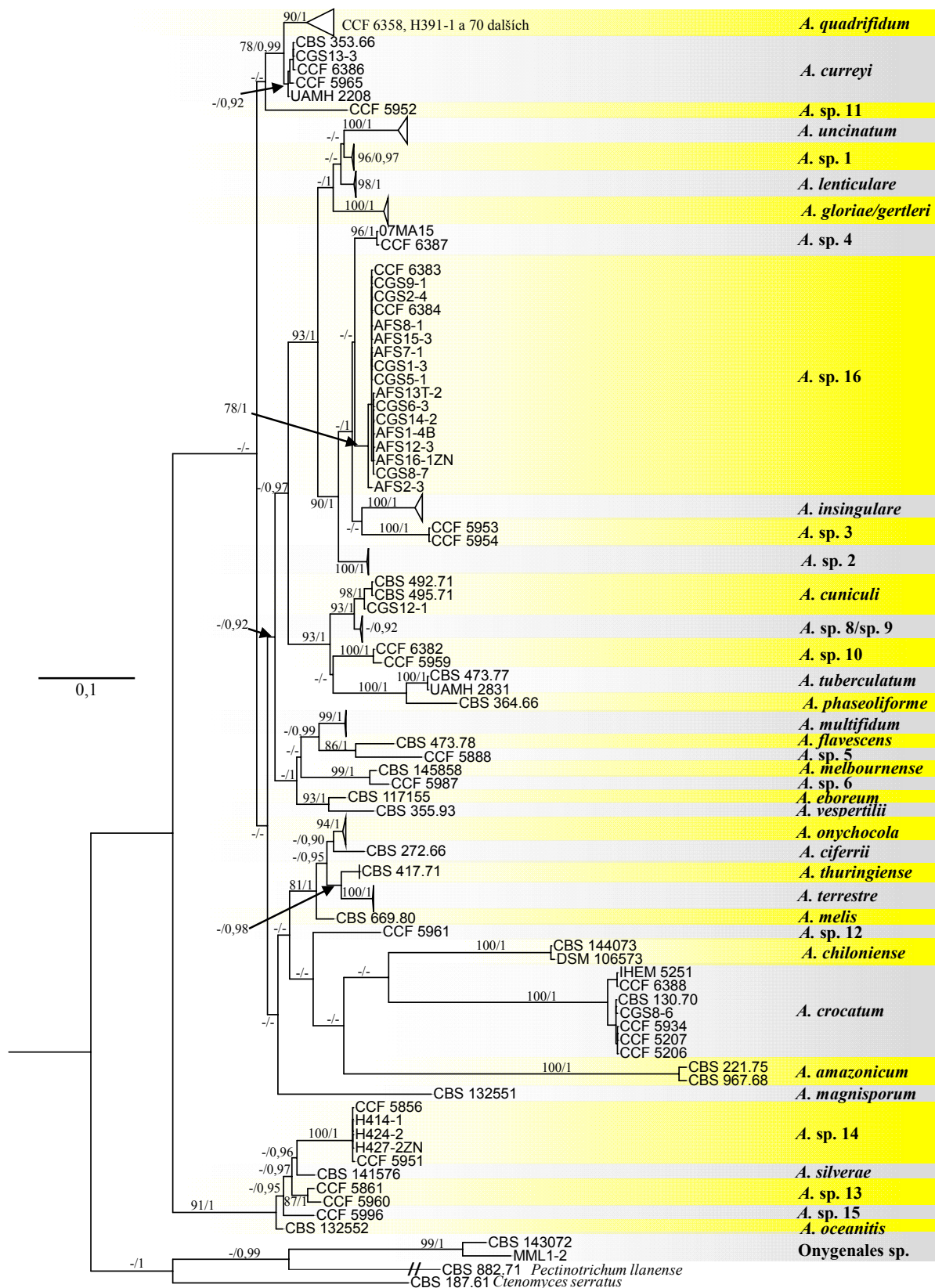
**Obr. 3** Zjednodušený kombinovaný fylogenetický strom rodu *Arthroderma* vytvořený na základě sekvencí *tubb*, *tefla* a ITS metodou Maximum likelihood. Uvedeny jsou bootstrapové podpory větví z ML analýzy >70 % a posteriorní pravděpodobnosti z Bayesovské analýzy >0,90, nižší podpory jsou nahrazeny pomlčkou. Strom je zakořeněn izoláty *Pectinotrichum ilanense*, *Ctenomyces serratus* a *Onygenales sp.* (outgroup). Měřítka odpovídá počtu substitucí na jednu pozici v alignmentu (substitutions per site).



**Obr. 4** Zjednodušený fylogenetický strom rodu *Arthroderma* vytvořený na základě sekvencí *tubB* metodou Maximum likelihood. Uvedeny jsou bootstrapové podpory větví z ML analýzy >70 % a posteriorní pravděpodobnosti z Bayesovské analýzy >0,90, nižší podpory jsou nahrazeny pomlčkou. Strom je zakořeněn izoláty *Pectinotrichum llanense*, *Ctenomyces serratus* a *Onygenales sp.* (outgroup). Měřitko odpovídá počtu substitucí na jednu pozici v alignmentu (substitutions per site).



**Obr. 5** Zjednodušený fylogenetický strom rodu *Arthroderma* vytvořený na základě sekvencí *tef1a* metodou Maximum likelihood. Uvedeny jsou bootstrapové podpory větví z ML analýzy >70 % a posteriorní pravděpodobnosti z Bayesovské analýzy >0,90, nižší podpory jsou nahrazeny pomlčkou. Strom je zakořeněn izolátem *Pectinotrichum llanense* (outgroup). Měřítko odpovídá počtu substitucí na jednu pozici v alignmentu (substitutions per site).



**Obr. 6** Zjednodušený fylogenetický strom rodu *Arthroderma* vytvořený na základě sekvencí ITS metodou Maximum likelihood. Uvedeny jsou bootstrapové podpory větvi z ML analýzy >70 % a posteriorní pravděpodobnosti z Bayesovské analýzy >0,90, nižší podpory jsou nahrazeny pomlčkou. Strom je zakořeněn izoláty *Pectinotrichum llanense*, *Ctenomyces serratus* a *Onygenales sp.* (outgroup). Měřítka odpovídá počtu substitucí na jednu pozici v alignmentu (substitutions per site).

Izoláty získané v této práci podle všech čtyř stromů připadají osmi druhům rodu *Arthroderma* a jeden izolát blíže neurčenému zástupci *Onygenales* sp. Jedná se o druhy *A. crocatum*, *A. cuniculi*, *A. curreyi*, *A. quadrifidum*, *Arthroderma* sp. 4, 10, 14 a 16. Druhy *Arthroderma* sp. 4, 10 a 14 byly navrženy v diplomové práci Ivany Kučerové (Míková 2018), druh *Arthroderma* sp. 16 je v této práci nově navržený druh.

Většina druhů rodu *Arthroderma* je podpořena jak v kombinovaném fylogenetickém stromu, tak ve stromech jednolokusových. Výjimku představují druhy *Arthroderma* sp. 2 a 3. Pouze ITS rDNA podpořila druh *Arthroderma* sp. 3 v pojetí předchozí studie (izoláty CCF 5953 a CCF 5954), na druhou stranu v tomto případě není s dostatečnou podporou oddělen od druhu *A. insingulare*. Ostatní úseky a kombinovaný dataset řadí izolát CCF 5954 do druhu *Arthroderma* sp. 2 a druh *Arthroderma* sp. 3 pak zůstává zastoupen jediným izolátem CCF 5953, který opět není ve všech případech dobře oddělen od druhu *A. insingulare* (např. *tubb*).

Další rozpory jsou shrnuty níže:

1. *Arthroderma* sp. 13/sp. 14: Na základě kombinovaného datasetu a úseku *tef1a* nebyly rozlišeny druhy *Arthroderma* sp. 13 a 14 v pojetí předchozí studie. Podle těchto analýz by mohl být druh *Arthroderma* sp. 13 reprezentován pouze izolátem CCF 5861, zatímco izolát CCF 5960 by náležel druhu *Arthroderma* sp. 14.
2. *Arthroderma* sp. 8/sp. 9: Nerozlišeno na základě ITS rDNA.
3. *A. gloriae/gertleri*: Nerozlišeno na základě ITS rDNA.
4. *A. cuniculi/Arthroderma* sp. 8: Nerozlišeno na základě úseku *tef1a*.
5. *A. quadrifidum/curreyi*: Nerozlišeno na základě úseku *tef1a*.
6. *A. terrestre/ciferrii*: Nerozlišeno na základě úseku *tubb*.

Žádné z výše popsanych fylogenetických nejasností se přímo netýkají izolátů získaných v této práci.

### **4.3. Analýza fenotypu**

#### **4.3.1. Amplifikace MAT genů a indukce pohlavního stadia**

Pomocí v této práci navržených primerů jsem amplifikovala MAT geny většiny charakterizovaných izolátů. Na základě zjištěných MAT lokusů (vypsány tučně v souhrnné tabulce použitých kmenů v příloze, Tab. P2) jsem se pokusila indukovat pohlavní stadium druhů *A. cuniculi*, *Arthroderma* sp. 10 a 16. První dva jmenované druhy byly zastoupeny právě jedním izolátem od každého párovacího typu, pro indukci pohlavního stadia druhu

*Arthroderma* sp. 16 jsem vybrala 48 kombinací izolátů opačného párovacího typu (8 kmenů *MAT1-1*, 6 kmenů *MAT1-2*). Křížení izolátů druhů *A. cuniculi* a *Arthroderma* sp. 10 nebylo úspěšné, u druhu *Arthroderma* sp. 16 jsem po 6 týdnech pozorovala vyvinuté plodnice minimálně na 17 miskách, z nichž jsem vybrala čtyři, které jsem podrobila mikromorfologické analýze. Jednalo se o následující dvojice izolátů: AFS8-1 × AFS7-1, AFS8-1 × CGS2-4, CGS5-1 × AFS7-1 a CGS5-1 × CGS2-4.

Pohlavní stadium jsem se pokusila indukovat také u izolátů homothalických druhů *A. curreyi* (n = 3) a *A. crocatum* (n = 5), navození bylo úspěšné u dvou izolátů druhu *A. crocatum* (CCF 5934, CCF 6388).

### 4.3.2. Makromorfologie

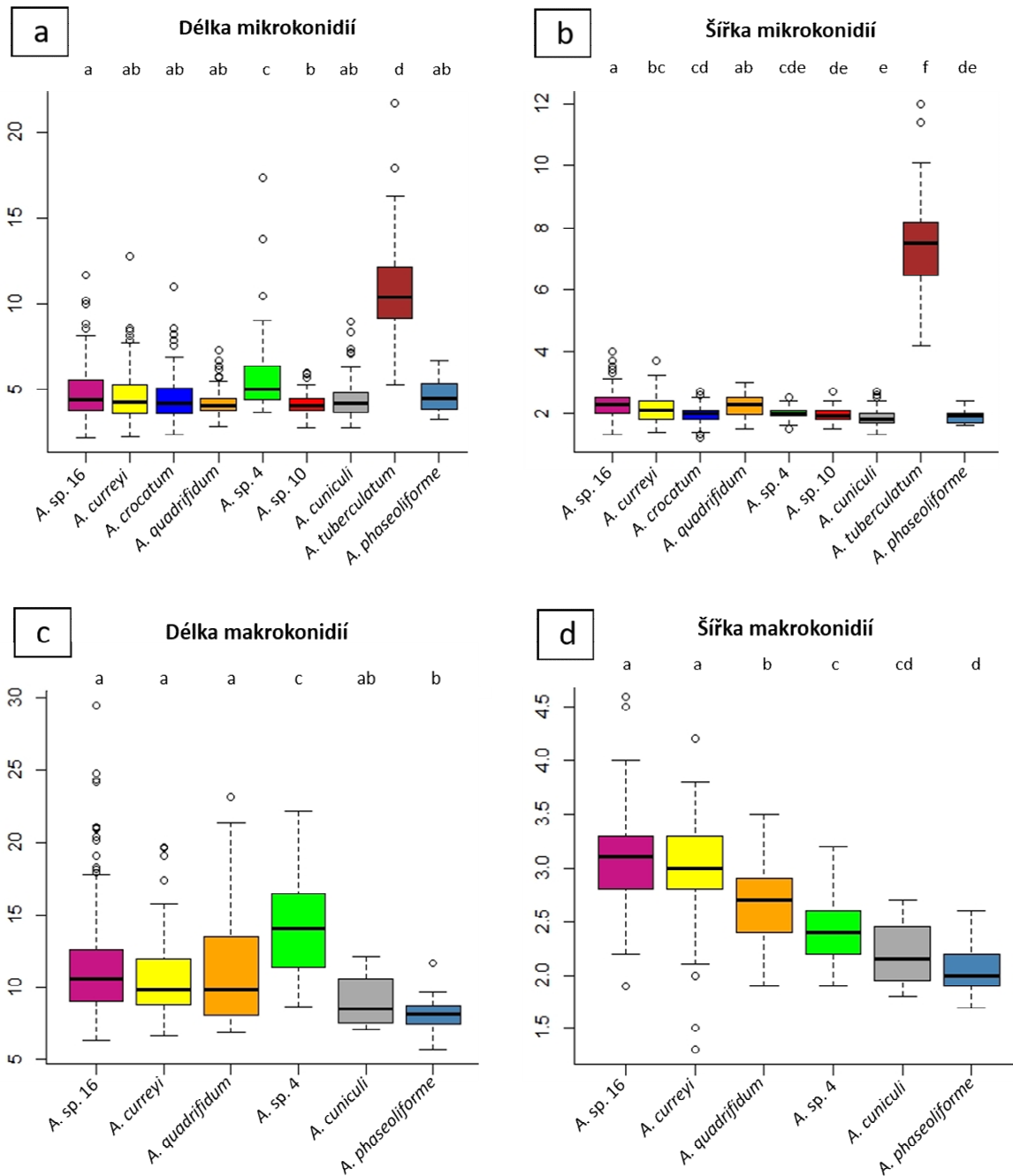
Makromorfologicky si byly zkoumané druhy značně podobné. Kolonie kultivované na čtyřech různých mediích byly vločkovité až granulární (vlivem přítomnosti pseudoaskomat) nebo sametové až vatovité, barva kolonií byla bílá až žlutobílá, revers žlutobílý až žlutý s temnějším středem (žlutý, oranžový až hnědý). Druhy se lišily rychlostí růstu na čtyřech mediích při 25 °C, nejpomaleji rostl druh *Arthroderma* sp. 4., nejrychleji *A. phaseoliforme*. Izoláty druhů *Arthroderma* sp. 4, 10 a 16, *A. cuniculi*, *A. tuberculatum* a *A. phaseoliforme* jsem kromě kultivace při 25 °C kultivovala také při 30 a 37 °C. Žádný ze zkoumaných izolátů nerostl při 37 °C, při 30 °C rostly všechny izoláty kromě druhu *Arthroderma* sp. 4 (izolát CCF 6387). Zkoumané makromorfologické znaky jsou shrnuté v příloze (Tab. P3).

### 4.3.3. Mikromorfologie

Zkoumané mikromorfologické znaky jsou shrnuté v příloze (Tab. P4 a P5). Rozměry jsou uváděny v µm ve formátu délka min–max (průměr ± směrodatná odchylka) × šířka min–max (průměr ± směrodatná odchylka). Větvení konidioforu odpovídá způsobu tvorby konidií, ty mohou být přisedlé (jednoduchý konidiofor), vznikat jednotlivě na krátkých postranních větvích (větvení 1. stupně) a postranní větve se mohou dále větvit (větvení 2. stupně).

Mikromorfologie byla relativně uniformní, většina druhů produkovala klavátní, hladké mikrokonidie na konidioforech přisedle či na větvích 1. až 2. stupně (Obr. 8-16). Pouze druh *A. tuberculatum* produkoval výrazně odlišné mikrokonidie, které byly vejčité, ostnitě a výrazně větší (Obr. 13). Makrokonidie byly většinou válcovité až doutníkovité, dvou až čtyřbuněčné (pouze dvoubuněčné u druhů *A. cuniculi* a *A. phaseoliforme*), nevyskytovaly se u druhů *A. crocatum*, *Arthroderma* sp. 10 a *A. tuberculatum*. Některé druhy se od sebe

signifikantně lišily rozměry mikro- či makrokonidií (Obr. 7). Chlamydospory byly pozorovány u druhu *Arthroderma* sp. 4 (Obr. 14), ale také u jednoho ze tří zkoumaných izolátů druhu *A. curreyi*.



**Obr. 7** Porovnání délky a šířky mikro- a makrokonidií zkoumaných druhů rodu *Arthroderma* kultivovaných 14 dní na MEA při 25 °C. Svislá osa je velikost v μm. U izolátu *A. crocatum* CCF 6388 byly mikrokonidie pozorovány a měřeny až po 21 dnech. Písmena nad boxploty označují skupiny, které se od sebe signifikantně liší ( $p < 0,05$ ). a,b. Mikrokonidie (počty izolátů, u nichž bylo provedeno měření: *A. sp. 16* = 6, *A. curreyi* = 3, *A. crocatum* = 3, *A. quadrifidum* = 1, *A. sp. 4* = 1, *A. sp. 10* = 2, *A. cuniculi* = 2, *A. tuberculatum* = 1, *A. phaseoliforme* = 1); c,d. Makrokonidie (*A. sp. 16* = 5, *A. curreyi* = 2, *A. quadrifidum* = 1, *A. sp. 4* = 1, *A. cuniculi* = 1, *A. phaseoliforme* = 1).

#### 4.4. Charakterizace druhů

*Arthroderma crocatum* Udagawa, Kubo & Shibaki 1988, *Mycotaxon* 33: 284 (1988)

Obr. 8

*Popis mikromorfologie:* Konidiofory jednoduché či s větvením 1. a 2. stupně. Mikrokonidie hladké, klavátní, rozměry  $2,4\text{--}11$  ( $4,5 \pm 3,1$ )  $\times$   $1,2\text{--}2,7$  ( $2 \pm 0,3$ )  $\mu\text{m}$ . Makrokonidie nepozorovány. Pseudoaskomata s peridiálními hyfami, peridiální buňky bradavčité, vzácně spirální hyfy. Plodnice  $300\text{--}500$   $\mu\text{m}$  v průměru, na povrchu peridiální hyfy, peridiální buňky bradavčité, protáhlé, nepravidelného tvaru. Vřecka vejčitého až kulovitého tvaru, rozměry  $3,7\text{--}6,3$  ( $5 \pm 0,5$ )  $\times$   $3,1\text{--}5,2$  ( $4,2 \pm 0,4$ )  $\mu\text{m}$ . Askospory hladké, oválné, rozměry  $1,7\text{--}2,7$  ( $2,1 \pm 0,2$ )  $\times$   $1,1\text{--}2$  ( $1,5 \pm 0,2$ )  $\mu\text{m}$ .

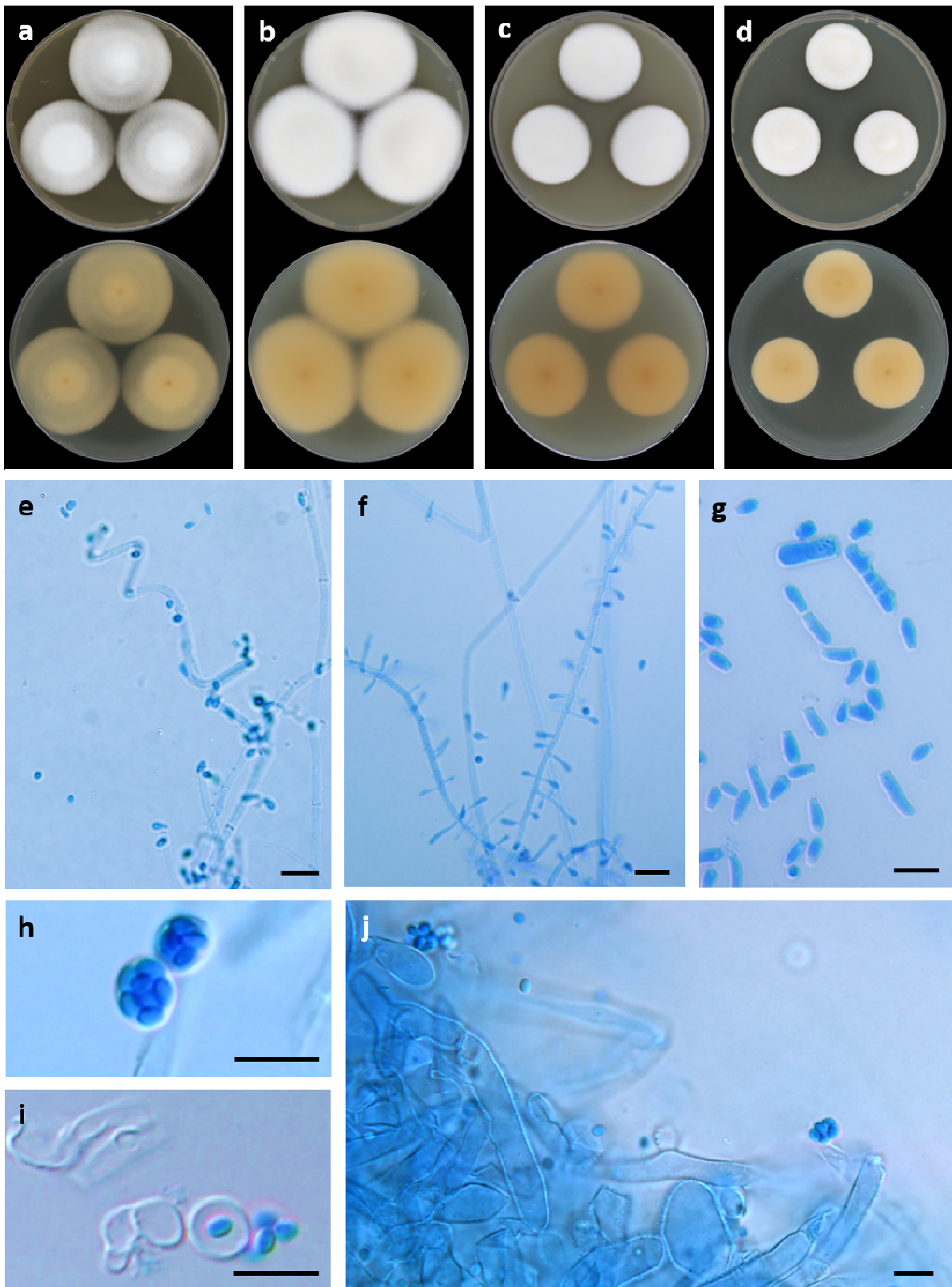
*Charakteristika kolonií (při 25 °C po 14 dnech):* Kolonie na MEA  $25\text{--}41$  mm v průměru, textura sametová až vatovitá s vyvýšenou středovou částí, barva bílá až žlutobílá (2A2), revers žlutobílý (4A2) s oranžovým středem (5B8). Kolonie na SGA  $18\text{--}48$  mm v průměru, textura vatovitá, umbonátní, na okraji vzdušné mycelium, barva bílá, revers žlutý až temně oranžový (3A6, 6A8). Kolonie na OA  $20\text{--}39$  mm v průměru, textura vatovitá až hrubě granulární, barva bílá až žlutobílá (4A2), revers sivě žlutý (4A3) se šedooranžovým středem (6B6). Kolonie na PDA  $25,5\text{--}49$  mm v průměru, textura vatovitá až granulární, barva bílá až žlutobílá (3A2), revers pastelově žlutý (3A4) s hnědým středem (6D6).

*Odlišující znaky:* Absence makrokonidií. Na pohlavním stadiu oproti *A. insingulare* peridiální buňky pouze lehce bradavčité a nepravidelného tvaru. Oproti ostatním zkoumaným druhům kolonie velmi světlé barvy.

*Zkoumané izoláty:* **CBS 130.70:** Nizozemsko, Oostelijk Flevoland, půda, izol. J. H. van Emden 1969; **CCF 5206** = KVK 101\_15: Česká republika, Brno, muž 37 let, nehty na ruce, sb. a izol. R. Dobiáš 2015; **CCF 5934** = CLIS 5170/16: Česká republika, Praha, kožní šupiny a srst kočky, sb. a izol. R. Dobiáš 2016; **CCF 6388** = CGS4-1: Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst norníka rudého (*Clethrionomys glareolus*), tato práce, 2019; **IHEM 5251** = CCF 5300 = ATCC 66309 = NHL 2986 = UAMH 6331: Japonsko, Hokkaido, Nakagawa-cho, Nakagawa-gun, půda, izol. H. Kubo 1986, ex-typový kmen

*Další izolát získaný v této práci:* **CGS8-6:** Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst norníka rudého (*Clethrionomys glareolus*), tato práce, 2019

*Ekologie:* Izoláty pocházejí z půdy ( $n = 2$ ), srsti savců ( $n = 3$ ) a lidského klinického materiálu ( $n = 2$ ). V této práci jsem druh izolovala pouze ze srsti norníka rudého.



**Obr. 8** *Arthroderma crocatum*. a-d. Kolonie po 14 dnech při 25 °C na mediu (horní řada avers, spodní reverz): a. MEA, b. SGA, c. OA, d. PDA. e-g. Nepohlavní stadium: e. Spirální hyfa. f. Větvené konidiofory. g. Hladké, klavátní mikrokonidie. h-j. Pohlavní stadium: h. Vřečka. i. Hladké, oválné aaskospory. j. Bradavčité peridiální hyfy s buňkami nepravidelného tvaru. Měřítka: 10 μm.

*Arthroderma cuniculi* C.O. Dawson, *Sabouraudia* 2: 187 (1963)

Obr. 9

*Popis mikromorfologie:* Konidiofory jednoduché či s větvením 1. a 2. stupně. Mikrokonidie hladké, klavátní, rozměry  $2,8-9 (4,4 \pm 1,1) \times 1,3-2,7 (1,9 \pm 0,3) \mu\text{m}$ . Makrokonidie pozorovány pouze u izolátu CBS 495.71, vzácné, hladké, klavátní, dvoubuněčné, rozměry  $7,1-12,2 (9,1 \pm 1,9) \times 1,8-2,7 (2,2 \pm 0,3) \mu\text{m}$ . Plodnice ani pseudoaskomata nepozorovány.

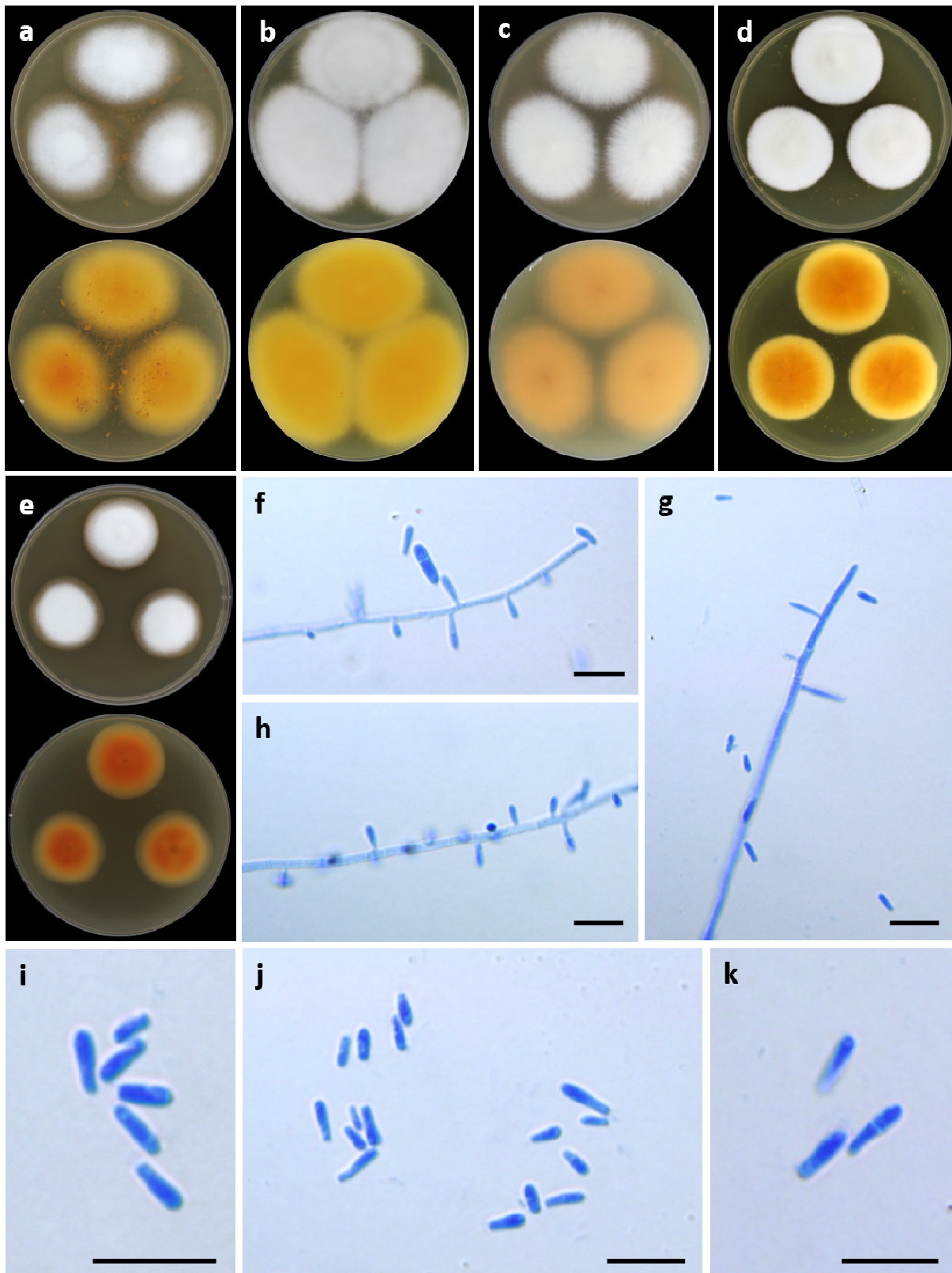
*Charakteristika kolonií (při 25 °C po 14 dnech):* Kolonie na MEA 33–46 mm v průměru, textura vatovitá, nadýchaná, barva bílá až žlutobílá (1A2), reverz světle žlutý (3A5) s oranžovým středem (5A7). Kolonie na SGA 58–61 mm v průměru, textura vatovitá, nadýchaná, barva bílá, reverz sivě až jantarově žlutý (2A3, 4B6). Kolonie na OA 50–61 mm v průměru, textura sametová až nadýchaná, barva bílá až žlutobílá (4A2), reverz pastelově až okrově žlutý (3A4, 5C7). Kolonie na PDA 29–51 mm v průměru, textura sametová až vatovitá, barva bílá až žlutobílá (3A2), reverz sivě až okrově žlutý (1A3, 5C8). Kolonie na MEA při 30 °C po 14 dnech 20–30 mm v průměru, textura sametová až vatovitá, barva bílá až sivě žlutá (2A3), reverz světle žlutý (2A5) s oranžovým středem (6B8). Neroste na MEA při 37 °C.

*Odlišující znaky:* Makrokonidie pouze dvoubuněčné. Od příbuzných druhů *Arthroderma* sp. 10, *A. tuberculatum* a *A. phaseoliforme* se liší pomalejším růstem na MEA při 30 °C, při 25 °C je růst na všech čtyřech mediích pomalejší pouze oproti druhu *A. phaseoliforme*.

*Zkoumané izoláty:* **CBS 492.71** = ATCC 28442 = IHEM 4437 = IMI 096244: UK, Skotsko, půda z králičí nory a králičí chlupy, sb. a izol. C. O. Dawson 1963, ex-typový (mating-type) kmen, párovací typ MT- (Dawson 1963), v této práci zjištěn *MAT1-2*; **CBS 495.71** = ATCC 18444 = IMI 096245: UK, Skotsko, půda z králičí nory a králičí chlupy, sb. a izol. C. O. Dawson 1963, ex-typový (mating-type) kmen, párovací typ MT+ (Dawson 1963), v této práci nezjištěn

*Další izolát získaný v této práci:* **CGS12-1:** Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst norníka rudého (*Clethrionomys glareolus*), tato práce, 2019, *MAT1-2*

*Ekologie:* Všechny zkoumané izoláty (n = 3) pocházejí ze srsti volně žijících savců, v této práci jsem druh izolovala pouze ze srsti norníka rudého.



**Obr. 9** *Arthroderma cuniculi*. a-e. Kolonie po 14 dnech na mediu (horní řada averz, spodní reverz): a. MEA, b. SGA, c. OA, d. PDA (při 25 °C), e. MEA (při 30 °C). f-h. Větvené konidiofory. i. Hladké, klavátní mikrokonidie. j. Mikrokonidie a makrokonidie. k. Hladké, klavátní, dvoubuněčné makrokonidie. Měřítka: 10 μm.

*Arthroderma curreyi* Berk., *Outl. Brit. Fung.* (London): 357 (1860)

Obr. 10

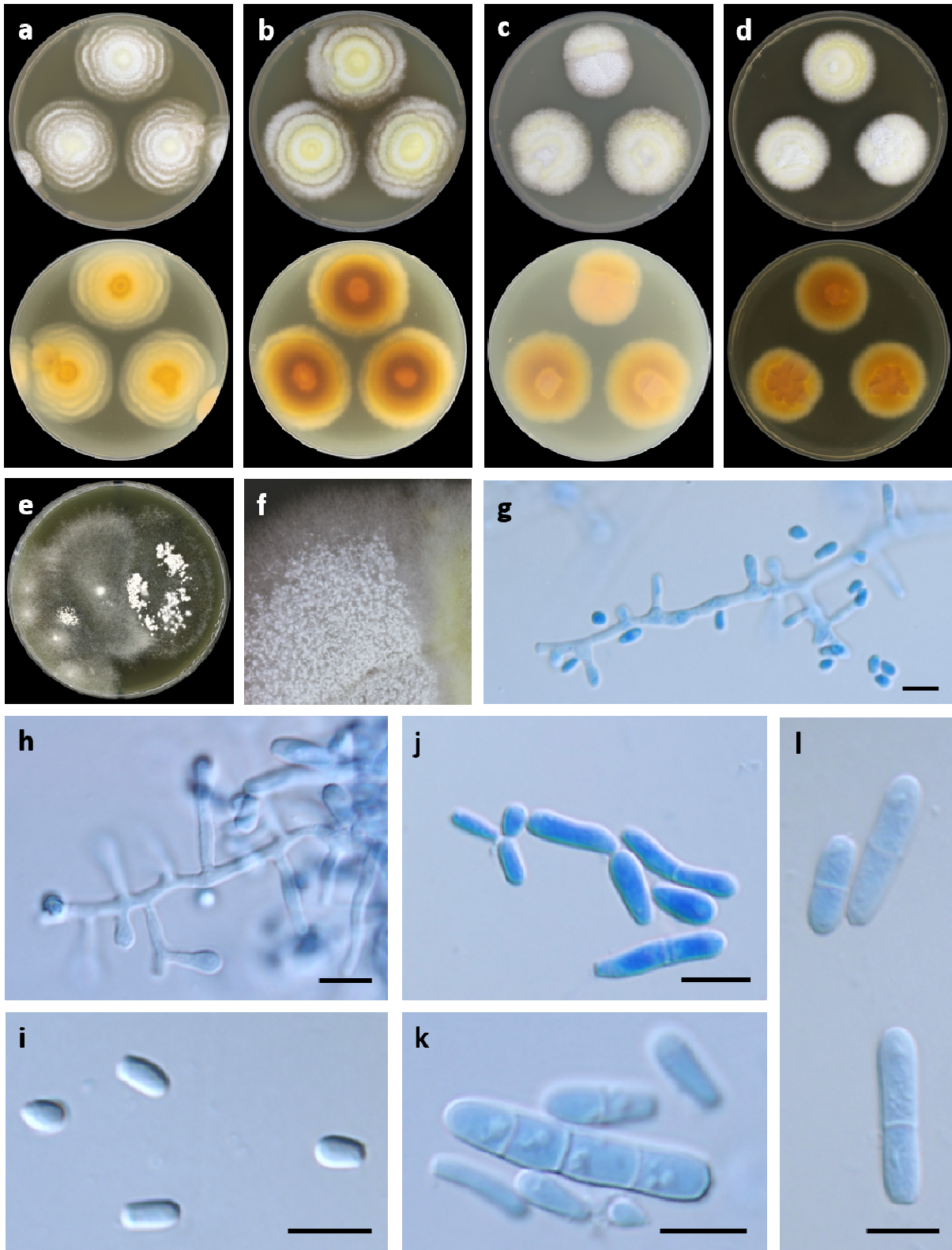
*Popis mikromorfologie:* Konidiofory jednoduché, s větvením 1. a 2. stupně. Mikrokonidie hladké, klavátní, rozměry 2,3–12,8 ( $4,6 \pm 1,5$ )  $\times$  1,4–3,7 ( $2,1 \pm 0,4$ )  $\mu\text{m}$ . Makrokonidie hladké, válcovité, dvou až čtyřbuněčné, rozměry 6,6–19,7 ( $11,1 \pm 3,1$ )  $\times$  2–4,2 ( $3 \pm 0,4$ )  $\mu\text{m}$ . U izolátu CBS 353.66 pozorovány jednotlivé buňky kulovitě až kapkovitého tvaru, pravděpodobně chlamydostry, rozměry 3–5,1 ( $4,1 \pm 0,6$ )  $\times$  2,3–4,8 ( $3,2 \pm 0,6$ )  $\mu\text{m}$ . Pseudoaskomata s peridiálními hyfami, bradavčité peridiální buňky protáhlé, nepravidelného tvaru. Plodnice nepozorovány.

*Charakteristika kolonií (při 25 °C po 14 dnech):* Kolonie na MEA 33–40 mm v průměru, střed vatovitý, umbonátní, okolo granulární, nepravidelné koncentrické uspořádání, barva bílá až žlutobílá (3A2), reverz žlutobílý (4A2) s hnědooranžovým středem (5C6). Kolonie na SGA 40–43 mm v průměru, textura sametová, umbonátní, nepravidelné koncentrické uspořádání, nepravidelné okraje, barva bílá až žlutobílá (2A6, 3A2), reverz pastelově žlutý (3A4, 5A5). Kolonie na OA 23–36 mm v průměru, textura sametová až granulární, kolonie nepravidelně vyvýšené, barva bílá až žlutobílá (1A4), reverz sivě žlutý (4A3, 6A3). Kolonie na PDA 30–35 mm v průměru, textura sametová až granulární, kolonie ve středu nepravidelně vyvýšené, náznaky koncentrického uspořádání, barva bílá až žlutobílá (1A6, 2A3), reverz žlutobílý (4A2) se žlutooranžovým středem (4A7).

*Odlišující znaky:* Dvou až čtyřbuněčné makrokonidie. U izolátu CCF 6386 nepravidelné koncentrické uspořádání kolonií na MEA a SGA. Oproti příbuznému druhu *A. quadrifidum* roste rychleji na všech čtyřech mediích, kolonie jsou žlutější, makrokonidie širší.

*Zkoumané izoláty:* **CBS 353.66:** UK, půda, izol. A. E. Apinis 1966, ex-typový kmen; **CCF 6386** = CGS6-2: Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst norníka rudého (*Clethrionomys glareolus*), tato práce, 2019; **CGS13-3:** Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst norníka rudého (*Clethrionomys glareolus*), tato práce, 2019

*Ekologie:* Izoláty pocházejí z půdy (n = 2), srsti norníka rudého (n = 2, tato práce) a kůže hada (n = 1).



**Obr. 10** *Arthroderma curreyi*. a-d. Kolonie po 14 dnech při 25 °C na mediu (horní řada avers, spodní reverz): a. MEA, b. SGA, c. OA, d. PDA. e. Kolonie s pseudoaskomaty (po 6 týdnech při 17 °C na mediu GAA). f. Detail kolonie na OA - pseudoaskomata. g,h. Větvené konidiofory. i. Hladké, klavátní mikrokonidie. j,k. Mikrokonidie a dvou a čtyřbuněčné makrokonidie. l. Hladké, válcovité, dvoubuněčné makrokonidie. Měřítka: 10 μm.

*Arthroderma phaseoliforme* (Borelli & Feo) Y. Gräser & de Hoog, in de Hoog, Dukik, Monod, Packeu, Stubbe, Hendrickx, Kupsch, Stielow, Freeke, Göker, Rezaei-Matehkolaei, Mirhendi & Gräser, *Index Fungorum* 356: 1 (2018)

Obr. 11

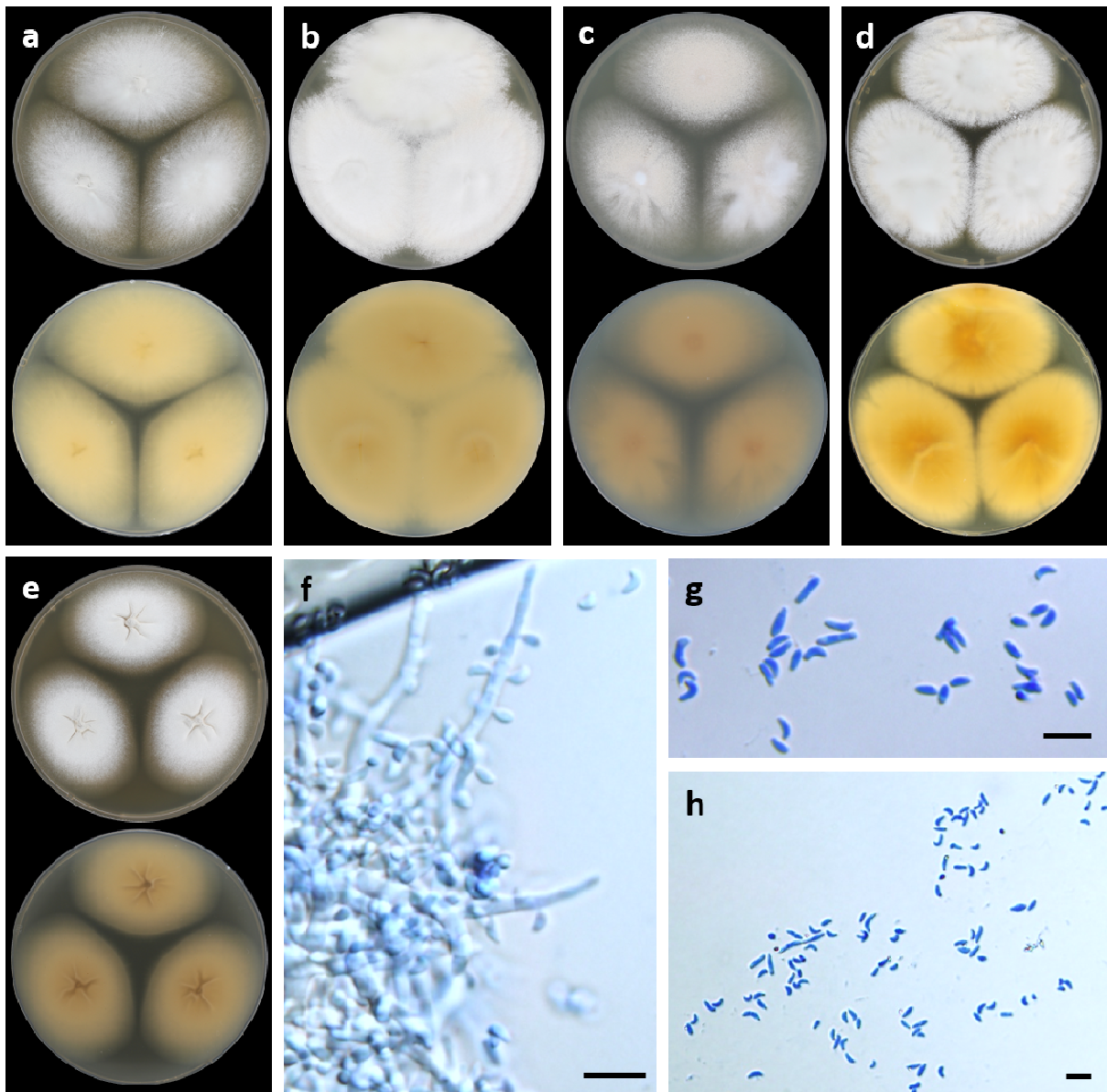
*Popis mikromorfologie:* Konidiofory jednoduché, s větvením 1. stupně. Mikrokonidie hladké, klavátní až rohlíčkovité, rozměry 3,3–6,7 ( $4,7 \pm 0,9$ )  $\times$  1,6–2,4 ( $1,9 \pm 0,2$ )  $\mu\text{m}$ . Makrokonidie vzácné, hladké, válcovité až rohlíčkovité, dvoubuněčné, rozměry 5,7–11,7 ( $8,2 \pm 1,2$ )  $\times$  1,7–2,6 ( $2,1 \pm 0,2$ )  $\mu\text{m}$ . Pseudoaskomata nepozorována.

*Charakteristika kolonií (při 25 °C po 14 dnech):* Kolonie na MEA 63–66 mm v průměru, textura vločkovitá s vatovitými úseky, střed nepravidelně vyvýšený, barva bílá až žlutobílá (4A2), revers žlutobílý (4A2). Kolonie na SGA 68 mm v průměru, textura sametová až vatovitá, na okraji vločkovitá, střed nepravidelně zprohýbaný, barva bílá až žlutobílá (4A2), revers světle žlutý (3A5). Kolonie na OA 60–61 mm v průměru, textura sametová až granulární s vatovitými úseky, okraj zanořený, barva oranžovobílá (5A2) s bílými úseky, revers sivě žlutý až šedooranžový (4A3, 5B4). Kolonie na PDA 60–62 mm v průměru, textura vatovitá až vločkovitá, střed nepravidelně vyvýšený s radiálním rýhováním, okraj zanořený, barva bílá až oranžovobílá (5A2), revers sivě žlutý až žlutooranžový (3A3, 4A7). Kolonie na MEA při 30 °C po 14 dnech 51–52 mm v průměru, textura vločkovitá, střed nepravidelně rýhovaný, barva bílá až sivě žlutá (4A3), revers sivě žlutý (3A3) s šedožlutým středem (4B5). Neroste na MEA při 37 °C.

*Odlišující znaky:* Makrokonidie pouze dvoubuněčné. Od ostatních zkoumaných druhů se liší rohlíčkovitým tvarem mikrokonidií a výrazně rychlejším růstem kolonií na všech čtyřech mediích.

*Zkoumaný izolát:* **CBS 364.66:** Venezuela, kožešina z hlodavce (*Proechimys guyanensis*), sb. a izol. D. Borelli 1966, ex-typový kmen, v této práci zjištěn *MATI-1*

*Ekologie:* Ekologická data jsou nedostatečná, analyzován byl jediný izolát.



**Obr. 11** *Arthroderma phaseoliforme*. a-d. Kolonie po 14 dnech na mediu (horní řada averz, spodní reverz): a. MEA, b. SGA, c. OA, d. PDA (při 25 °C), e. MEA (při 30 °C). f. Nevětvené konidiofory s přisedlými mikrokonidii. g,h. Hladké, klavátní až rohličkovité mikrokonidie a hladké, válcovité až rohličkovité dvoubuněčné makrokonidie. Měřítka: 10 μm.

*Arthroderma quadrifidum* C.O. Dawson & Gentles, *Sabouraudia* 1: 55 (1961)

Obr. 12

*Popis mikromorfologie:* Konidiofory jednoduché, s větvením 1. stupně. Mikrokonidie hladké, klavátní, rozměry 2,9–7,3 ( $4,3 \pm 0,9$ )  $\times$  1,5–3 ( $2,2 \pm 0,4$ )  $\mu\text{m}$ . Makrokonidie hladké, doutníkovité až válcovité, dvou až čtyřbuněčné, rozměry 6,9–23,2 ( $11,4 \pm 4,2$ )  $\times$  1,9–3,5 ( $2,6 \pm 0,3$ )  $\mu\text{m}$ . Pseudoaskomata s peridiálními hyfami s mírně zahnutými konci, bradavčité peridiální buňky protáhlého až činkovitého tvaru.

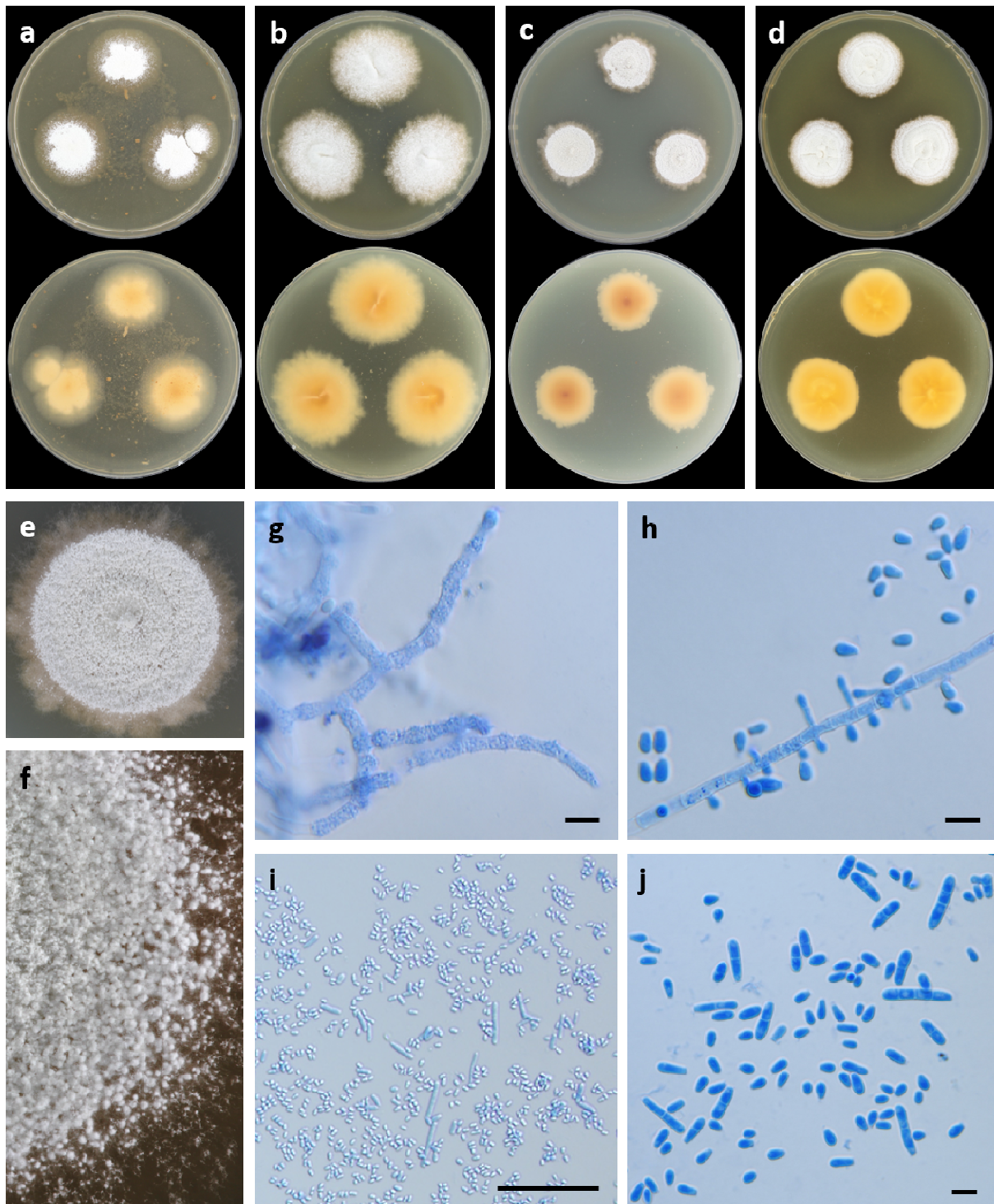
*Charakteristika kolonií (při 25 °C po 14 dnech):* Kolonie na MEA 27–31 mm v průměru, textura granulární, okraj zanořený, barva bílá, reverz sivě žlutý (4A3) se žlutooranžovým středem (4A6). Kolonie na SGA 31–36 mm v průměru, textura vločkovitá, střed nepravidelně zprohýbaný, barva bílá, reverz sivě žlutý (3A3) se žlutooranžovým středem (4A6). Kolonie na OA 20–24 mm v průměru, textura granulární, nepravidelný okraj, barva bílá, reverz žlutobílý (4A2) s hnědooranžovým středem (5C5). Kolonie na PDA 26–27,5 mm v průměru, textura granulární, radiální rýhování a koncentrické uspořádání, nepravidelný okraj, barva žlutobílá (1A2), reverz žlutooranžový (4A6).

*Odlišující znaky:* Oproti příbuznému druhu *A. curreyi* roste pomaleji na všech čtyřech mediích, kolonie jsou bělejší, makrokonidie užší.

*Zkoumaný izolát:* **CCF 6385** = MMB9-2: Česká republika, garáž u obytné budovy v Brandýse n. L., srst myši domácí (*Mus musculus*), tato práce, 2019, *MATI-2*

*Další izolát získaný v této práci:* **H391-1:** Česká republika, stáje Povodí (Cheb), srst myši domácí (*Mus musculus*), tato práce, 2019, *MATI-1*

*Ekologie:* Do fylogenetické analýzy bylo zahrnuto celkem 65 izolátů, které pocházejí z lidského materiálu ( $n = 27$ ), půdy ( $n = 19$ ), kůže a kožních derivátů obratlovců ( $n = 10$ ) a jeskynního sedimentu ( $n = 4$ ), u zbývajících pěti izolátů je původ neznámý. V této práci jsem druh izolovala pouze ze srsti myši domácí, která žije synantropně (izoláty byly získány z jedinců chycených v garáži a stáji).



**Obr. 12** *Arthroderma quadrifidum*. a-d. Kolonie po 14 dnech při 25 °C na mediu (horní řada averz, spodní reverz): a. MEA, b. SGA, c. OA, d. PDA. e. Detail kolonie na OA. f. Detail kolonie na MEA – pseudoaskomata. g. Bradavčité peridiální hyfy s buňkami protáhlého až činkovitého tvaru. h. Větvený konidiofor s mikrokonidiemi. i,j. Hladké, klavátní mikrokonidie a hladké, doutníkovité až válcovité, dvou až čtyřbuněčné makrokonidie. Měřítka: i = 100 μm, ostatní 10 μm.

*Arthroderma tuberculatum* Kühn, *Mycopath. Mycol. appl.* 13(3): 190 (1960)

Obr. 13

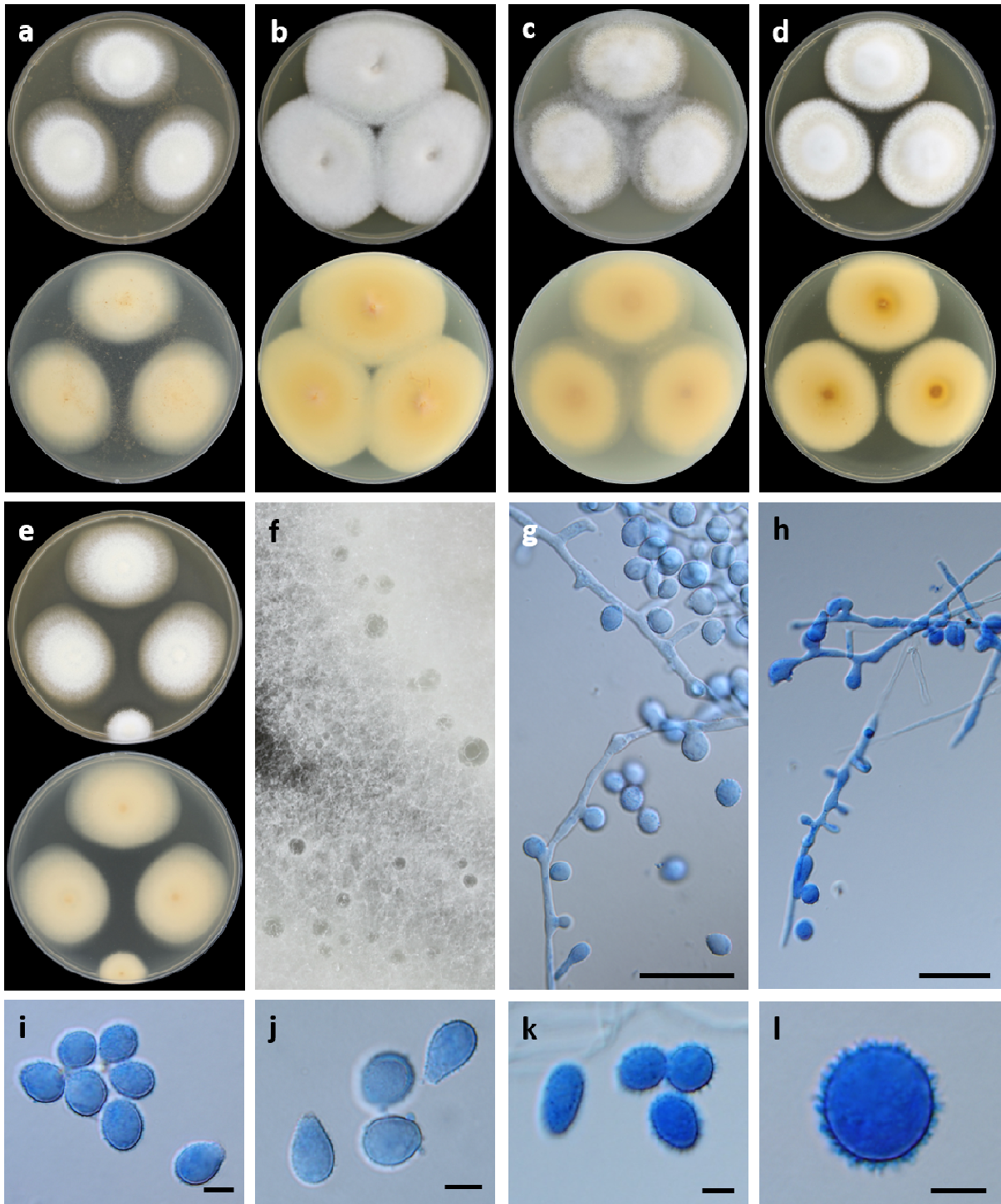
*Popis mikromorfologie:* Konidiofory jednoduché, s větvením 1. stupně. Mikrokonidie ostnitě, kulovité, vejčité až klavátní, rozměry 5,3–21,7 ( $10,8 \pm 2,9$ )  $\times$  4,2–12 ( $7,4 \pm 1,6$ )  $\mu\text{m}$ . Makrokonidie nepozorovány. Pseudoaskomata nepozorována.

*Charakteristika kolonií (při 25 °C po 14 dnech):* Kolonie na MEA 41–44 mm v průměru, textura vločkovitá až sametová, barva bílá až žlutobílá (3A2), reverz sivě žlutý (3A3). Kolonie na SGA 52–54 mm v průměru, textura sametová, středový kráter, barva bílá až žlutobílá (1A2), reverz žlutobílý až světle žlutý (3A2, 3A5). Kolonie na OA 44–45 mm v průměru, střed vatovitý, okolo granulární, na okraji vzdušné mycelium, barva bílá až žlutobílá (3A2), reverz sivě žlutý (3A3) s hnědooranžovým středem (5C5). Kolonie na PDA 40–41 mm v průměru, střed vatovitý, okraj vločkovitý, barva bílá až sivě žlutá (3A3), reverz sivě žlutý (3A3) se zlatohnědým středem (5D7). Kolonie na MEA při 30 °C po 14 dnech 40–42 mm v průměru, textura vločkovitá, umbonátní, okraj zanořený, barva bílá až žlutobílá (2A2), reverz žlutobílý (4A2) s šedožlutým středem (4B6). Neroste na MEA při 37 °C.

*Odlišující znaky:* Absence makrokonidií. Od ostatních zkoumaných druhů se liší velkými ostnitými mikrokonidii vejčitého tvaru. Oproti blízkce příbuznému druhu *A. phaseoliforme* roste pomaji na všech čtyřech mediích.

*Zkoumaný izolát:* CBS 473.77 = ATCC 26700 = UAMH 873: USA, Illinois, Urbana, peří drozda (*Turdus americanus*), izol. H. H. Kühn 1954, ex-typový kmen, párovací typ MT+ (Sekhon et al. 1973), v této práci nezjištěn

*Ekologie:* Ekologická data jsou nedostatečná, analyzovány byly pouze dva izoláty, z nichž jeden pocházel z ptačího peří v USA a jeden z půdy v Indii.



**Obr. 13** *Arthroderma tuberculatum*. a-e. Kolonie po 14 dnech na mediu (horní řada averz, spodní reverz): a. MEA, b. SGA, c. OA, d. PDA (při 25 °C), e. MEA (při 30 °C). f. Detail kolonie na SGA. g,h. Větvené konidiofory. i-l. Ostnité, kulovité, vejčité až klavátní mikrokonidie. Měřítka: g,h = 50  $\mu$ m, ostatní 10  $\mu$ m.

#### ***Arthroderma* sp. 4**

Obr. 14

*Popis mikromorfologie:* Konidiofory jednoduché, s větvením 1. a 2. stupně. Mikrokonidie hladké, válcovité až klavátní, rozměry  $3,7\text{--}17,4$  ( $5,8 \pm 2,4$ )  $\times$   $1,5\text{--}2,5$  ( $2 \pm 0,2$ )  $\mu\text{m}$ . Makrokonidie hladké, válcovité, dvou až čtyřbuněčné, rozměry  $8,7\text{--}22,2$  ( $14,5 \pm 3,5$ )  $\times$   $1,9\text{--}3,2$  ( $2,4 \pm 0,3$ )  $\mu\text{m}$ . Pozorovány jednotlivé velké buňky kulovitého až vejčitého tvaru, pravděpodobně chlamydospory, rozměry  $3,8\text{--}7,3$  ( $5 \pm 0,8$ )  $\times$   $3,3\text{--}6,7$  ( $4,5 \pm 0,8$ )  $\mu\text{m}$ . Pseudoaskomata nepozorována.

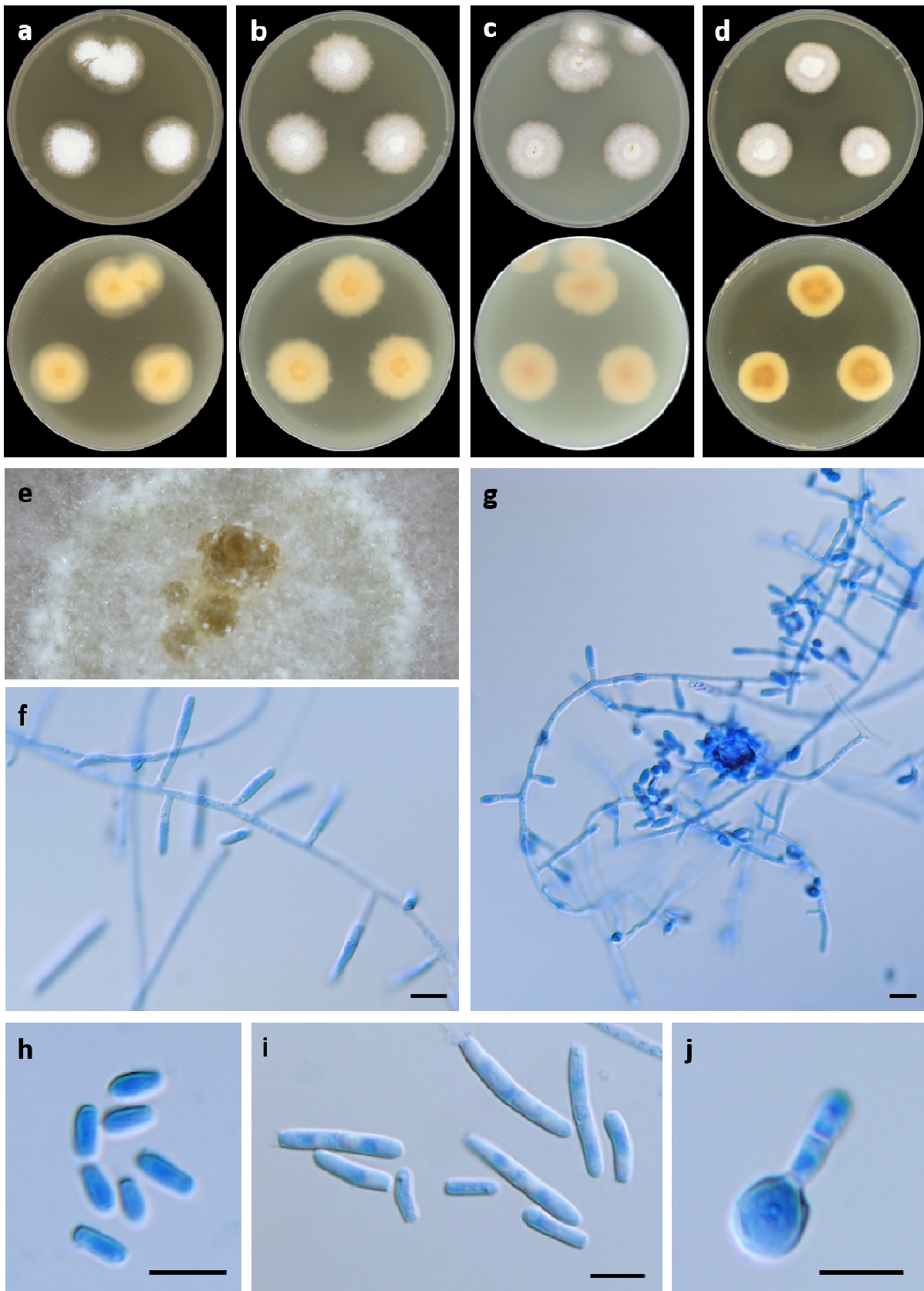
*Charakteristika kolonií (při 25 °C po 14 dnech):* Kolonie na MEA 25–26 mm v průměru, textura vločkovitá, okraj zanořený, barva bílá až žlutobílá (2A2), reverz žlutobílý (4A2) s hnědooranžovým středem (5C5). Kolonie na SGA 28–30 mm v průměru, střed sametový až granulární, okolo jemné vatovité mycelium s nepravidelným okrajem, barva bílá až žlutobílá (1A2), reverz žlutobílý (4A2) se žlutooranžovým středem (4A6). Kolonie na OA cca 25 mm v průměru, střed granulární, okolo vatovité vzdušné mycelium, barva bílá až žlutobílá (2A2), ve středu jantarově žlutý (4B6) exudát, reverz žlutobílý (4A2) s hnědooranžovým středem (6C4). Kolonie na PDA 21,5–23,5 mm v průměru, střed granulární, okolo vatovité mycelium, nepravidelný okraj, barva bílá až žlutobílá (2A2), reverz šedožlutý (4B4) se světle hnědým středem (5D5). Neroste na MEA při 30 ani 37 °C.

*Odlišující znaky:* Jediný ze zkoumaných kmenů, který nerostl na MEA při 30 °C a produkoval exudát (na OA). Produkce chlamydospor. Od příbuzných druhů *A. insingulare* a *Arthroderma* sp. 16 se liší pomalejším růstem na všech čtyřech mediích, od *A. insingulare* navíc produkcí až čtyřbuněčných makrokonidií (vs. dvou až třibuněčné) (Míková 2018). Oproti *Arthroderma* sp. 16 produkuje delší a užší mikro- i makrokonidie.

*Zkoumaný izolát:* CCF 6387 = CGS12-4: Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst norníka rudého (*Clethrionomys glareolus*), tato práce, 2019, MAT1-2

*Další izolát:* 07MA15: USA, Massachusetts, půda z hibernákula netopýrů, sb. 2008/2009, izol. J. M. Lorch, MAT lokus neidentifikován

*Ekologie:* Ekologická data jsou nedostatečná, tento nepopsaný druh je zastoupen pouze dvěma izoláty, z nichž jeden pochází ze srsti norníka rudého z této práce a druhý z USA (Lorch et al. 2013). Pro tento izolát byla dostupná pouze sekvence ITS, nikoli kultura, proto nemohl být podroben analýze fenotypu ani křížicímu pokusu s izolátem z této práce.



**Obr. 14** *Arthroderma* sp. 4. a-d. Kolonie po 14 dnech při 25 °C na mediu (horní řada averz, spodní reverz): a. MEA, b. SGA, c. OA, d. PDA. e. Detail kolonie s exudátem (OA). f,g. Větvené konidiofory. h. Hladké, válcovité až klavátní mikrokonidie. i. Hladké, válcovité, dvou až čtyřbuněčné makrokonidie. j. Klíčící vejčitá chlamydospora. Měřítka: 10  $\mu$ m.

## ***Arthroderma* sp. 10**

Obr. 15

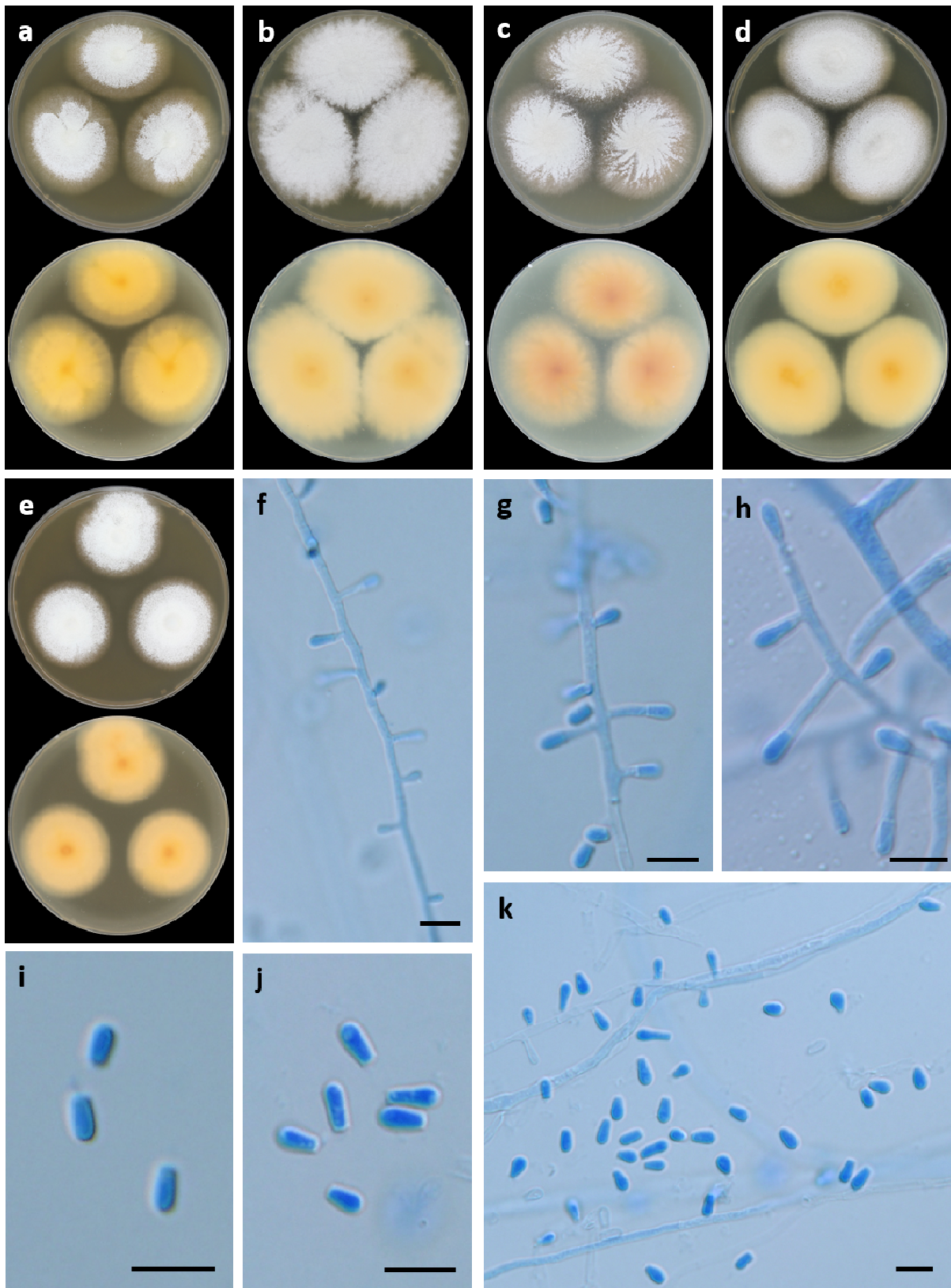
*Popis mikromorfologie:* Konidiofory jednoduché, s větvením 1. a 2. stupně. Mikrokonidie hladké, klavátní, rozměry 2,8–6 (4,1 ± 0,6) × 1,5–2,7 (2 ± 0,2) μm. Makrokonidie nepozorovány. Pseudoaskomata s peridiálními hyfami s mírně zahnutými a zašpičatělými konci, bradavčité peridiální buňky činkovitého tvaru, vzácně spirální hyfy.

*Charakteristika kolonií (při 25 °C po 14 dnech):* Kolonie na MEA 41–46 mm v průměru, textura vločkovitá až granulární, barva bílá až žlutobílá (2A2), reverz žlutobílý až žlutooranžový (4A2, 4A6). Kolonie na SGA 55–61 mm v průměru, textura vločkovitá až granulární, umbonátní, barva bílá až žlutobílá (3A2), reverz světle žlutý až červenooranžový (4A4, 6C7). Kolonie na OA 43–48 mm v průměru, textura vločkovitá až granulární, barva bílá až žlutobílá (4A2), reverz sivě žlutý (4A3) se světle hnědým středem (6D7). Kolonie na PDA 44–51 mm v průměru, textura hrubě granulární, umbonátní, barva bílá až sivě žlutá (3A3), reverz žlutobílý až žlutooranžový (3A2, 4A6). Kolonie na MEA při 30 °C po 14 dnech 35–38 mm v průměru, textura vločkovitá, umbonátní, okraj zanořený, barva bílá až smetanová, reverz krémový (4A3) s meruňkově žlutým středem (5B6). Neroste na MEA při 37 °C.

*Odlišující znaky:* Od příbuzných druhů *A. cuniculi*, *A. tuberculatum* a *A. phaseoliforme* se liší mikro- i makromorfologicky. Od *A. cuniculi* a *A. phaseoliforme* se liší absencí makrokonidií. Od druhů *A. phaseoliforme* a *A. tuberculatum* se liší hladkými, klavátními mikrokonidii. Mikrokonidie druhu *A. phaseoliforme* jsou rohlíčkovité a druh *A. tuberculatum* má mikrokonidie výrazně větší, vejčité a ostnité. Druh *Arthroderma* sp. 10 roste oproti druhu *A. cuniculi* pomaleji na OA při 25 °C a rychleji na MEA při 30 °C. Druhy *A. tuberculatum* a *A. phaseoliforme* rostou na MEA při 30 °C naopak rychleji, *A. phaseoliforme* roste z těchto čtyř druhů nejrychleji na všech mediích.

*Zkoumané izoláty:* **CCF 5959** = CFMR 44736-13-C4-I1: USA, Massachusetts, kůže chřestýše lesního (*Crotalus horridus*), sb. J. Condon, izol. J. M. Lorch 2013, v této práci zjištěn *MAT1-2*; **CCF 6382** = CGS2-5: Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst norníka rudého (*Clethrionomys glareolus*), tato práce, 2019, *MAT1-1*

*Ekologie:* Ekologická data jsou nedostatečná, tento nepopsaný druh je zastoupen pouze dvěma izoláty, z nichž jeden pochází ze srsti norníka rudého z této práce a druhý z kůže plaza z USA.



**Obr. 15** *Arthroderma* sp. 10. a-e. Kolonie po 14 dnech na mediu (horní řada averz, spodní reverz): a. MEA, b. SGA, c. OA, d. PDA (při 25 °C), e. MEA (při 30 °C). f-h. Větvené konidiofory. i-k. Hladké, klavátní mikrokonidie. Měřítka: 10 μm.

## ***Arthroderma* sp. 16**

Obr. 16, Obr. 17

*Popis mikromorfologie:* Konidiofory jednoduché či s větvením 1. a 2. stupně. Mikrokonidie hladké, klavátní, rozměry  $2,2\text{--}11,7$  ( $4,8 \pm 1,3$ )  $\times$   $1,3\text{--}4$  ( $2,3 \pm 0,4$ )  $\mu\text{m}$ . Makrokonidie hladké, doutníkovité až válcovité, dvou až čtyřbuněčné, rozměry  $6,3\text{--}29,5$  ( $11,3 \pm 3,4$ )  $\times$   $1,9\text{--}4,6$  ( $3,1 \pm 0,4$ )  $\mu\text{m}$ . Pseudoaskomata s peridiálními hyfami, bradavčité peridiální buňky činkovitého tvaru, vzácně spirální hyfy. Plodnice  $300\text{--}600$   $\mu\text{m}$  v průměru, na povrchu plodnic peridiální hyfy se zatočenými konci, ostnitě peridiální buňky činkovitého tvaru s výrazným zúžením, dlouhé  $6,7\text{--}13,2$  ( $9,1 \pm 1,3$ )  $\mu\text{m}$ , v nejširším místě  $3,1\text{--}7$  ( $5 \pm 0,8$ )  $\mu\text{m}$ , v nejužším místě  $2\text{--}5,4$  ( $3,2 \pm 0,5$ )  $\mu\text{m}$ . Vřečka vejčitého až kulovitého tvaru, rozměry  $4,3\text{--}6,6$  ( $5,3 \pm 0,4$ )  $\times$   $3,2\text{--}5,4$  ( $4,3 \pm 0,4$ )  $\mu\text{m}$ . Askospory hladké, oválné, rozměry  $1,8\text{--}3$  ( $2,3 \pm 0,2$ )  $\times$   $1\text{--}2,5$  ( $1,7 \pm 0,2$ )  $\mu\text{m}$ .

*Charakteristika kolonií (při 25 °C po 14 dnech):* Kolonie na MEA  $36\text{--}47$  mm v průměru, textura sametová až granulární, umbonátní, na okraji vzdušné mycelium, barva bílá až žlutobílá (3A2), revers žlutobílý (3A2) se žlutooranžovým středem (4B8). Kolonie na SGA  $30\text{--}47$  mm v průměru, textura sametová až granulární, umbonátní, koncentrické uspořádání, barva bílá až světle žlutá (1A6, 2A5), revers žlutý (2A7) se žlutohnědým středem (6D7). Kolonie na OA  $28\text{--}43$  mm v průměru, textura vločkovitá až sametová, umbonátní, na okraji vzdušné mycelium, barva bílá až žlutobílá (3A2), revers žlutý (3A6) s hnědým středem (5E6). Kolonie na PDA  $25\text{--}41$  mm v průměru, textura sametová až vatovitá, umbonátní, koncentrické uspořádání, barva bílá až pastelově žlutá (1A8, 2A4), revers žlutý (2A6) s hnědým středem (6E5). Kolonie na MEA při 30 °C po 14 dnech  $14\text{--}24$  mm v průměru, střed kolonie sametový, vyvýšený, okolo jemné mycelium, koncentrické uspořádání, barva bílá až sírově žlutá (1A5, 2A4), revers žlutobílý se žlutým až hnědým středem (3A5, 5E7). Neroste na MEA při 37 °C.

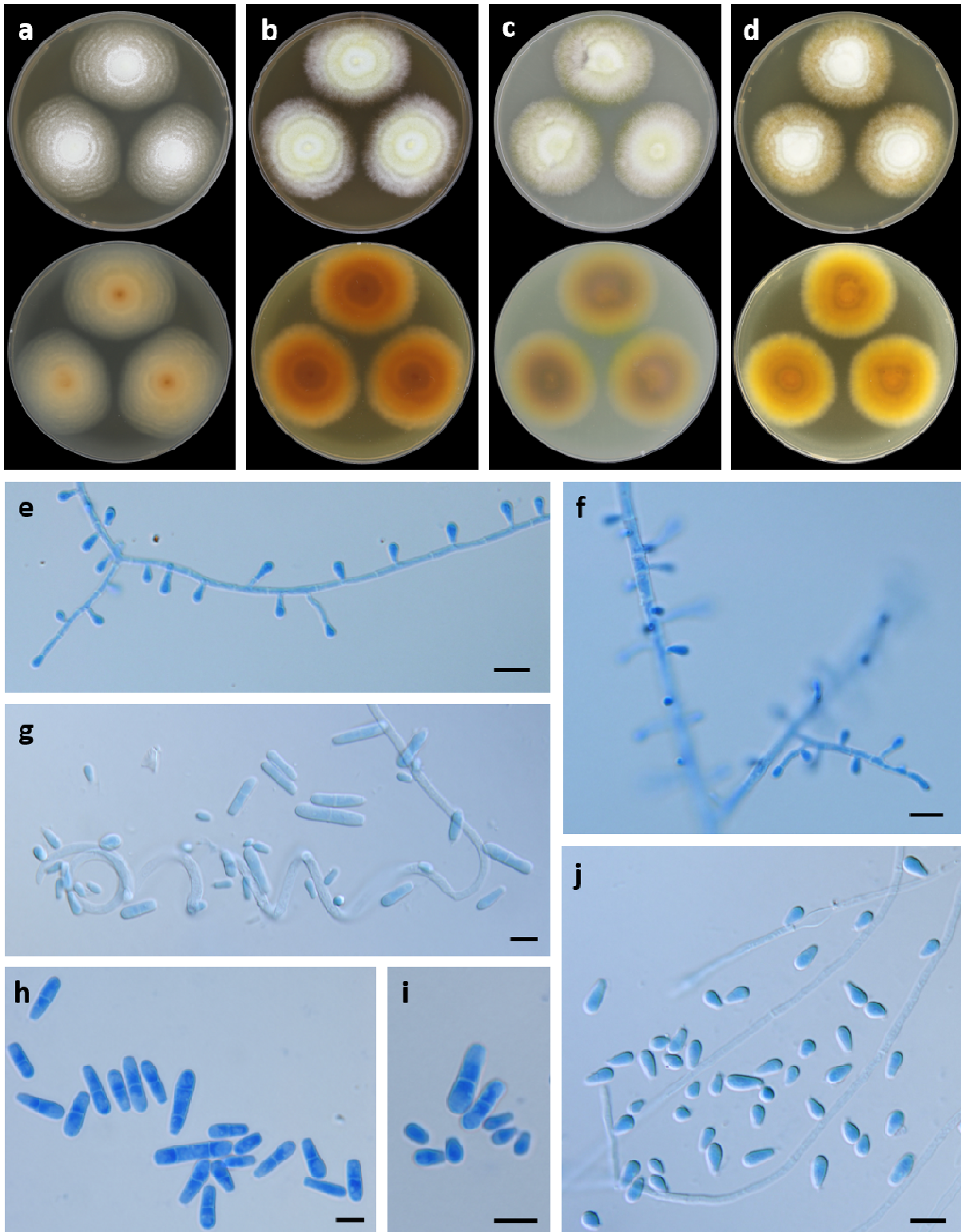
*Odlišující znaky:* Koncentrické uspořádání kolonií. Od blízkce příbuzného druhu *A. insingulare* se liší sametovými až granulárními koloniemi (vs. vatovité), žlutým až žlutohnědým reverzem kolonií (vs. světle žlutý) a produkcí až čtyřbuněčných makrokonidií (vs. dvou až třibuněčné). Na pohlavním stadiu se od tohoto druhu liší celkově menšími vřečky a kratšími askosporami (Míková 2018). Od druhu *Arthroderma* sp. 4 se liší rychlejším růstem na všech čtyřech mediích a produkcí kratších a širších mikro- i makrokonidií.

*Zkoumané izoláty:* **AFS13T-2:** Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst myšice lesní (*Apodemus flavicollis*), tato práce, 2019, MAT1-1; **AFS16-1ZN:** Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst myšice lesní (*Apodemus flavicollis*), tato

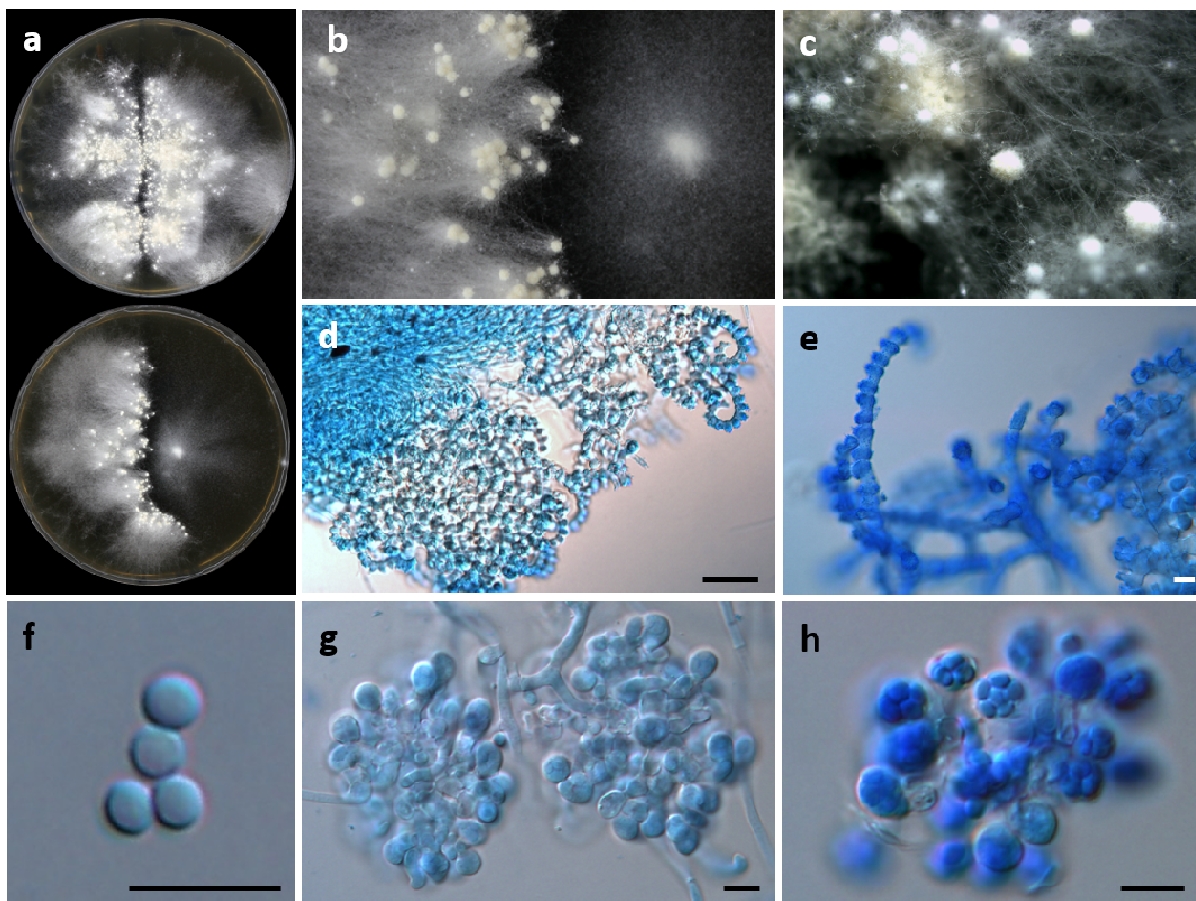
práce, 2019, *MAT1-2*; **CCF 6383** = AFS11-3: Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst myšice lesní (*Apodemus flavicollis*), tato práce, 2019, *MAT1-2*; **CCF 6384** = CGS13-1: Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst norníka rudého (*Clethrionomys glareolus*), tato práce, 2019, *MAT1-2*; **CGS6-3**: Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst norníka rudého (*Clethrionomys glareolus*), tato práce, 2019, *MAT1-2*; **CGS14-2**: Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst norníka rudého (*Clethrionomys glareolus*), tato práce, 2019, *MAT1-1*

*Další izoláty získané v této práci:* **AFS1-4B**: Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst myšice lesní (*Apodemus flavicollis*), tato práce, 2019, *MAT1-1*; **AFS2-3**: Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst myšice lesní (*Apodemus flavicollis*), tato práce, 2019, *MAT1-1*; **AFS7-1**: Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst myšice lesní (*Apodemus flavicollis*), tato práce, 2019, *MAT1-2*; **AFS8-1**: Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst myšice lesní (*Apodemus flavicollis*), tato práce, 2019, *MAT1-1*; **AFS12-3**: Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst myšice lesní (*Apodemus flavicollis*), tato práce, 2019, *MAT1-2*; **AFS15-3**: Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst myšice lesní (*Apodemus flavicollis*), tato práce, 2019, *MAT1-2*; **CGS1-3**: Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst norníka rudého (*Clethrionomys glareolus*), tato práce, 2019, *MAT1-2*; **CGS2-4**: Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst norníka rudého (*Clethrionomys glareolus*), tato práce, 2019, *MAT1-2*; **CGS5-1**: Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst norníka rudého (*Clethrionomys glareolus*), tato práce, 2019, *MAT1-1*; **CGS8-7**: Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst norníka rudého (*Clethrionomys glareolus*), tato práce, 2019, *MAT1-1*; **CGS9-1**: Česká republika, les poblíž Sedlečka (Karlovy Vary), srst norníka rudého (*Clethrionomys glareolus*), tato práce, 2019, *MAT1-1*

*Ekologie:* Izoláty pocházejí pouze z této práce, ze srsti hlodavců z lesa, lokalita Sedlečko. Celkem bylo získáno 17 izolátů, z toho osm ze srsti norníka rudého a devět ze srsti myšice lesní. Jedná se o jediný druh izolovaný ze srsti myšice lesní.



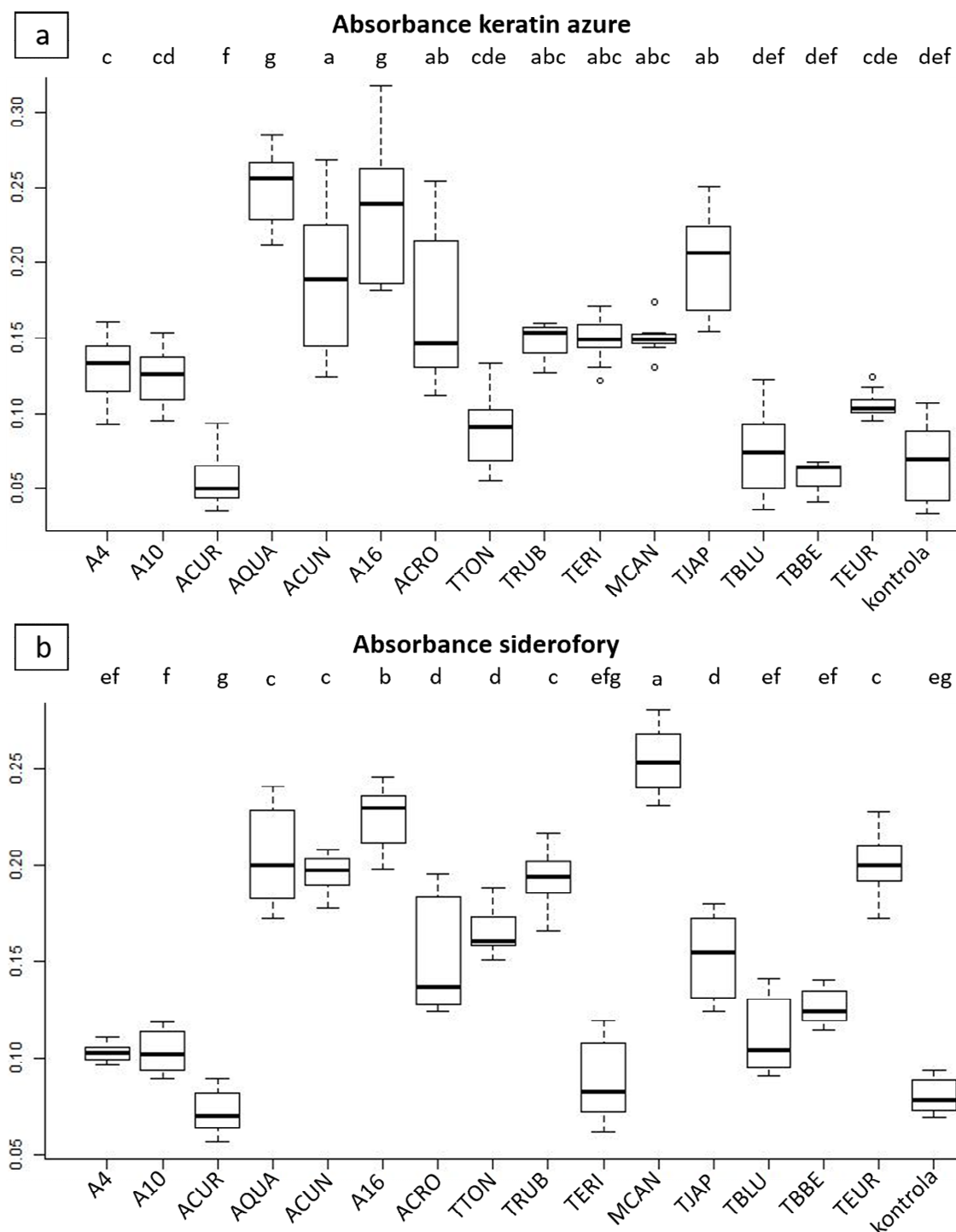
**Obr. 16** Nepohlavní stadium *Arthroderma* sp. 16. a-d. Kolonie po 14 dnech při 25 °C na mediu (horní řada averz, spodní revers): a. MEA, b. SGA, c. OA, d. PDA. e,f. Větvené konidiofory. g. Spirální hyfa. h. Hladké, doutníkovité až válcovité, dvou a třibuněčné makrokonidie. i. Makrokonidie a mikrokonidie. j. Hladké, klavátní mikrokonidie. Měřítka: 10 μm.



**Obr. 17** Pohlavní stadium *Arthroderma* sp. 16. a. Zkřížené kmeny po 6 týdnech při 17 °C na mediu GAA (nahore AFS8-1 × CCF 6383, dole AFS8-1 × CGS2-4). b,c. Detail plodnic (b. AFS8-1 × CGS2-4; c. AFS2-3 × CCF 6384). d,e. Ostnitě peridiální hyfy, buňky činkovitého tvaru s výrazným zúžením. f. Hladké, oválné askospory. g,h. Vřečka. Měřítka: d = 50  $\mu$ m, ostatní 10  $\mu$ m.

#### 4.5. Testy biologické aktivity

Hodnoty pH měřené při kultivaci na ovčí vlně v průběhu 4 týdnů jsou zachycené na grafu v příloze (Obr. P5). Nejvyšší hodnoty pH byly naměřeny u většiny izolátů po 21 dnech. U druhů *Arthroderma* sp. 10, *T. erinacei* a *T. japonicum* byla maximální hodnota naměřena již po 14 dnech, druhy *Arthroderma* sp. 16, *A. crocatum* a *T. europaeum* se pohybovaly v nejvyšších hodnotách pH mezi 14. a 21. dnem. Maximální hodnoty pro jednotlivé druhy se pohybovaly okolo pH 9. Naopak u druhů *A. curreyi* a *T. tonsurans* se pH zvýšilo i při posledním měření po 28 dnech a dosahovalo 8,7, respektive 8,8. Je tedy pravděpodobné, že maxima nebylo během sledovaného období dosaženo. Absolutní maximum bylo naměřeno u druhu *A. quadrifidum*, pH 9,1.



**Obr. 18** Grafy zobrazující keratinolytickou aktivitu (a) a produkci sideroforů (b) 15 druhů dermatofytů. Hodnoty pro každý druh zahrnují osm opakování pro každý z triplicátů kultivací (po odstranění opakování s kontaminací či výrazně odlišnými absorbancemi) po odečtení blanku. Písmena nad boxploty označují skupiny, které se od sebe významně liší ( $p < 0,05$ ). A4 = *Arthroderma* sp. 4 CCF 6387, A10 = *Arthroderma* sp. 10 CCF 6382, ACUR = *A. curreyi* CGS13-3, AQUA = *A. quadrifidum* CCF 6385, ACUN = *A. cuniculi* CBS 495.71, A16 = *Arthroderma* sp. 16 CCF 6383, ACRO = *A. crocatum* CCF 6388, TTON = *T. tonsurans* SK 2335/17, TRUB = *T. rubrum* IDE 120, TERI = *T. erinacei* CLIS 151619, MCAN = *M. canis* SK 3494/19, TJAP = *T. japonicum* IHEM 17701, TBLU = *T. benhamiae* var. *luteum* IHEM 25742, TBBE = *T. benhamiae* var. *benhamiae* IHEM 4710, TEUR = *T. europaeum* ME 192/12.

Keratinolytická aktivita zjišťovaná na základě absorbance keratin azure se mezi druhy výrazně lišila, stejně jako absorbance sideroforů (Obr. 18). Keratinolytickou aktivitu nevykázaly (signifikantně se nelišily od kontroly) druhy *A. curreyi*, *T. tonsurans* a obě variety druhu *T. benhamiae*. Nejvyšších hodnot dosáhly druhy *A. quadrifidum* a *Arthroderma* sp. 16. Siderofory ve významné míře neprodukovaly druhy *A. curreyi* a *T. erinacei*. Nejvyšší produkce sideroforů byla zjištěna u druhu *M. canis*, následovaného druhem *Arthroderma* sp. 16 a posléze druhy *A. quadrifidum*, *T. europaeum*, *T. rubrum* a *A. cuniculi*.

## 5. DISKUSE

### 5.1. Dermatofyty izolované z hlodavců

Z 63 hlodavců jsem izolovala 30 kmenů dermatofytů, které byly na základě třígenové fylogenetické analýzy rozděleny do osmi druhů rodu *Arthroderma* (jeden izolát byl určen jako zástupce řádu Onygenales). Materiál jsem odebírala výtěrovými tyčinkami a zubními kartáčky za použití tzv. hairbrush metody, která byla primárně využívána v klinické mykologii jako technika nahrazující lékařské vyšetření v případě absence příznaků (Mackenzie 1963). Osvědčila se i při screeningu zoofilních a geofilních dermatofytů obratlovců včetně drobných hlodavců (Chmel et al. 1975; Gallo et al. 2005b,a; Moriello 2001). V této práci byly izoláty dermatofytů získány jak při odběru kartáčkem, tak stěru tyčinkou. V obou případech mohou být zachyceny kožní šupiny i uvolněné chlupy a pouhé obtisknutí materiálu na agar se ukazuje jako vhodná metoda pro inokulaci dostatečného množství materiálu a zároveň omezení kontaminace (Di Mattia et al. 2019).

V práci jsem se zaměřila na tři druhy hlodavců: myš domácí (*Mus musculus*), myšice lesní (*Apodemus flavicollis*) a norníka rudého (*Clethrionomys glareolus*). Jsou to druhy na území České republiky časté, které byly zároveň zahrnuty do značného počtu studií zkoumajících dermatofyty volně žijících hlodavců (shrnutí v Tab. 2 v Úvodu). Tyto druhy současně reprezentují tři kategorie, do kterých Chmel et al. (1975) rozdělili volně žijící hlodavce podle vztahu k člověku: exoantropní (norník rudý), hemisynantropní (myšice lesní) a eusynantropní (myš domácí). Podle těchto kategorií se dle autorů liší možnosti a míra přenosu dermatofytů mezi různými druhy hlodavců a na člověka (Chmel et al. 1975).

Nejvíce kmenů jsem izolovala ze srsti norníka rudého (ze 14 jedinců 15 kmenů náležejících šesti druhům), pět jedinců bylo dokonce nositeli dvou různých druhů dermatofytů. Srst myšice lesní obsahovala pouze izoláty v této práci nově navrženého druhu *Arthroderma* sp. 16. Nejméně izolátů jsem získala ze srsti myši domácí (druhy *A. quadrifidum*, *Arthroderma* sp. 14 a blíže neurčený kmen Onygenales sp.). Rozdílná frekvence izolace dermatofytů ze srsti norníka rudého a myši domácí je v souladu s výsledky předchozích studií (Chmel et al. 1975; English 1969; Hubálek et al. 1979). Nízký počet izolátů z myši domácí by mohl být vysvětlen ekologií tohoto hlodavce. Myš domácí je synantropní a zkoumaní jedinci byli chyceni v blízkosti lidských staveb (stáj, statek, garáž). Zdá se tedy, že pro výskyt dermatofytů v srsti hlodavců je důležitá volná příroda. Ve studii z Nového Zélandu byl navržen opačný trend, totiž že zvířata chycená ve stájích a domech či

v blízkosti lidských sídel mohou být častěji infikovaná než zvířata z polí či volné přírody (Smith et al. 1969). V případě zmíněné studie se však jednalo zejména o zoofilní druhy, tudíž je možné, že došlo k přenosu dermatofytů z domestikovaných zvířat.

V této práci byla absence druhů označovaných za zoofilní nečekaná, oproti studiím jiných autorů chyběly zejména druhy *Trichophyton mentagrophytes* a *Nannizzia persicolor* (English 1969; English & Bayley 1978; Houin et al. 1972; Mariat et al. 1976), které jsou považovány za zoofilní, ovšem s nejasným hostitelem. Vysvětlením by mohla být chybná identifikace druhů ve starších studiích, poněvadž morfologické znaky nemusí být pro druhovou ani rodovou identifikaci dermatofytů dostačující (Gräser et al. 2008). V této práci izolovaný druh *A. quadrifidum* byl v minulosti řazen do komplexu *T. terrestre*, který je ve studiích zkoumajících dermatofyty volně žijících hlodavců často zmiňován (Tab. 2). Izolované nepopsané druhy *Arthroderma* sp. 4 a 16 jsou fylogeneticky blízce příbuzné dalšímu z druhů bývalého *T. terrestre* komplexu, druhu *A. insingulare*. Morfologicky jsou si podobné i další druhy rodu *Arthroderma*, tudíž je možné, že byly tyto druhy z hlodavců izolovány již dříve, ale nebyly rozlišeny. Izolace druhů rodu *Arthroderma* ze srsti volně žijících hlodavců nejvíce odpovídá zjištěním studie Hubálka et al. (1979) provedené v Československu a Jugoslávii, je tedy možné, že svou roli hraje geografická oblast.

Nepřítomnost druhů známých z domestikovaných zvířat u volně žijících hlodavců nemusí nutně znamenat, že se tyto druhy u volně žijících hlodavců vůbec nevyskytují. Mohou se vyskytovat s nižší frekvencí, protože zde nemají rezervoár a dermatofyt příležitostně přenesený ze svého primárního hostitele z populace hlodavců časem vymizí. U některých jedinců mohou tyto druhy způsobovat i dermatofytózy známé z domestikovaných zvířat, avšak jedinci s oslabenou imunitou jsou odstraněni přirozeným výběrem, nebo jsou méně aktivní, a tudíž je nižší pravděpodobnost, že budou při výzkumu chyceni.

## 5.2. Fylogenetická analýza rodu *Arthroderma*

Rod *Arthroderma* je nejdíverzifikovanějším rodem dermatofytů a počet popsáných druhů se v posledních letech stále zvyšuje. De Hoog et al. (2017) ve velké taxonomické práci uváděli 21 druhů kromě *A. crocatum*, posléze byl popsán druh *A. chiloniense* (Brasch et al. 2019) a Hainsworth et al. (2020, v přípravě) zvyšují počet uznávaných druhů na 27. V diplomové práci Ivany Kučerové byla provedena revize rodu *Arthroderma*, do které bylo zahrnuto 197 izolátů (Míková 2018). Na základě fylogenetické analýzy s použitím tří vysoce variabilních

úseků DNA (ITS rDNA a genů pro  $\beta$ -tubulin a translační elongační faktor 1- $\alpha$ ) bylo navrženo 15 nepopsaných druhů (*Arthroderma* sp. 1 až 15).

Po přidání izolátů získaných v této práci se topologie fylogenetických stromů výrazně nezměnila, pouze oddělení druhů *Arthroderma* sp. 2 od *Arthroderma* sp. 3 nebylo na základě nové analýzy podpořeno. Naopak některé druhy získaly lepší podporu díky novým kmenům, např. druhy *Arthroderma* sp. 4 a 10, pro které původně existoval jediný izolát. Ačkoli bazálnější větve měly relativně nízké podpory, vnitřní větve byly ve většině případů podpořeny jak v kombinovaném fylogenetickém stromu, tak ve stromech jednolokusových. Na první pohled se odlišoval pouze fylogenetický strom vytvořený na základě sekvencí *tefla*, který byl na rozdíl od ostatních stromů zakořeněn pouze izolátem *Pectinotrichum llanense*. Důvodem je vysoká variabilita tohoto úseku DNA způsobená přítomností velkého intronu, jehož délka je mezi druhy velmi variabilní. Důsledkem toho vznikají ve fylogenetických analýzách založených na tomto úseku bazální větve s nízkou podporou, kvůli čemuž nebylo možné zakořenit strom stejnými izoláty, které byly použity u ostatních stromů. Vnitřní větve však mají podpory vysoké, a proto je i analýza založená na tomto úseku DNA přínosná pro podpoření příbuzných druhů.

### 5.3. Charakterizace vybraných druhů rodu *Arthroderma*

Při identifikaci druhů se u dermatofytů stejně jako u jiných organismů osvědčuje polyfázický přístup (Gräser et al. 1999). Ten spočívá v kombinaci několika metod, které odlišují druhy na základě různých druhových konceptů. Za dobře podpořený druh je považován ten, který je od ostatních druhů vyčleněn co největším počtem metod. Při použití polyfázické taxonomie však mají jednotlivá data a metody různou důležitost u různých skupin organismů. Pro účely polyfázické charakterizace vybraných druhů rodu *Arthroderma* jsem vybrala 22 izolátů, z nichž 12 izolátů bylo získaných v této práci a 10 izolátů stejných či příbuzných druhů bylo izolovaných z jiných substrátů.

V současnosti je u skupiny dermatofytů nejčastěji upřednostňován fylogenetický koncept druhu, který může být podpořen několika nezávislými genetickými markery (de Hoog et al. 2017). Kombinovaná fylogenetická analýza rodu *Arthroderma* s dostatečnou podporou oddělila všechny charakterizované druhy. I v této práci nově navržený druh *Arthroderma* sp. 16 byl dobře oddělen od blízkce příbuzných druhů *A. insingulare* a *Arthroderma* sp. 4. Pro primární identifikaci druhů se fylogenetická analýza osvědčila, pro podpoření jejích výsledků je vhodné použít další data, například morfologii a fyziologii.

Morfologický koncept druhu je u dermatofytů jedním z nejdéle používaných konceptů (Sabouraud 1910), jeho aplikace je však problematická z důvodu vysoké vnitrodruhové variability a proměnlivosti v čase, kdy mohou kmeny ztrácet typické znaky (Brilhante et al. 2005; Faggi et al. 2001). Zkoumané izoláty si byly makromorfologicky i mikromorfologicky relativně podobné, samotná morfologie je pro odlišení druhů nedostatečná (Gräser et al. 2008). Nebylo možné určit několik morfologických znaků, které by se daly použít univerzálně. Na základě specifických znaků však morfologická data podpořila odlišení druhů *Arthroderma* sp. 16, *A. insingulare* a *Arthroderma* sp. 4, stejně jako rozdíly mezi dalšími zkoumanými příbuznými druhy. Druh *Arthroderma* sp. 16 se od druhu *A. insingulare* se lišil zejména makromorfologicky barvou a texturou kolonií, zatímco od druhu *Arthroderma* sp. 4 se odlišoval rozměry mikro- a makrokonidií a zároveň rychlostí růstu při 25 °C. Druh *Arthroderma* sp. 4 dokonce jako jediný ze zkoumaných druhů nerostl při 30 °C.

Biologický druhový koncept definuje druhy jako skupiny křížících se populací reprodukčně oddělené od jiných skupin (Mayr 1942). Hranice druhů jsou na základě tohoto konceptu ověřovány křížicími pokusy (Míková 2018), nelze jej tudíž aplikovat na ty druhy dermatofytů, u nichž je v důsledku klonality přítomný pouze jeden párovací typ (Gräser et al. 2006; Kano et al. 2014). Problémy mohou nastat také v případě druhů, které nemají vytvořené reprodukční bariéry. Může se jednat o nedávno oddělené druhy či druhy se silnou vazbou na hostitele, které se s jinými druhy přirozeně nesetkávají. V této práci jsem díky určení párovacích typů na základě amplifikace MAT genů provedla křížicí pokusy v rámci druhu *Arthroderma* sp. 16. Pro tyto účely se osvědčil agar se semeny *Guizotia abyssinica* (de Vroey 1964; Míková 2018), ze 48 dvojic opačně pohlavně laděných izolátů se zkřížilo minimálně 17. Pohlavní stadium bylo indukováno také u druhu *A. crocatum*, který je uváděn jako homothalický, došlo u něj tedy pravděpodobně k parasexuálnímu procesu. Pohlavní stadium se nepodařilo indukovat u homothalického druhu *A. curreyi*, a ačkoli byly k dispozici oba párovací typy, neúspěšné bylo také křížení izolátů druhů *Arthroderma* sp. 10 a *A. cuniculi*. Příčinou by mohla být vegetativní inkompatibilita či nevyhovující podmínky (kultivační teplota, použité medium). Zkoumané kmeny druhu *A. cuniculi* jsou monoaskosporické izoláty kmenů zkřížených na půdě s koňskými žíněmi při 24 °C a jejich párovací typy byly zjištěny pomocí křížících pokusů za stejných podmínek (Dawson 1963). U izolátu CBS 492.71 byl v této práci zjištěn MAT lokus *MATI-2*, u izolátu CBS 495.71 nebyla zatím amplifikace úspěšná. Amplifikace MAT lokusu *MATI-1* byla problematická také u ostatních zkoumaných druhů. Zajímavé by bylo ověřit přítomnost opačného MAT lokusu u izolátu CBS 495.71 a

zopakovat křížicí pokusy i s izolátem získaným v této práci s použitím půdy a materiálu s obsahem keratinu jako v původní studii (Dawson 1963). V budoucnu by bylo vhodné provést křížicí pokusy také mezi izoláty napříč druhy *Arthroderma* sp. 16, *A. insingulare* a *Arthroderma* sp. 4, čímž by se mohly dále potvrdit hranice těchto druhů.

Na základě ekologického konceptu druhu mohou být patogenní druhy dermatofytů odlišeny např. hostitelskými spektry a klinickými projevy. V případě ostatních druhů dermatofytů máme typicky nedostatek ekologických dat, protože izolátů jednotlivých druhů je málo a často jsou získány z odlišných substrátů. Původ v této práci charakterizovaných izolátů byl rozličný, nejčastěji byly získány z půdy, kůže a kožních derivátů obratlovců a lidského klinického materiálu (Tab. P2). Izoláty druhů *A. crocatum* a *A. quadrifidum* pocházely zejména z lidského klinického materiálu, můžeme je označit za potenciální patogeny člověka. Izoláty druhů *A. curreyi* a *Arthroderma* sp. 4 byly získány z půdy a kůže a kožních derivátů obratlovců, tyto druhy se tedy pravděpodobně vyskytují v půdě v blízkosti obratlovců. Druhy *A. cuniculi*, *A. phaseoliforme*, *A. tuberculatum*, *Arthroderma* sp. 10 a 16 byly izolovány pouze z kůže a kožních derivátů obratlovců, což nasvědčuje silnější vazbě na tyto obratlovce.

#### **5.4. Problematika tradiční klasifikace dermatofytů**

Koncepce tradičního dělení druhů dermatofytů do ekologických skupin (geofilní, zoofilní a antropofilní) (Georg 1960) naráží na několik problémů. Jedním z problémů může být antropocentrické vyčlenění skupiny antropofilních dermatofytů, dalším je nejasné postavení skupiny geofilních dermatofytů. Jedná se o sběrnou skupinu, do níž jsou řazeny druhy, o kterých máme většinou nedostatek informací, zejména co se týče jejich rozšíření a případného spektra hostitelů. Geofilní druhy bývají izolovány z půdy a jen zřídka infikují obratlovce. Tento předpoklad při diagnóze však vede k záměně za druhy běžnější a může docházet k podcenění pravých původců v klinických datech (Hubka et al. 2014).

Ukazuje se, že dermatofyty je možné izolovat z mnoha substrátů (různé druhy savců i ptáků, půda), a směrodatná je pak frekvence izolace. Pokud je nějaký druh izolován výrazně častěji z jednoho substrátu než z jiných, můžeme se domnívat, že se jedná o pro jeho výskyt běžné prostředí. Při nízké frekvenci izolace druhů běžně izolovaných z půdy lze jejich přítomnost v srsti obratlovců považovat za kontaminaci (Mancianti et al. 1997). Častá izolace však může vést k označení zvířat za přenašeče či hostitele tohoto druhu (Chabasse et al. 1987). Stejně jako u většiny volně žijících obratlovců i v této práci jsem dermatofyty izolovala ze zvířat bez klinických příznaků (Nardoni et al. 2009; Papini et al. 2008). Absence

příznaků ale může naopak ukazovat na silnou adaptaci mezi dermatofytem a jeho hostitelem typickou pro zoofilní druhy (Khosravi 1996; Kupsch et al. 2017). Je proto možné, že některé druhy rodu *Arthroderma* klasifikované jako geofilní unikají kvůli absenci klinických projevů naší pozornosti. Takovým případem by mohly být např. v této práci zkoumané druhy *A. cuniculi*, *A. phaseoliforme* a *A. tuberculatum*, jejichž izoláty pocházejí z kůže a kožních derivátů obratlovců. Stejně tak nepopsané druhy *Arthroderma* sp. 10 a 16 by mohly být dobrým kandidátem, zejména druh *Arthroderma* sp. 16 navržený v této práci, který byl ze srsti hlodavců izolován s vysokou frekvencí, a zároveň vykazoval vysokou keratolytickou aktivitu a produkci sideroforů.

Podmínkou umožňující dlouhodobé přetrvání dermatofyta na povrchu hostitele a případné způsobení infekce je schopnost růstu při tělesné teplotě. Druhy zkoumané v této práci nerostly při 37 °C, při 30 °C rostly naopak všechny kromě druhu *Arthroderma* sp. 4. U druhů, které nerostou při teplotě přibližně odpovídající tělesné teplotě případného hostitele (u myšovitých hlodavců okolo 37 °C), by mohla být patogenita pro tohoto obratlovce vyloučena, mohou však existovat výjimky. Druhy, které nejsou na tuto teplotu adaptované, by ji mohly obejít růstem na distálních částech těla, které mají teplotu nižší. Další příležitost poskytuje období hibernace, kdy se snižuje jak tělesná teplota hibernujících savců (Bartholomew & Cade 1957), tak aktivita jejich imunitního systému, čehož využívá například známý houbový patogen *Pseudogymnoascus destructans*, původce white-nose syndromu netopýrů (Bouma et al. 2010).

Teorii, že se nejedná o čistě půdní houby, ale o houby asociované s obratlovcí, by mohly potvrdit velmi nízké počty sekvencí dermatofytů ve studiích zkoumajících půdní houby pomocí environmentální DNA. V databázi sekvencí hub získaných z půdních vzorků (<http://globalfungi.com>, Větrovský et al. 2020), která v době vyhledávání zahrnovala 209 studií (20 196 vzorků a 127 153 488 variant sekvencí ITS) byl rod *Arthroderma* identifikován pouze ve 23 studiích a v zastoupení pouze šesti druhů (78 vzorků, 66 variant ITS). Ačkoli se jedná o studie primárně cílící na jiné skupiny hub, je nepřítomnost dermatofytů překvapivá. Absence sekvencí dermatofytů však nemusí být způsobená jejich skutečnou nepřítomností ve vzorcích, ale např. neúspěšnou sekvenací z environmentální DNA.

Přítomnost různých druhů dermatofytů a frekvence výskytu v srsti volně žijících obratlovců může být kromě ekologie a chování obratlovců dále ovlivněna půdními podmínkami, roční dobou a s ní související aktivitou obratlovců (Chmel et al. 1967, 1975; Gallo et al. 2005b; Menges et al. 1957; Soon 1991). V případě takových studií je zapotřebí

výrazně větší množství zkoumaných hlodavců, kteří jsou chytáni pravidelně na definovaných lokalitách, kde mohou být získány doplňkové údaje např. o půdních typech a podmínkách (teplotě, vlhkosti, pH).

## 5.5. Keratinolýza a biologická aktivita dermatofytů

Schopnost keratinolýzy je důležitou charakteristikou dermatofytů, která souvisí s jejich ekologií. Keratinolytické schopnosti byly zkoumány například u druhů *Trichophyton rubrum* (Apodaca & McKerrow 1990), *Microsporum canis* (Viani et al. 2001) a *T. verrucosum* (Gnat et al. 2019). Schopnost degradace keratinu různých druhů dermatofytů porovnávali např. Wawrzkievicz et al. (1991) a Scott & Untereiner (2004). Výsledky provedených studií jsou však těžko srovnatelné, jelikož zatím nebyla zavedena jednotná metodika pro výzkum keratinolytické aktivity.

V této práci jsem si položila otázku, zda odlišná biologická aktivita může souviset s rozdílnou ekologií na druhové úrovni. Pro její zodpovězení jsem vybrala 15 druhů dermatofytů, které jsem kultivovala na mediu s ovčí vlnou jako zdrojem keratinu. Produkované enzymy jsem využila pro srovnání keratinolytické aktivity na základě absorbance keratin azure, produkované siderofory jsem kvantifikovala měřením jejich absorbance. Při reakci s keratin azure jsem vycházela z metodiky, kterou použili Letourneau et al. (1998) a Sivakumar & Raveendran (2015), se snížením inkubační teploty na 37 °C (namísto původních 50 °C) tak, aby odpovídala podmínkám panujícím na těle případného hostitele. Kvůli úpravě inkubační teploty bylo nutné výrazně zvýšit dobu inkubace, oproti původní 1 hod byly v této práci enzymy inkubovány cca 72 hod, aby se keratinolytická schopnost dostatečně projevila.

Keratinolytická aktivita se mezi druhy signifikantně lišila, stejně jako produkce sideroforů. Výsledky obou měření nesouvisely s tradičním rozdělením druhů do ekologických skupin, vysokých hodnot dosahovaly jak druhy klasifikované jako geofilní, tak druhy zoofilní. Jedná se o velice zajímavý výsledek, neboť schopnost keratinolýzy i produkce sideroforů by mohly souviset s virulencí (Haas et al. 2008; Viani et al. 2001). Vysokou keratinolytickou aktivitu vykazovaly druhy *A. quadrifidum* a *A. crocatum*, které byly izolovány také z lidského klinického materiálu, a mohli bychom je proto označit za potenciální patogeny člověka. Překvapivá byla nižší keratinolytická aktivita a produkce sideroforů u druhů označovaných jako zoofilní a antropofilní. V úvahu připadá několik možných vysvětlení. Roli může hrát pH, neboť keratinázy různých druhů mají optimální účinnost při různém pH (Jousson et al. 2004;

Martinez-Rossi et al. 2012; Tsuboi et al. 1989). V této práci jsem enzymy inkubovala při pH 8,5, které mohlo být vhodnější pro enzymy v půdě žijících druhů než pro druhy patogenní, které jsou adaptované na kyselé pH pokožky (Silveira et al. 2010; Sriranganadane et al. 2011; Tsuboi et al. 1989). Další příčinou může být použití ovčí vlny jako zdroje keratinu. Ta může vyhovovat některým druhům více než jiným, které jsou specializované na srst odlišných savců. Například druh *T. verrucosum*, původce dermatofytózy skotu, vykazoval nejvyšší keratinolytickou aktivitu při inkubaci se srstí krávy a ovce (Gnat et al. 2019). Je také možné, že některé druhy dermatofytů využívají keratinolýzu pouze k rozvolnění kůže a živiny získávají primárně z jiných složek srsti či pokožky, než je keratin.

Výzkum zabývající se keratinolytickými bakteriemi a houbami má potenciální biotechnologické využití v průmyslu při zpracování živočišných odpadů bohatých na keratin, například drůbežího peří a prasečích štětín. Zpracovaný materiál může být přidáván do zvířecích krmiv jako zdroj proteinu (Gousterova et al. 2005). Z bezpečnostních důvodů nemohou být keratinázy pro tyto účely získávány z patogenních organismů (Lange et al. 2016), nepatogenní druhy dermatofytů by v této oblasti potenciál mít mohly. Zároveň studium degradace keratinu dermatofyty může pomoci pochopit mechanismy infekce, a tím zlepšit cílení léčby.

## 6. ZÁVĚR

Ve své diplomové práci jsem se zabývala dermatofyty izolovanými ze srsti volně žijících hlodavců. Pomocí kultivace se podařilo charakterizovat spektrum dermatofytů v srsti myši domácí, myšice lesní a norníka rudého. 30 získaných izolátů bylo dle fylogenetické analýzy založené na třech vysoce variabilních úsecích DNA (ITS, *tubb* a *tefla*) rozděleno do osmi druhů rodu *Arthroderma*, jeden izolát reprezentoval blíže neurčeného zástupce řádu Onygenales. Jednalo se o druhy *A. crocatum*, *A. cuniculi*, *A. curreyi* a *A. quadrifidum*, a nepopsané druhy *Arthroderma* sp. 4, 10, 14 a 16.

Vybrané izolované kmeny jsem charakterizovala a porovnávala je s příbuznými izoláty z jiných substrátů. Do analýzy fenotypu jsem zahrнула makromorfologická, mikromorfologická a fyziologická data. Pomocí nově navržených primerů jsem amplifikovala MAT geny a zjistila tak párovací typy většiny izolátů. Díky tomu jsem u některých kmenů navodila tvorbu pohlavního stadia.

Diskutována byla ekologie izolovaných druhů a jejich případná asociace s hlodavci. Nejvíce získaných izolátů (n = 17) náleželo v této práci nově navrženému druhu *Arthroderma* sp. 16, který byl izolován výhradně ze srsti norníka a myšice, což nasvědčuje silné vazbě na tyto hostitele. Vysoká schopnost keratinolýzy a produkce sideroforů by také mohly indikovat tuto asociaci. Měřená keratinolytická aktivita a produkce sideroforů nesouvisely s tradičním rozdělením druhů dermatofytů do ekologických skupin. Zdá se, že ze srsti izolované druhy dermatofytů, které bývají označovány jako geofilní, jsou plně adaptovány na keratin jakožto hlavní zdroj živin, a tudíž i na přítomnost hlodavců. Budoucí výzkum by se mohl proto zaměřit na nory hlodavců a půdu okolo nich. Přítomnost dermatofytů pouze v blízkosti hlodavců by mohla potvrdit hypotézu asociace s hlodavci.

## 7. ZDROJE

- Abdel-Rahman SM, Sugita T, González GM, Ellis D, Arabatzis M, et al. 2010. Divergence Among an International Population of *Trichophyton tonsurans* Isolates. *Mycopathologia*. 169(1):1–13
- Alteras I, Nesterov V, Ciolofan I. 1966. The occurrence of dermatophytes in wild animals from Rumania. *Med. Mycol.* 4(4):215–18
- Altschul SF, Gish W, Miller W, Myers EW, Lipman DJ. 1990. Basic Local Alignment Search Tool. *J. Mol. Biol.* 215(3):403–10
- Apodaca G, McKerrow JH. 1990. Expression of proteolytic activity by cultures of *Trichophyton rubrum*. *Med. Mycol.* 28(2):159–71
- Bahuguna S, Kushwaha RKS. 1989. Hair Perforation by Keratinophilic Fungi: Haarperforation durch keratinophile Pilze. *Mycoses*. 32(7):340–43
- Bartholomew GA, Cade TJ. 1957. Temperature Regulation, Hibernation, and Aestivation in the Little Pocket Mouse, *Perognathus longimembris*. *J. Mammal.* 38(1):60–72
- Beguín H, Pyck N, Hendrickx M, Planard C, Stubbe D, Detandt M. 2012. The taxonomic status of *Trichophyton quinckeanum* and *T. interdigitale* revisited: a multigene phylogenetic approach. *Med. Mycol.* 87(8):871–82
- Blank F. 1957. Favus of mice. *Can. J. Microbiol.* 3(6):885–96
- Bouma HR, Carey H V., Kroese FGM. 2010. Hibernation: the immune system at rest? *J. Leukoc. Biol.* 88(4):619–24
- Brasch J, Beck-Jendroschek V, Voss K, Yurkov A, Gräser Y. 2019. *Arthroderma chiloniense* sp. nov. isolated from human stratum corneum: Description of a new *Arthroderma* species. *Mycoses*. 62(1):73–80
- Brasch J, Gräser Y. 2005. *Trichophyton eboreum* sp. nov. isolated from human skin. *J. Clin. Microbiol.* 43(10):5230–37
- Brilhante RSN, Rocha MFG, Cordeiro RA, Rabenhorst SHB, Granjeiro TB, et al. 2005. Phenotypical and molecular characterization of *Microsporum canis* strains in north-east Brazil. *J. Appl. Microbiol.* 99:776–82
- Chabasse D, Guiguen C, Couatarmanac'h A, Launay H, Reecht V, De Bièvre C. 1987. Contribution à la connaissance de la flore fongique kératinophile isolée des petits mammifères sauvages et du lapin de garenne en France - Discussion sur les espèces fongiques rencontrées. *Ann. Parasitol. Hum. comparée*. 62(4):357–68
- Chermette R, Ferreiro L, Guillot J. 2008. Dermatophytoses in animals. *Mycopathologia*. 166(5–6):385–405
- Chernomor O, Von Haeseler A, Quang Minh B. 2016. Terrace Aware Data Structure for Phylogenomic Inference from Supermatrices. *Syst. Biol.* 65(6):997–1008
- Chmel L, Buchvald J, Kleibl K. 1967. Die Rolle der Naturfaktoren bei Entstehung der Naturherde der Dermatomykosen. *Mycoses*. 10(7):263–70
- Chmel L, Buchvald J, Valentova M. 1975. Spread of *Trichophyton mentagrophytes* var. *gran.* infection to man. *Int. J. Dermatol.* 14(4):269–72
- Chollet A, Cattin V, Fratti M, Mignon B, Monod M. 2015. Which fungus originally was *Trichophyton mentagrophytes*? Historical review and illustration by a clinical case. *Mycopathologia*. 180(1–2):1–5
- Čmoková A, Kolarik M, Vetrovsky T, Dobiasova S, Dobias R, et al. 2015. Molecular typization of *Arthroderma benhamiae*, a zoonotic agent of epidemic dermatophytosis in Central Europe. *Mycoses*. 58:124
- Darriba D, Taboada GL, Doallo R, Posada D. 2012. jModelTest 2: more models, new

- heuristics and parallel computing. *Nat. Methods*. 9(8):772
- Dawson CO. 1963. Two new species of *Arthroderma* isolated from soil from rabbit burrows. *Sabouraudia*. 2(3):185–91
- de Hoog GS, Chaturvedi V, Denning DW, Dyer PS, Frisvad JC, et al. 2015. Name changes in medically important fungi and their implications for clinical practice. *J. Clin. Microbiol.* 53(4):1056–62
- de Hoog GS, Dukik K, Monod M, Packeu A, Stubbe D, et al. 2017. Toward a novel multilocus phylogenetic taxonomy for the dermatophytes. *Mycopathologia*. 182(1–2):5–31
- de Vroey C. 1964. Formes sexuées des dermatophytes. *Ann. Soc. belge Méd. trop.* 44(4/5):831–40
- Deshmukh SK, Agrawal SC. 1982. In vitro Degradation of Human Hair by some Keratinophilic Fungi. *Mykosen*. 25(8):454–58
- Di Mattia D, Fondati A, Monaco M, Pasquetti M, Peano A. 2019. Comparison of two inoculation methods for *Microsporum canis* culture using the toothbrush sampling technique. *Vet. Dermatol.* 30(1):60-e17
- Donnelly TM, Rush EM, Lackner PA. 2000. Ringworm in small exotic pets. *Semin. Avian Exot. Pet Med.* 9(2):82–93
- Drira I, Neji S, Hadrich I, Sellami H, Makni F, Ayadi A. 2015. Tinea manuum due to *Trichophyton erinacei* from Tunisia. *J. Mycol. Med.* 25(3):200–203
- Dunn LL, Rahmanto YS, Richardson DR. 2007. Iron uptake and metabolism in the new millennium. *Trends Cell Biol.* 17(2):93–100
- English MP. 1966. *Trichophyton persicolor* infection in the field vole and pipistrelle bat. *Med. Mycol.* 4(4):219–22
- English MP. 1969. Ringworm in wild mammals: further investigations. *J. Zool.* 159(4):515–22
- English MP, Bayley JA. 1978. Dermatophytes in a population of bank voles and woodmice. *Mycopathologia*. 66(1–2):67–71
- English MP, Southern HN. 1967. *Trichophyton persicolor* infection in a population of small wild mammals. *Med. Mycol.* 5(4):302–9
- Evolceanu R, Alteras I, Cojocaru I. 1963. Isolation of *Trichophyton quinckeanum* from Rumanian soils. *Sabouraudia*. 2(1):14–17
- Faggi E, Pini G, Campisi E, Bertellini C, Difonzo E, Mancianti F. 2001. Application of PCR to distinguish common species of dermatophytes. *J. Clin. Microbiol.* 39(9):3382–85
- Gallo MG, Lanfranchi P, Poglayen G, Calderola S, Menzano A, et al. 2005a. Seasonal 4-year investigation into the role of the alpine marmot (*Marmota marmota*) as a carrier of zoophilic dermatophytes. *Med. Mycol.* 43(4):373–79
- Gallo MG, Tizzani P, Peano A, Rambozzi L, Meneguz PG. 2005b. Eastern cottontail (*Sylvilagus floridanus*) as carrier of dermatophyte fungi. *Mycopathologia*. 160(2):163–66
- Gardes M, Bruns TD. 1993. ITS primers with enhanced specificity for basidiomycetes• application to the identification of mycorrhizae and rusts. *Mol. Ecol.* 2(2):113–18
- Georg LK. 1957. *Dermatophytes: New Methods in Classification*. DHEW, Communicable Disease Center
- Georg LK. 1960. Epidemiology of the dermatophytoses sources of infection, modes of transmission and epidemicity. *Ann. N. Y. Acad. Sci.* 89(1):69–77
- Glass NL, Donaldson GC. 1995. Development of Primer Sets Designed for Use with the PCR To Amplify Conserved Genes from Filamentous Ascomycetes. *Appl. Environ. Microbiol.* 61(4):1323–30

- Gnat S, Łagowski D, Nowakiewicz A, Zięba P. 2019. The host range of dermatophytes, it is at all possible? Phenotypic evaluation of the keratinolytic activity of *Trichophyton verrucosum* clinical isolates. *Mycoses*. 62:274–83
- Gousterova A, Braikova D, Goshev I, Christov P, Tishinov K, et al. 2005. Degradation of keratin and collagen containing wastes by newly isolated thermoactinomycetes or by alkaline hydrolysis. *Lett. Appl. Microbiol.* 40(5):335–40
- Gräser Y, de Hoog GS, Kuijpers AFA. 2000. Recent advances in the molecular taxonomy of dermatophytes. *Rev. Iberoam. Micol.* 17:17–21
- Gräser Y, de Hoog S, Summerbell RC. 2006. Dermatophytes: Recognizing species of clonal fungi. *Med. Mycol.* 44(3):199–209
- Gräser Y, Fari M El, Vilgalis R, Kuijpers AFA, de Hoog GS, et al. 1999. Phylogeny and taxonomy of the family *Arthrodermataceae* (dermatophytes) using sequence analysis of the ribosomal ITS region. *Med. Mycol.* 37:105–14
- Gräser Y, Scott J, Summerbell R. 2008. The new species concept in dermatophytes - a polyphasic approach. *Mycopathologia*. 166(5–6):239–56
- Grose E, Marinkelle CJ. 1966. Species of *Sporotrichum*, *Trichophyton* and *Microsporium* from Columbian Bats. *Trop. Geogr. Med.* 18(3):260–63
- Guindon S, Gascuel O. 2003. A Simple, Fast, and Accurate Algorithm to Estimate Large Phylogenies by Maximum Likelihood. *Syst. Biol.* 52(5):696–704
- Haas H, Eisendle M, Turgeon BG. 2008. Siderophores in Fungal Physiology and Virulence. *Annu. Rev. Phytopathol.* 46(1):149–87
- Hall TA. 1999. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symp. Ser.* 41(41):95–98
- Halliwell B, Gutteridge JMC. 1984. Oxygen toxicity, oxygen radicals, transition metals and disease. *Biochem. J.* 219(1):1–14
- Hameed K, Ch FR, Nawaz MA, Naqvi SMS, Gräser Y, et al. 2017. *Trichophyton verrucosum* infection in livestock in the Chitral district of Pakistan. *J. Infect. Dev. Ctries.* 11(4):326–33
- Hayette MP, Sacheli R. 2015. Dermatophytosis, trends in epidemiology and diagnostic approach. *Curr. Fungal Infect. Rep.* 9(3):164–79
- Houin R, Rouget-Campana Y, Le Fichoux Y, Lancastre F, Bazin J-C, et al. 1972. Isolement de *Trichophyton mentagrophytes* (Robin) Blanchard 1896, *Nannizia persicolor* Stockdale 1967 et *Trichophyton terrestre* Durie et Frey 1957, du pelage de Rongeurs. Essai d'interprétation écologique. *Ann. Parasitol. Hum. Comp.* 47(3):421–29
- Hubálek Z, Rosický B, Otčenášek M. 1979. Fungi on the hair of small wild mammals in Czechoslovakia and Yugoslavia. *Česká Mykol.* 33(2):81–93
- Hubka V, Větrovský T, Dobiášová S, Skořepová M, Lysková P, et al. 2014. Molekulární epidemiologie dermatofytóz v České republice – výsledky dvouleté studie. *Česko-slovenská dermatologie.* 89(4):167–74
- Jousson O, Léchenne B, Bontems O, Mignon B, Reichard U, et al. 2004. Secreted subtilisin gene family in *Trichophyton rubrum*. *Gene.* 339(1–2):79–88
- Kandemir H, Dukik K, Hagen F, Ilkit M, Gräser Y, de Hoog GS. 2020. Polyphasic Discrimination of *Trichophyton tonsurans* and *T. equinum* from Humans and Horses. *Mycopathologia.* 185(1):113–22
- Kano R, Yoshida E, Yaguchi T, Hubka V, Anzawa K, et al. 2014. Mating type gene (*MAT1-2*) of *Trichophyton verrucosum*. *Mycopathologia.* 177(1–2):87–90
- Kaplan W, Georg LK, Ajello L. 1958. Recent developments in animal ringworm and their public health implications. *Ann N Y Acad Sci.* 70(3):636–49
- Katoh K, Rozewicki J, Yamada KD. 2019. MAFFT online service: multiple sequence

- alignment, interactive sequence choice and visualization. *Brief. Bioinform.* 20(4):1160–66
- Khosravi AR. 1996. Fungal flora of the hair coat of stray cats in Iran. *Mycoses.* 39(6):241–43
- Kleibl K. 1963. Znachenie tulyaremicheskoi epizootii v rasprostranenií infektsii, vyzvannoi *Trichophyton gypseum*. *Vestn. Dermatol. Venerol.* 37(7/12):32–35
- Knudtson WU, Gates CE, Ruth GR, Haley LD. 1980. *Trichophyton mentagrophytes* dermatophytosis in wild fox. *J. Wildl. Dis.* 16(4):465–68
- Knudtson WU, Robertstad GW. 1970. The isolation of keratinophilic fungi from soil and wild animals in South Dakota. *Mycopathol. Mycol. Appl.* 40(3–4):309–23
- Kornerup A, Wanscher JH. 1978. *Methuen Handbook of Colour*. London: Eyre Methuen. Third ed.
- Kubo H, Tamura T, Iizuka H, Shibaki H, Udagawa S. 1990. Isolation of Keratinophilic Fungi from Hair of Wild Fox (*Vulpes vulpes schrenckii*) and Soil from the Affected Areas in Hokkaido Prefecture of Japan. *Nippon Ishinkin Gakkai Zasshi.* 31(4):317–24
- Kupsch C, Berlin M, Gräser Y. 2017. Dermatophyten und Meerschweinchen: Eine unterschätzte Gefahr? *Hautarzt.* 68(10):827–30
- Lange L, Huang Y, Busk PK. 2016. Microbial decomposition of keratin in nature—a new hypothesis of industrial relevance. *Appl. Microbiol. Biotechnol.* 100(5):2083–96
- Letourneau F, Soussotte V, Bressollier P, Branland P, Verneuil B. 1998. Keratinolytic activity of *Streptomyces* sp. S.K1-02: A new isolated strain. *Lett. Appl. Microbiol.* 26(1):77–80
- Letunic I, Bork P. 2019. Interactive Tree Of Life (iTOL) v4: recent updates and new developments. *Nucleic Acids Res.* 47(W1):W256–59
- Lorch JJ, Lindner DD, Gargas A, Muller LL, Minnis AA, Blehert DD. 2013. A culture-based survey of fungi in soil from bat hibernacula in the eastern United States and its implications for detection of *Geomyces destructans*, the causal agent of bat white-nose syndrome. *Mycologia.* 105(2):237–52
- Mackenzie DWR. 1963. “Hairbrush diagnosis” in detection and eradication of non-fluorescent scalp ringworm. *Br. Med. J.* 2(5353):363–65
- Makimura K, Tamura Y, Mochizuki T, Hasegawa A, Tajiri Y, et al. 1999. Phylogenetic classification and species identification of dermatophyte strains based on DNA sequences of nuclear ribosomal internal transcribed spacer 1 regions. *J. Clin. Microbiol.* 37(4):920–24
- Malmasi A, Khosravi AR, Selk Ghaffari M, Shojaee Tabrizi A. 2009. *Microsporum canis* infection in a red fox (*Vulpes vulpes*). *Iran. J. Vet. Res.* 10(2):189–91
- Mancianti F, Mignone W, Papini R. 1997. Keratinophilic Fungi from Coats of Wild Boars in Italy. *J. Wildl. Dis.* 33(2):340–42
- Mancianti F, Papini RA, Poli A. 1993. Mycological survey from coats of red foxes in Italy. *J Mycol Med.* 3:109–10
- Mantovani A, Morganti L, Battelli G, Mantovani A, Poglayen G, et al. 1982. The role of wild animals in the ecology of dermatophytes and related fungi. *Folia Parasitol. (Praha).* 29(3):279–84
- Maranhão FCA, Paião FG, Martinez-Rossi NM. 2007. Isolation of transcripts over-expressed in human pathogen *Trichophyton rubrum* during growth in keratin. *Microb. Pathog.* 43(4):166–72
- Marco I, Lopez-Olivera JR, Gibert P, Abarca L, Gauthier D, Lavín S. 2007. Dermatophytosis caused by *Trichophyton mentagrophytes* in the southern chamois (*Rupicapra pyrenaica*) in the Eastern Pyrenees. *Zoonoses Public Health.* 54(6–7):278–80
- Mariat F, Chatelain J, Rouffaud MA. 1976. Etude sur la contamination par les champignons dermatophytes d’une population de petits mammifères sauvages en Alsace.

- Mycopathologia*. 58(2):71–78
- Martinez-Rossi NM, Persinoti GF, Peres NTA, Rossi A. 2012. Role of pH in the pathogenesis of dermatophytoses. *Mycoses*. 55(5):381–87
- Matousek JL, Campbell KL. 2002. A comparative review of cutaneous pH. *Vet. Dermatol.* 13(6):293–300
- Mayr E. 1942. *Systematics and the Origin of Species, from the Viewpoint of a Zoologist*. New York: Columbia University Press
- McKeever S, Menges RW, Kaplan W, Ajello L. 1958. Ringworm fungi of feral rodents in southwestern Georgia. *Am. J. Vet. Res.* 19(73):969–72
- McNeill J, Turland NJ, Barrie FR, Buck WR, Greuter W, Wiersema JH. 2012. *International Code of Nomenclature for Algae, Fungi, and Plants*. Konigstein, Germany: Koeltz Scientific Books
- Menges RW, Love GJ, Smith WW, Georg LK. 1957. Ringworm in wild animals in southwestern Georgia. *Am. J. Vet. Res.* 18(68):672–77
- Metin B, Heitman J. 2017. Sexual reproduction in dermatophytes. *Mycopathologia*. 182(1–2):45–55
- Míková I. 2018. *Ověření druhových hranic mezi klinicky významnými geofilními druhy Arthroderma*. Univerzita Karlova
- Mirhendi H, Makimura K, De Hoog GS, Rezaei-Matehkolaei A, Najafzadeh MJ, et al. 2015. Translation elongation factor 1- $\alpha$  gene as a potential taxonomic and identification marker in dermatophytes. *Med. Mycol.* 53(3):215–24
- Mor H, Kashman Y, Winkelmann G, Barash I. 1992. Characterization of siderophores produced by different species of the dermatophytic fungi *Microsporum* and *Trichophyton*. *BioMetals*. 5(4):213–16
- Moraes M, Padhye AA, Ajello L. 1975. The perfect state of *Microsporum amazonicum*. *Mycologia*. 67(6):1109–13
- Moretti A, Agnetti F, Mancianti F, Nardoni S, Righi C, et al. 2013. Dermatophytosis in animals: epidemiological, clinical and zoonotic aspects. *G. Ital. Dermatol. Venereol.* 148(6):563–72
- Moriello KA. 2001. Diagnostic techniques for dermatophytosis. *Clin. Tech. Small Anim. Pract.* 16(4):219–24
- Morris P, English MP. 1969. *Trichophyton mentagrophytes* var. *erinacei* in British hedgehogs. *Med. Mycol.* 7(2):122–28
- Nardoni S, Papini R, Gallo MG, Verin R, Mancianti F. 2009. Survey on the role of brown hares (*Lepus europaeus*, Pallas 1778) as carriers of zoonotic dermatophytes. *Ital. J. Anim. Sci.* 9(1):126–28
- Neilands JB. 1995. Siderophores: Structure and function of microbial iron transport compounds. *J. Biol. Chem.* 270(45):26723–26
- Nenoff P, Herrmann J, Gräser Y. 2007. *Trichophyton mentagrophytes sive interdigitale?* A dermatophyte in the course of time. *JDDG J. der Dtsch. Dermatologischen Gesellschaft.* 5(3):198–202
- Nguyen LT, Schmidt HA, Von Haeseler A, Minh BQ. 2015. IQ-TREE: A fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Mol. Biol. Evol.* 32(1):268–74
- O'Donnell K. 1993. *Fusarium* and its near relatives. In *The Fungal Holomorph: Mitotic, Meiotic and Pleomorphic Speciation in Fungal Systematics*, eds. DR Reynolds, JW Taylor, pp. 225–33. CAB International, Wallingford, United Kingdom
- Oide S, Berthiller F, Wiesenberger G, Adam G, Turgeon BG. 2014. Individual and combined roles of malonichrome, ferricrocin, and TAFC siderophores in *Fusarium graminearum*

- pathogenic and sexual development. *Front. Microbiol.* 5(DEC):1–15
- Otčenášek M. 1978. Ecology of the dermatophytes. *Mycopathologia.* 65(1):67–72
- Otčenášek M, Dvořák J. 1973. *Pictorial Dictionary of Medical Mycology.* Prague, Czechoslovakia: Academia
- Padhye AA, Carmichael JW. 1971. The genus *Arthroderma* Berkeley. *Can. J. Bot.* 49(9):1525–40
- Papini R, Nardoni S, Ricchi R, Mancianti F. 2008. Dermatophytes and other keratinophilic fungi from coypus (*Myocastor coypus*) and brown rats (*Rattus norvegicus*). *Eur. J. Wildl. Res.* 54(3):455–59
- Peano A, Tizzani P, Gallo MG, Molinar Min A, Rambozzi L, Meneguz PG. 2008. Dermatophytosis due to *Trichophyton verrucosum* in a chamois (*Rupicapra rupicapra*). *Eur. J. Wildl. Res.* 54(1):153–56
- Perrier P, Monod M. 2015. Tinea manuum caused by *Trichophyton erinacei*: first report in Switzerland. *Int. J. Dermatol.* 54:959–60
- R Core Team. 2020. R: A language and environment for statistical computing
- Romano C, Valenti L, Barbara R. 1997. Dermatophytes isolated from asymptomatic stray cats. *Mycoses.* 40:471–72
- Ronquist F, Teslenko M, Van Der Mark P, Ayres DL, Darling A, et al. 2012. MrBayes 3.2: Efficient Bayesian Phylogenetic Inference and Model Choice Across a Large Model Space. *Syst. Biol.* 61(3):539–42
- Rostami A, Shirani D, Shokri H, Khosravi AR, Daieghazvini R, Tootian Z. 2010. Fungal flora of the hair coat of Persian squirrel (*Sciurus anomalus*) with and without skin lesion in Tehran, Iran. *J. Mycol. Med.* 20(1):21–25
- Sabouraud RJA. 1910. *Les Teignes*
- Scott JA, Untereiner WA. 2004. Determination of keratin degradation by fungi using keratin azure. *Med. Mycol.* 42(3):239–46
- Sekhon AS, Padhye AA, Carmichael JW. 1973. Mating reactions in *Arthroderma tuberculatum*. *Mycopathologia.* 11:283–86
- Silveira HCS, Gras DE, Cazzaniga RA, Sanches PR, Rossi A, Martinez-Rossi NM. 2010. Transcriptional profiling reveals genes in the human pathogen *Trichophyton rubrum* that are expressed in response to pH signaling. *Microb. Pathog.* 48(2):91–96
- Sivakumar N, Raveendran S. 2015. Keratin degradation by bacteria and fungi isolated from a poultry farm and plumage. *Br. Poult. Sci.* 56(2):210–17
- Smith JMB, Rush• Munro FM, McCarthy M. 1969. Animals as a reservoir of human ringworm in New Zealand. *Australas. J. Dermatol.* 10(3):169–82
- Soon SHT. 1991. Isolation of keratinophilic fungi from soil in Malaysia. *Mycopathologia.* 113(3):155–58
- Sriranganadane D, Waridel P, Salamin K, Feuermann M, Mignon B, et al. 2011. Identification of novel secreted proteases during extracellular proteolysis by dermatophytes at acidic pH. *Proteomics.* 11(22):4422–33
- Summerbell RC. 2000. Form and function in the evolution of dermatophytes. *Rev. Iberoam. Micol.* 17:30–43
- Summerbell RC, Haugland RA, Li A, Gupta AK. 1999. rRNA Gene Internal Transcribed Spacer 1 and 2 Sequences of Asexual, Anthropophilic Dermatophytes Related to *Trichophyton rubrum*. *J. Clin. Microbiol.* 37(12):4005–11
- Taylor WW, Radcliffe F, Van Peenen PFD. 1964. A survey of small egyptian mammals for pathogenic fungi. *Med. Mycol.* 3(2):140–42
- Tizzani P, Gallo MG, Peano A, Molinar Min A, Martínez-Carrasco Pleite C, Meneguz PG. 2007. Dermatophytosis caused by *Microsporium canis* in Eastern cottontail (*Sylvilagus*

- floridanus*). *Eur. J. Wildl. Res.* 53(3):238–40
- Tsuboi R, Ko IJ, Takamori K, Ogawa H. 1989. Isolation of a keratinolytic proteinase from *Trichophyton mentagrophytes* with enzymatic activity at acidic pH. *Infect. Immun.* 57(11):3479–83
- Uhrlaß S, Schroedl W, Mehlhorn C, Krüger C, Hubka V, et al. 2018. Molecular epidemiology of *Trichophyton quinckeanum* – a zoophilic dermatophyte on the rise. *JDDG - J. Ger. Soc. Dermatology.* 16(1):21–32
- Umnova II, Fomenko VP. 1960. Trichofitiya polevykh Myshei, vyzvavshaya zarazhenie lyudei. *Vestn. Dermatol. Venerol.* 11:36–38
- Varsavsky E, Ajello L. 1964. The perfect and imperfect forms of a new keratinophilic fungus *Arthroderma ciferrii* sp. nov.: *Trichophyton georgii* sp. nov. *Riv. di Patol. Veg.* 4(4):351–64
- Větrovský T, Morais D, Kohout P, Lepinay C, Gallardo CA, et al. 2020. GlobalFungi: Global database of fungal records from high-throughput-sequencing metabarcoding studies. *bioRxiv*
- Viani FC, Santos JI Dos, Paula CR, Larson CE, Gambale W. 2001. Production of extracellular enzymes by *Microsporum canis* and their role in its virulence. *Med. Mycol.* 39(5):463–68
- Villesen P. 2007. FaBox: An online toolbox for FASTA sequences. *Mol. Ecol. Notes.* 7(6):965–68
- Wawrzkievicz K, Wolski T, Łobarzewski J. 1991. Screening the keratinolytic activity of dermatophytes *in vitro*. *Mycopathologia.* 114(1):1–8
- Weishaupt J, Kolb-Mäurer A, Lempert S, Nenoff P, Uhrlaß S, et al. 2014. A different kind of hedgehog pathway: tinea manus due to *Trichophyton erinacei* transmitted by an African pygmy hedgehog (*Atelerix albiventris*). *Mycoses.* 57(2):125–27
- Weitzman I, Summerbell R. 1995. The Dermatophytes. *Clin. Microbiol. Rev.* 8(2):240–59
- White TJ, Bruns T, Lee S, Taylor JW. 1990. Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. In *PCR Protocols: A Guide to Methods and Applications*, Eds. Innis, M.A., D.H. Gelfand, J.J. Sninsky, and T.J. White. Academic Press, Inc., New York, pp. 315–22
- Ye J, Coulouris G, Zaretskaya I, Cutcutache I, Rozen S, Madden TL. 2012. Primer-BLAST: A tool to design target-specific primers for polymerase chain reaction. *BMC Bioinformatics.* 13(134):1–11
- Ziółkowska G, Nowakiewicz A, Gnat S, Trościańczyk A, Zięba P, Majer Dziedzic B. 2015. Molecular identification and classification of *Trichophyton mentagrophytes* complex strains isolated from humans and selected animal species. *Mycoses.* 58(3):119–26

## 8. PŘÍLOHY

### 8.1. Informace o chycených hlodavcích

Tab. P1 Seznam chycených hlodavců, způsob odběru materiálu, datum a lokalita odchyty.

Kód	Druh hlodavce	Odběr	Datum odchyty	Lokalita	Typ lokality	Pohlaví, pozn.
AFS1	myšice lesní	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
AFS2	myšice lesní	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
AF23	myšice lesní	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
AFS4	myšice lesní	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
AFS5	myšice lesní	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
AFS6	myšice lesní	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
AFS7	myšice lesní	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
AFS8	myšice lesní	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
AFS9	myšice lesní	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
AFS10	myšice lesní	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
AFS11	myšice lesní	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
AFS12	myšice lesní	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
AFS13	myšice lesní	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
AFS14	myšice lesní	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
AFS15	myšice lesní	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
AFS16	myšice lesní	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
CGS1	normík rudý	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
CGS2	normík rudý	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
CG23	normík rudý	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
CGS4	normík rudý	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
CGS5	normík rudý	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
CGS6	normík rudý	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
CGS7	normík rudý	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
CGS8	normík rudý	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
CGS9	normík rudý	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
CGS10	normík rudý	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
CGS11	normík rudý	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
CGS12	normík rudý	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
CGS13	normík rudý	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
CGS14	normík rudý	kartáček	19.-20. 11. 2018	Sedlečko (Karlovy Vary)	les	-
MML1	myš domácí	stěr	3. 12. 2018	Lipence	stáje	F
MMB1	myš domácí	kartáček	29. 11. 2018	Brandýs nad Labem	obytná budova	M
MMB2	myš domácí	kartáček	29. 11. 2018	Brandýs nad Labem	obytná budova	F
MMB3	myš domácí	kartáček	29. 11. 2018	Brandýs nad Labem	obytná budova	M
MMB4	myš domácí	kartáček	29. 11. 2018	Brandýs nad Labem	obytná budova	M
MMB5	myš domácí	kartáček	29. 11. 2018	Brandýs nad Labem	obytná budova	-
MMB6	myš domácí	kartáček	29. 11. 2018	Brandýs nad Labem	obytná budova	F
MMB7	myš domácí	kartáček	29. 11. 2018	Brandýs nad Labem	obytná budova	F
MMB8	myš domácí	kartáček	29. 11. 2018	Brandýs nad Labem	obytná budova	F
MMB9	myš domácí	kartáček	29. 11. 2018	Brandýs nad Labem	obytná budova (garáž)	F březí
MMB10	myš domácí	kartáček	28. 1. 2019	Brandýs nad Labem	obytná budova	F

<b>Kód</b>	<b>Druh hlodavce</b>	<b>Odběr</b>	<b>Datum odchytu</b>	<b>Lokalita</b>	<b>Typ lokality</b>	<b>Pohlaví, pozn.</b>
MMB11	myš domácí	kartáček	28. 1. 2019	Brandýs nad Labem	obytná budova	F subadult
MMB12	myš domácí	kartáček	28. 1. 2019	Brandýs nad Labem	obytná budova	M
MMB13	myš domácí	kartáček	28. 1. 2019	Brandýs nad Labem	obytná budova	F
MMB14	myš domácí	kartáček	28. 1. 2019	Brandýs nad Labem	obytná budova (garáž)	F
MMB15	myš domácí	kartáček	28. 1. 2019	Brandýs nad Labem	obytná budova	M
MMB16	myš domácí	kartáček	28. 1. 2019	Brandýs nad Labem	obytná budova	F
MMB17	myš domácí	kartáček	28. 1. 2019	Brandýs nad Labem	obytná budova	M
MMP1	myš domácí	stěr	19. 3. 2019	Praha-Chuchle	minizoo	M, odběr až v chovech 21. 3. 2019
MMP2	myš domácí	stěr	19. 3. 2019	Praha-Chuchle	minizoo	F, odběr až v chovech 21. 3. 2019
MMP3	myš domácí	stěr	19. 3. 2019	Praha-Chuchle	minizoo	M, odběr až v chovech 21. 3. 2019
H383	myš domácí	kartáček	3. 6. 2019	Loužek (Cheb)	statek	F
H389	myš domácí	kartáček	3. 6. 2019	Povodí (Cheb)	stáje	M
H391	myš domácí	kartáček	3. 6. 2019	Povodí (Cheb)	stáje	F
H394	myš domácí	kartáček	3. 6. 2019	Povodí (Cheb)	stáje	M
H396	myš domácí	kartáček	3. 6. 2019	Povodí (Cheb)	stáje	F
H409	myš domácí	kartáček	4. 6. 2019	Straas (Münchberg, Německo)	statek	M
H410	myš domácí	kartáček	4. 6. 2019	Straas (Münchberg, Německo)	statek	M
H411	myš domácí	kartáček	4. 6. 2019	Straas (Münchberg, Německo)	statek	F
H412	myš domácí	kartáček	4. 6. 2019	Straas (Münchberg, Německo)	statek	F
H414	myš domácí	kartáček	4. 6. 2019	Loužek (Cheb)	statek	M
H424	myš domácí	kartáček	4. 6. 2019	Hartoušov (Cheb)	statek	M
H427	myš domácí	kartáček	4. 6. 2019	Hartoušov (Cheb)	statek	F

M = samec, F = samice

## 8.2. Kmeny použité v diplomové práci

Tab. P2 Seznam použitých kmenů a data o jejich původu.

Druh / kód izolátu <sup>1,2</sup>	Lokalita, substrát	Sběr, izolace	MAT lokus <sup>3</sup>	Přístupová čísla sekvencí <sup>4</sup>		
				ITS	<i>tubb</i>	<i>tef1a</i>
<b><i>Arthroderma amazonicum</i></b>						
CBS 221.75 = ATCC 28356 = CDC Y-81 = IHEM 3454 = RV 34870	Brazílie, poblíž Belému a řeky Guama, chlupy z hlodavce ( <i>Proechimys guyanensis</i> )	sb. a izol. A. A. Padhye	neidentif. (MT+)	LR136966	LR136778	LR136779
CBS 967.68 = ATCC 18393 <sup>T</sup>	Brazílie, Manaus, chlupy z hlodavce ( <i>Oryzomys</i> )	izol. D. Borelli	neidentif.	LR136967	LR136780	LR136781
<b><i>Arthroderma ciferrii</i></b>						
CBS 272.66 = UAMH 2534 <sup>T</sup>	USA, Arkansas, půda	sb. a izol. L. Ajello	homothalický	AJ877217	HF937403	LR136782
<b><i>Arthroderma crocatum</i></b>						
CBS 130.70	Nizozemsko, Oostelijk Flevoland, půda	izol. J. H. van Emden 1969	neidentif.	LR136968	LR136783	LR136784
CCF 5206 = KVK 101_15	ČR, Brno, muž 37 let, nehty na ruce	sb. a izol. R. Dobiáš 2015	neidentif.	×	×	×
CCF 5207 = KVK 173_15	ČR, Brno, žena 33 let, nehty na nohou	sb. a izol. R. Dobiáš 2015	neidentif.	×	×	×
CCF 5934 = CLIS 5170/16	ČR, Praha, kožní šupiny a srst kočky	sb. a izol. R. Dobiáš 2016	homothalický	×	×	×
CCF 6388 = CGS4-1	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst normika rudého ( <i>Clethrionomys glareolus</i> )	tato práce	neidentif.	#	#	#
CGS8-6	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst normika rudého ( <i>Clethrionomys glareolus</i> )	tato práce	neidentif.	#	#	#
IHEM 5251 = CCF 5300 = ATCC 66309 = NHL 2986 = UAMH 6331 <sup>T</sup>	Japonsko, Hokkaido, Nakagawa-cho, Nakagawa-gun, půda	izol. H. Kubo 1986	homothalický	LR136969	LR136785	LR136786
<b><i>Arthroderma cuniculi</i></b>						
CBS 492.71 = ATCC 28442 = IHEM 4437 = IMI 096244 <sup>MT</sup>	UK, Skotsko, půda z králičí nory a králičí chlupy (monoaskosporický izolát)	sb. a izol. C. O. Dawson 1963	<b>MATI-2</b> (MT-)	KT155926	LR136787	LR136788
CBS 495.71 = ATCC 18444 = IMI 096245 <sup>MT</sup>	UK, Skotsko, půda z králičí nory a králičí chlupy (monoaskosporický izolát)	sb. a izol. C. O. Dawson 1963	neidentif. (MT+)	MH86023	LR136789	LR136790
CGS12-1	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst normika rudého ( <i>Clethrionomys glareolus</i> )	tato práce	<b>MATI-2</b>	# <sup>3</sup>	#	#
<b><i>Arthroderma curreyi</i></b>						
CBS 353.66 <sup>T</sup>	UK, půda z dun	izol. A. E. Apinis 1966	homothalický	LR136970	LR136791	LR136792
CCF 5965 = CFMR 44736-30-110-I5	USA, Wisconsin, Green County, kůže korálovky sedlaté ( <i>Lampropeltis triangulum</i> )	sb. a izol. J. M. Lorch 2013	neidentif.	×	×	×
CCF 6386 = CGS6-2	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst normika rudého ( <i>Clethrionomys glareolus</i> )	tato práce	neidentif.	#	#	#
CGS13-3	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst normika rudého ( <i>Clethrionomys glareolus</i> )	tato práce	neidentif.	#	#	#
UAMH 2208	Nový Zéland, půda	neznámé	homothalický	×	×	×
<b><i>Arthroderma eboreum</i></b>						
CBS 117155 = DSM 16978 <sup>T</sup>	Německo, lidská kůže (pacient narozený na Pobřeží slonoviny)	J. Brasch 2004	neidentif.	LR136971	LR136793	LR136794
<b><i>Arthroderma flavescens</i></b>						
CBS 473.78 = IMI 117341 <sup>T</sup>	Austrálie, Queensland, peří ledňáčka posvátného ( <i>Todiramphus sanctus</i> )	sb. a izol. R. G. Rees 1965	neidentif.	LR136972	LR136795	LR136796

**Tab. P2** Seznam použitých kmenů a data o jejich původu.

Druh / kód izolátu <sup>1,2</sup>	Lokalita, substrát	Sběr, izolace	MAT lokus <sup>3</sup>	Přístupová čísla sekvencí <sup>4</sup>		
				ITS	<i>tubb</i>	<i>tefla</i>
<b><i>Arthroderma gertleri</i></b>						
UAMH 2620 <sup>T</sup>	Německo, půda	izol. H. Böhme	neidentif.	LR136973	LR136797	LR136798
UAMH 2818 = CDC X-847	neznámé	izol. L. Ajello	<i>MAT1-2</i>	×	×	×
UAMH 2819 = CBS 665.77 = CDC X-848	neznámé	izol. L. Ajello	neidentif.	LR136963	LR136772	LR136773
UAMH 2998	Kanada, Alberta, Edmonton, Alberta Game Farm, půda	izol. A. A. Padhye 1968	neidentif.	×	×	×
UAMH 3424	USA, Kalifornie, Needles, půda	neznámé	<i>MAT1-1</i>	×	×	×
<b><i>Arthroderma gloriae</i></b>						
CBS 228.79 = UAMH 658 = ATCC 16655	USA, Nové Mexiko, půda	neznámé	neidentif.	×	×	×
CBS 663.77 = ATCC 16658 = UAMH 2821 <sup>MT</sup>	USA, Arizona, půda	izol. L. Ajello	neidentif.	AJ877209	LR136799	LR136800
CBS 664.77 = ATCC 16657 = UAMH 2820 <sup>MT</sup>	USA, Arizona, půda	izol. L. Ajello	neidentif.	LR136974	LR136801	LR136802
UAMH 3417	USA, Kalifornie, San Diego County, půda	neznámé	neidentif.	×	×	×
UAMH 3418	USA, Kalifornie, San Diego County, půda	neznámé	neidentif.	×	×	×
UAMH 3421	USA, Kalifornie, San Diego County, půda	neznámé	neidentif.	×	—	×
<b><i>Arthroderma chiloniense</i></b>						
CBS 144073 = DSM 106167 = CCF 6188 <sup>T</sup>	Německo, Kiel, žena 68 let, kůže	sb. a izol. J. Brasch 2017	neidentif.	LT992885	LR702008	LR702009
DSM 106573 = CCF 5865 = SILKE5	Německo, Herxheim, muž 80 let, kožní šupiny z levé nohy (tinea cruris)	sb. a izol. T. Stern 2016	neidentif.	×	×	×
<b><i>Arthroderma insingulare</i></b>						
BY 3809	USA, koberec v ložnici	izol. Z. Jurjević 2016	neidentif.	×	×	—
CBS 521.71 = UAMH 3441 = ATCC 22519	Kanada, Alberta, Emonton, půda	izol. A. A. Padhye 1971	<i>MAT1-2</i>	×	×	×
CBS 522.71 = UAMH 3442 = ATCC 22520	Kanada, Alberta, Emonton, půda	izol. A. A. Padhye 1971	<i>MAT1-1</i>	×	×	×
CCF 5417 = D 331_15	ČR, České Budějovice, žena 65 let, nehty na pravé noze	sb. a izol. N. Mallátová 2015	<i>MAT1-2</i>	×	×	×
CCF 5938 = 24230-02 dorsal skin #1 I2	USA, Vermont, Rutland County, kůže chřestýše lesního ( <i>Crotalus horridus</i> )	sb. D. Blodgett 2009, izol. J. M. Lorch 2013	<i>MAT1-1</i>	×	×	×
CCF 5939 = CFMR 24411-01 skin I2	USA, Massachusetts, Middlesex County, kůže korálovky sedlaté ( <i>Lampropeltis triangulum</i> )	sb. J. Marzolf 2013, izol. J. M. Lorch 2013	<i>MAT1-1</i>	×	×	×
CCF 5940 = CFMR 24411-01 skin I3	USA, Massachusetts, Middlesex County, kůže korálovky sedlaté ( <i>Lampropeltis triangulum</i> )	sb. J. Marzolf 2013, izol. J. M. Lorch 2013	<i>MAT1-1</i>	×	×	×
CCF 5941 = CFMR 24825-01 skin I2-DTM	USA, Massachusetts, Norfolk County, kůže chřestýše lesního ( <i>Crotalus horridus</i> )	sb. A. Stengle 2014, izol. J. M. Lorch 2014	<i>MAT1-2</i>	×	×	×
CCF 5942 = CFMR 44736-22-snout-I1	USA, New Jersey, Morris County, kůže štíhlovky americké ( <i>Coluber constrictor</i> )	sb. K. Michell 2013, izol. J. M. Lorch 2013	<i>MAT1-1</i>	×	×	×
CCF 5943 = CFMR 44797-157-I1-DTM	USA, Alabama, Conecuh County, kůže na křídlech hibernujícího netopýra ( <i>Myotis austroriparius</i> )	sb. N. Sharp 2015, izol. J. M. Lorch 2015	<i>MAT1-2</i>	×	×	×
CCF 5944 = CFMR 45692-17-shed-I1-DTM	UK, Essex, Epping Forest, kůže užovky obojkové ( <i>Natrix natrix</i> )	sb. L. Franklins 2014, izol. J. M. Lorch 2016	<i>MAT1-1</i>	×	×	×
SK 1555_16	ČR, Praha, žena 53 let, nehty na noze	sb. a izol. M. Skořepová 2016	<i>MAT1-1</i>	×	×	×
UAMH 754	Kanada, Alberta, Edmonton, koňská pastvina	izol. J. W. Carmichael 1959	<i>MAT1-1</i>	×	×	×
UAMH 2922	Maďarsko, půda	izol. Szathmary 1962	<i>MAT1-2</i>	×	—	—
UAMH 2923	Maďarsko, půda	izol. Szathmary 1962	neidentif.	×	—	×
UAMH 2925	USA, Kalifornie, půda	neznámé	<i>MAT1-2</i>	×	×	×
UAMH 3438 <sup>MT</sup>	Kanada, Alberta, Edmonton, Alberta Game Farm, půda	izol. A. A. Padhye 1968	<i>MAT1-2</i>	LR136975	LR136803	LR702007
UAMH 3439	Kanada, Alberta, Edmonton, Alberta Game Farm, půda	izol. A. A. Padhye 1968	<i>MAT1-2</i>	×	×	×

**Tab. P2** Seznam použitých kmenů a data o jejich původu.

Druh / kód izolátu <sup>1,2</sup>	Lokalita, substrát	Sběr, izolace	MAT lokus <sup>3</sup>	Přístupová čísla sekvencí <sup>4</sup>		
				ITS	<i>tubb</i>	<i>tefla</i>
<b><i>Arthroderma lenticulare</i></b>						
CBS 307.65 = ATCC 18445 = IHEM 3717 <sup>MT</sup>	USA, Kalifornie, Los Angeles County, půda z nory hlodavce (Geomyidae)	sb. a izol. R. S. Pore	<i>MAT1-2</i>	AJ877211	LR136806	LR136807
CBS 308.65 = ATCC 18446 = IHEM 3703 <sup>MT</sup>	USA, Kalifornie, Los Angeles County, půda z nory hlodavce (Geomyidae)	sb. a izol. R. S. Pore	<i>MAT1-1</i>	LR136977	LR136808	LR136809
UAMH 2900 = CDC X-756	neznámé	neznámé	<i>MAT1-2</i>	×	×	×
UAMH 2931 = IMI 113772 <sup>MT</sup>	neznámé	neznámé	<i>MAT1-2</i>	×	×	×
UAMH 2932 = ATCC 18445 = IHEM 3717 = IMI 113773 <sup>MT</sup>	neznámé	neznámé	<i>MAT1-1</i>	×	×	×
<b><i>Arthroderma magnisporum</i> comb. nov.*</b>						
CBS 132551 = FMR 11770 <sup>T</sup>	Antarktida, Jižní Shetlandy, Ostrov krále Jiřího, Potterova zátoka, Jubánská argentinská vědecká stanice, pelety chaluhy velké ( <i>Catharacta skua</i> )	sb. W. P. Mac Cormack 1996, izol. A. M. Stchigel	neidentif.	LR756523	LR756531	LR756532
<b><i>Arthroderma melbournense</i> sp. nov.*</b>						
CBS 145858 = CCF 6162 <sup>T</sup>	Austrálie, Melbourne, Nunawading, nehtová drť	S. Jennings & S. Hainsworth 2017	neidentif.	LR756519	LR756527	LR756528
<b><i>Arthroderma melis</i></b>						
CBS 669.80 = CCM F-514 <sup>T</sup>	ČR, Morava, nora jezevce ( <i>Meles meles</i> )	K. Křivanec 1973	<i>MAT1-1</i>	AJ877216	HF937404	LR136810
<b><i>Arthroderma multifidum</i></b>						
CBS 419.71 = ATCC 18440 = IHEM 4432 = IMI 094205 = RV 20033 <sup>MT</sup>	UK, Skotsko, půda z králičí nory a králičí chlupy (monoaskosporický izolát)	izol. C. O. Dawson 1963	neidentif. (MT+)	LR136978	KT155559	LR136811
CBS 420.71 = ATCC 18441 = IMI 094206 <sup>MT</sup>	UK, Skotsko, půda z králičí nory a králičí chlupy (monoaskosporický izolát)	izol. C. O. Dawson 1963	neidentif. (MT-)	MH860194	LR136812	LR136813
CCF 5858 = AK 108_14	ČR, Český Kras, podzemní chodba u Velké Ameriky, jeskynní sediment	sb. a izol. A. Kubátová 2014	neidentif.	×	×	—
<b><i>Arthroderma oceanitis</i> comb. nov.*</b>						
CBS 132552 = FMR 11771 <sup>T</sup>	Antarktida, Jižní Shetlandy, Ostrov krále Jiřího, Three Brothers Hill, mrtvé mládě buňňáčka Wilsonova ( <i>Oceanites oceanicus</i> )	sb. A. Archuvi 2011, izol. A. M. Stchigel	neidentif.	LR756524	LR756533	LR778323
<b><i>Arthroderma onychocola</i></b>						
CBS 132920 = CCF 4259 = SK 3941_11 <sup>T</sup>	ČR, Jičín, muž 33 let, nehty na nohou	M. Skořepová 2011	<i>MAT1-1</i>	HF937405	HF937401	LR136814
CCF 4802	Dánsko, Kodaň, muž 56 let, nehet na levém palci u nohy	sb. a izol. C. V. Nissen 2013	<i>MAT1-2</i>	LN589976	LN589971	LR136815
CCF 5208 = D 412_15	ČR, České Budějovice, žena 70 let, kůže na bérce pravé nohy	sb. a izol. N. Mallátová 2015	neidentif.	×	—	×
CCF 5927 = MYK-19_1 = PL 9_17	ČR, Haviřov, žena 52 let (onkologická pacientka), nehet na prostředníčku pravé ruky	sb. a izol. P. Lysková 2017	neidentif.	×	×	×
CCF 5945 = CFMR 24230-03 snout I2	USA, Vermont, Rutland County, kůže hada ( <i>Pantherophis alleghaniensis</i> )	sb. D. Blodgett 2011, izol. J. M. Lorch 2013	neidentif.	×	×	×
D 233_16	ČR, České Budějovice, žena 71 let, kůže na obou bércech	sb. a izol. N. Mallátová 2016	neidentif.	×	×	×
D 578_15	ČR, Tábor, žena 29 let, nehty na noze	sb. a izol. N. Mallátová 2015	neidentif.	×	×	×
UAMH 824	Nový Zéland, chlupy z ježka ( <i>Erinacues</i> sp.)	izol. M. J. Marples 1960	neidentif.	×	—	×
<b><i>Arthroderma phaseoliforme</i></b>						
CBS 364.66 <sup>T</sup>	Venezuela, kožešina z hlodavce ( <i>Proechimys guyanensis</i> )	sb. a izol. D. Borelli 1966	<i>MAT1-1</i>	LR136979	LR136816	LR136817

**Tab. P2** Seznam použitých kmenů a data o jejich původu.

Druh / kód izolátu <sup>1,2</sup>	Lokalita, substrát	Sběr, izolace	MAT lokus <sup>3</sup>	Přístupová čísla sekvencí <sup>4</sup>		
				ITS	tubb	tefla
<b><i>Arthroderma quadrifidum</i></b>						
CBS 117.61	neznámé	sb. a izol. 1961	MAT1-2	×	×	×
CBS 118.61	neznámé	sb. a izol. 1961	MAT1-1	×	×	×
CBS 138.26 = ATCC 13550 = IFO 31699	Švýcarsko, neznámý substrát	neznámé	MAT1-1	×	×	×
CBS 613.74 = UAMH 11336	Kanada, New Brunswick, Underground Lake Cave, kůže netopýra ( <i>Myotis septentrionalis</i> )	izol. K. J. Vanderwolf 2010	MAT1-2	×	×	×
CCF 4743 = KVK 2023_11	ČR, Frýdek-Místek, muž 76 let, nehty na ruce	sb. a izol. S. Dobiášová 2011	MAT1-2	×	×	×
CCF 4826 = DMF 3040_13	ČR, Ostrava, žena 44 let, nehty obou nohou	sb. a izol. S. Dobiášová 2013	MAT1-1	×	×	×
CCF 5078 = IDE 13_1531 = DERM 10	ČR, Krnov, žena 57 let (revmatická artritida), kůže na bérce	sb. a izol. P. Hamal 2013	MAT1-2	×	×	×
CCF 5079 = KVK 3575_11	ČR, Frýdek-Místek, muž 51 let, kůže na dlani	sb. a izol. S. Dobiášová 2011	MAT1-2	×	×	×
CCF 5080 = DMF 1472_13	ČR, Karviná, žena 71 let, nehty na noze	sb. a izol. S. Dobiášová 2013	neidentif.	×	×	×
CCF 5198 = AN-TRICH 5198	Španělsko, Castanar de Ibor Cave, jeskynní sediment	sb. a izol. 2009	MAT1-2	×	×	×
CCF 5431 = D 342_13	ČR, Prachatice, žena 62 let, nehty na noze	sb. a izol. N. Mallátová 2013	MAT1-2	×	×	×
CCF 5776 = D 51_16	ČR, České Budějovice, žena 40 let, nehty na ruce	sb. a izol. N. Mallátová 2016	MAT1-1	×	×	×
CCF 5777 = D 294_14	ČR, České Budějovice, žena 70 let, nehet na malíčku na ruce	sb. a izol. N. Mallátová 2014	MAT1-1	×	×	×
CCF 5792 = D 326_16	ČR, Tábor, žena 56 let, kůže na plosce nohy	N. Mallátová 2016	MAT1-2	×	×	×
CCF 5932 = CLIS 5933_16	ČR, Orlová, žena 63 let, palec na levé noze	sb. a izol. R. Dobiáš 2016	MAT1-2	×	×	×
CCF 5946 = CFMR 46654-01 19VA06	USA, Virginie, Bath County, jeskynní sediment	sb. W. Orndorff 2009, izol. J. M. Lorch	MAT1-1	×	×	×
CCF 5947 = CFMR 46654-01 19VA09	USA, Virginie, Bath County, jeskynní sediment	sb. W. Orndorff 2009, izol. J. M. Lorch	MAT1-1	×	×	×
CCF 5948 = CFMR 46655-01 20KY07	USA, Kentucky, Wayne County, jeskynní sediment	sb. 2009, izol. J. M. Lorch	MAT1-2	×	×	×
CCF 5949 = CFMR 24834-02 skin I1-DTM	USA, Minnesota, Fillmore County, kůže plaza ( <i>Crotalus horridus</i> )	sb. J. Edwards 2014, izol. J. M. Lorch 2014	MAT1-1	×	×	×
CCF 5950 = CFMR 44797-062-I1-LNA	USA, Missouri, Shannon County, kůže na křídle hibernujícího netopýra ( <i>Myotis sodalis</i> )	sb. J. Colatskie 2015, izol. J. M. Lorch 2015	MAT1-1	×	×	×
CCF 6385 = MMB9-2	ČR, Brandýs n. L., garáž, srst myši domácí ( <i>Mus musculus</i> )	tato práce	MAT1-2	#	#	#
CLIS 2233_15	ČR, Partutovice, žena 35 let, kůže na předloktí	sb. a izol. S. Dobiášová 2013	MAT1-2	×	×	×
D 345_14	ČR, České Budějovice, dívka 6 let, kůže na obličejí a krku	sb. a izol. N. Mallátová 2014	MAT1-1	×	×	×
D 388_11	ČR, České Budějovice, žena 67 let, nehet na palci poraněný při práci na zahradě	sb. a izol. N. Mallátová 2011	MAT1-1	×	×	×
H391-1	ČR, Povodí (Cheb), stáj, srst myši domácí ( <i>Mus musculus</i> )	tato práce	MAT1-1	#	#	#
KVK 2380_11	ČR, Frýdek-Místek, žena 19 let, kůže v levé podpažní jamce	sb. a izol. S. Dobiášová 2011	MAT1-2	×	×	×
SK 646_14	ČR, Jinočany, žena 48 let, kůže na plosce nohy	sb. a izol. M. Skořepová 2014	MAT1-1	×	×	×
SK 1539_15	ČR, Zdiby, žena 60 let, kůže v tříslech	sb. a izol. M. Skořepová 2015	MAT1-1	×	—	×
UAMH 458	Kanada, Alberta, Edmonton, kůže na pravé ruce	izol. J. W. Carmichael 1956	MAT1-1	×	×	×
UAMH 544	Kanada, Alberta, Edmonton, půda ve výběhu pro ovce	izol. J. W. Carmichael 1956	MAT1-2	×	—	×
UAMH 546	Kanada, Alberta, Edmonton, půda ve výběhu pro prasata ( <i>Sus scrofa domestica</i> )	izol. J. W. Carmichael 1956	MAT1-1	×	—	×
UAMH 755	Kanada, Alberta, Edmonton, půda ve výběhu pro prasata ( <i>Sus scrofa domestica</i> )	izol. J. W. Carmichael 1959	MAT1-2	×	×	×
UAMH 763	Kanada, Alberta, Edmonton, půda poblíž kurníku	izol. J. W. Carmichael 1959	MAT1-2	×	—	×
UAMH 790	Kanada, Alberta, Edmonton, kůže na noze	izol. J. W. Carmichael 1960	MAT1-2	×	—	×
UAMH 794	Kanada, Alberta, Edmonton, seškraby z nehtů na noze	izol. A. A. Padhye 1960	MAT1-1	×	—	×

**Tab. P2** Seznam použitých kmenů a data o jejich původu.

Druh / kód izolátu <sup>1,2</sup>	Lokalita, substrát	Sběr, izolace	MAT lokus <sup>3</sup>	Přístupová čísla sekvencí <sup>4</sup>		
				ITS	tubb	tefla
UAMH 864	Maďarsko, půda	neznámé	MAT1-2	×	—	×
UAMH 1049	USA, Kalifornie, Riverside County, zásaditá půda	izol. Orr	MAT1-2	×	—	×
UAMH 1328	Kanada, Alberta, Edmonton, Alberta Game Farm, písčitá půda ve výběhu pro koně	izol. J. W. Carmichael 1962	MAT1-1	×	×	×
UAMH 1491	Kanada, Alberta, Edmonton, půda pod hnízdem vrabce polního ( <i>Passer montanus</i> )	izol. J. W. Carmichael 1962	MAT1-1	×	—	×
UAMH 1687	Kanada, Alberta, Edmonton, půda v květinovém záhonu	izol. J. W. Carmichael 1963	MAT1-1	×	—	×
UAMH 1688	Kanada, Alberta, Edmonton, půda v květinovém záhonu	izol. J. W. Carmichael 1963	MAT1-2	×	—	×
UAMH 1848	Maďarsko, půda	neznámé	MAT1-1	×	—	×
UAMH 1863	USA, Utah, Tooele County, Dugway, půda	neznámé	MAT1-2	×	×	×
UAMH 1914	neznámá lokalita, sputum člověka	neznámé	MAT1-1	×	×	×
UAMH 1915	Kanada, Alberta, Edmonton, kůže na ruce	izol. J. W. Carmichael 1964	MAT1-2	×	—	×
UAMH 2125	Kanada, Alberta, Edmonton, žena 16 let, kůže na noze	izol. J. W. Carmichael 1964	MAT1-1	×	—	×
UAMH 2496	Kanada, Alberta, Edmonton, kožní šupiny z ramenu	izol. J. W. Carmichael 1965	MAT1-1	×	—	×
UAMH 2514	Maďarsko, půda	izol. Szathmary 1964	MAT1-1	×	—	×
UAMH 2517	Maďarsko, půda	izol. Szathmary 1964	MAT1-1	×	×	×
UAMH 2527	Maďarsko, půda	izol. Szathmary 1964	MAT1-1	×	×	×
UAMH 2562	Austrálie, Queensland, <i>Rattus assimilis</i>	1964	MAT1-2	×	—	×
UAMH 2703	Kanada, Alberta, Edmonton, chlupy a kožní šupiny kočky ( <i>Felis silvestris f. catus</i> )	izol. J. W. Carmichael	MAT1-1	×	—	×
UAMH 2843	Kanada, Alberta, Edmonton, chlupy na přední tlapce kočky ( <i>Felis silvestris f. catus</i> )	izol. J. W. Carmichael 1967	MAT1-1	×	—	×
UAMH 2858	Maďarsko, půda	izol. Szathmary 1967	MAT1-1	×	×	×
UAMH 2920	USA, Kalifornie, půda	neznámé	MAT1-2	×	×	×
UAMH 2941 = ATCC 22954 = IMI 84307 = UAMH 3183 <sup>MT</sup>	neznámé (monoaskosporický izolát)	izol. C. O. Dawson & J. C. Gentles 1961	MAT1-2	LR136964	LR136774	LR136775
UAMH 2942 = ATCC 22955 = IMI 84308 = UAMH 3184 = UAMH 3187 <sup>MT</sup>	neznámé (monoaskosporický izolát)	izol. C. O. Dawson & J. C. Gentles 1961	MAT1-1	LR136965	LR136776	LR136777
UAMH 3065 = ATCC 26339	USA, Illinois, Farina, slepičí peří ( <i>Gallus gallus f. domestica</i> )	izol. R. K. Benjamin 1950	MAT1-2	×	×	×
UAMH 3449	Nizozemsko, Flevoland, půda z polderu (vodní nádrž)	neznámé	MAT1-2	×	×	×
UAMH 3455	Guatemala, lidské vlasy	neznámé	MAT1-1	×	—	×
UAMH 3456	neznámá lokalita, lidské vlasy (bez známek onemocnění)	neznámé	MAT1-2	×	—	×
UAMH 3458	neznámá lokalita, lidské vlasy (bez známek onemocnění)	neznámé	MAT1-1	×	×	×
UAMH 3459	USA, Kalifornie, sputum člověka	neznámé	MAT1-1	×	—	×
UAMH 3564	Súdán, půda	neznámé	MAT1-2	×	×	×
UAMH 6435	Kanada, Alberta, kůže krávy ( <i>Bos taurus</i> )	izol. K. Manninen 1989	MAT1-1	×	×	×
<b><i>Arthroderma redellii</i></b>						
CBS 134550 = CCF 5974 = CFMR 44738-01 = 44738-01-I1-SD	USA, Wisconsin, Grant County, kůže na křídle hibernujícího netopýra ( <i>Myotis lucifugus</i> )	sb. M. L. Verant 2012, izol. J. M. Lorch 2012	MAT1-1	×	×	×
CBS 134551 <sup>T</sup>	USA, Wisconsin, Grant County, Atkinson Mine, křídlo hibernujícího netopýra ( <i>Myotis lucifugus</i> )	sb. M. L. Verant 2012, izol. J. M. Lorch	MAT1-1	KM09130 7	LR136818	LR136819
CBS 134554 = CCF 5975 = CFMR 44738-08 = 44738-08-I1-SD	USA, Wisconsin, Pierce County, kůže na křídle hibernujícího netopýra ( <i>Myotis lucifugus</i> )	sb. M. L. Verant 2012, izol. J. M. Lorch 2012	neidentif.	×	×	—

**Tab. P2** Seznam použitých kmenů a data o jejich původu.

Druh / kód izolátu <sup>1,2</sup>	Lokalita, substrát	Sběr, izolace	MAT lokus <sup>3</sup>	Přístupová čísla sekvencí <sup>4</sup>		
				ITS	<i>tubb</i>	<i>tefla</i>
CCF 5976 = CFMR 24245-01-I1-SD	USA, Wisconsin, Lafayette County, kůže na křídlech hibernujícího netopýra ( <i>Perimyotis subflavus</i> )	sb. J. P. White 2013, izol. J. M. Lorch 2013	<i>MAT1-1</i>	×	×	×
CCF 5977 = CFMR 24300-01-I1-SD	USA, Wisconsin, Richland County, kůže na křídle hibernujícího netopýra ( <i>Myotis lucifugus</i> )	sb. J. P. White 2013, izol. J. M. Lorch 2013	<i>MAT1-1</i>	×	×	×
CCF 5978 = CFMR 44738-13-I1-SD	USA, Wisconsin, Iowa County, kůže na křídle hibernujícího netopýra ( <i>Myotis lucifugus</i> )	sb. J. P. White 2013, izol. J. M. Lorch 2013	<i>MAT1-1</i>	×	×	×
<b><i>Arthroderma silverae</i></b>						
CBS 141576 = UAMH 6517 <sup>T</sup>	Norsko, Špicberky, ostrov Svalbard, oblast Glundnest, Ny-Ålesund, trus polární lišky ( <i>Alopex lagopus</i> )	izol. R. Currah 1988	neidentif.	LR136980	LR136820	LR136821
<b><i>Arthroderma terrestre comb. nov.*</i></b>						
CBS 132929 = CBS 124118 = DSM 25999 = GE 204847_07	Německo, muž 58 let, nehet na palci pravé nohy	sb. a izol. Nenoff 2014	neidentif.	×	×	×
UAMH 657 <sup>T</sup>	Austrálie, New South Wales, půda	izol. E. B. Durie 1959	<i>MAT1-2</i>	LR756521	LR756534	LR756535
UAMH 662	neznámá, půda	neznámé	<i>MAT1-2</i>	LR756522	LR756536	LR756537
<b><i>Arthroderma thuringiense</i></b>						
CBS 417.71 = ATCC 22648 = IMI 134993 = NCPF 492A = UAMH 3431 <sup>T</sup>	ČR (bývalé Československo), chlupy z hlodavce	izol. M. Otčenášek 1967	<i>MAT1-2</i>	AJ877215	HF937402	LR778324
<b><i>Arthroderma tuberculatum</i></b>						
CBS 473.77 = ATCC 26700 = UAMH 873 <sup>T</sup>	USA, Illinois, Urbana, peří drozda ( <i>Turdus americanus</i> )	izol. H. H. Kühn 1954	neidentif. (MT+)	LR136981	LR136822	LR136823
UAMH 2831	Indie, Puné, půda	izol. A. A. Padhye 1967	neidentif.	×	—	×
<b><i>Arthroderma uncinatum</i></b>						
CBS 128.75 = ATCC 28687 = IMI 156619 = NCPF 472 = UAMH 3955	Polsko, Štětín, půda na dvorku s prasaty ( <i>Sus scrofa domesticus</i> )	izol. 1973	<i>MAT1-2</i>	×	—	×
CBS 180.64 = UAMH 3389	bývalé Československo, půda	izol. M. Hejtmánek 1964	<i>MAT1-2</i>	×	—	×
CBS 315.65 <sup>MT</sup>	USA, Kalifornie, Kern Country, půda	sb. a izol. O. A. Plunkett 1962	<i>MAT1-2</i>	MH85858	LR136824	LR136825
CBS 316.65 <sup>MT</sup>	USA, Kalifornie, Kern Country, půda	sb. a izol. O. A. Plunkett 1962	<i>MAT1-1</i>	MH85858 7 8	LR136826	LR136827
CBS 101515 = NCPF 216	Belgie, neznámý substrát	izol. R. Vanbreuseghem	<i>MAT1-1</i>	×	×	×
UAMH 519	Kanada, Alberta, Edmonton, půda ve výběhu s prasaty ( <i>Sus scrofa domesticus</i> )	izol. J. W. Carmichael 1956	<i>MAT1-2</i>	×	—	×
UAMH 520	Kanada, Alberta, Edmonton, půda na pastvině ovcí ( <i>Ovis</i> sp.)	izol. J. W. Carmichael 1956	<i>MAT1-1</i>	×	—	×
UAMH 536	Kanada, Alberta, Edmonton, půda na dvorku s drůbeží	izol. J. W. Carmichael 1956	<i>MAT1-1</i>	×	—	×
UAMH 547	Kanada, Alberta, Edmonton, půda u prasečího chlívků	izol. J. W. Carmichael 1956	<i>MAT1-2</i>	×	—	×
UAMH 556	Kanada, Alberta, Edmonton, půda na poli	izol. J. W. Carmichael 1956	<i>MAT1-1</i>	×	—	×
UAMH 557	Kanada, Alberta, Edmonton, půda	izol. J. W. Carmichael 1956	<i>MAT1-2</i>	×	—	×
UAMH 735	Kanada, Alberta, Edmonton, zahradní půda	izol. J. W. Carmichael 1959	<i>MAT1-1</i>	×	—	×
UAMH 736	Kanada, Alberta, Edmonton, zahradní půda	izol. J. W. Carmichael 1959	<i>MAT1-1</i>	×	—	×
UAMH 745	Kanada, Alberta, Edmonton, ovčí vlna	izol. J. W. Carmichael 1959	<i>MAT1-1</i>	×	×	×
UAMH 1315	Kanada, Alberta, Edmonton, Alberta Game Farm, písčité půda v ohradě pro koně	izol. J. W. Carmichael 1962	<i>MAT1-1</i>	×	×	×
UMAH 2711	Kanada, Alberta, Edmonton, půda pod smrkem ( <i>Picea</i> sp.)	izol. J. W. Carmichael 1967	<i>MAT1-2</i>	×	—	×
UAMH 2759	Kanada, Alberta, Edmonton, zahradní půda	izol. J. W. Carmichael 1967	<i>MAT1-2</i>	×	—	×
UAMH 3271 = UAMH 2929 = UAMH 3185	UK, půda (monoaskosporecký izolát)	izol. C. O. Dawson & J. C.	<i>MAT1-2</i>	×	×	×

**Tab. P2** Seznam použitých kmenů a data o jejich původu.

Druh / kód izolátu <sup>1,2</sup>	Lokalita, substrát	Sběr, izolace	MAT lokus <sup>3</sup>	Přístupová čísla sekvencí <sup>4</sup>		
				ITS	<i>tubb</i>	<i>tefla</i>
= UKNCC 71194 = IMI 084305 UAMH 3272 = UAMH 2930 = UAMH 3186 = IMI 84306 UAMH 3394 UAMH 5157 UAMH 5161 UAMH 6480 = ATCC 58594 UAMH 9278	UK, půda (monoaskosporický izolát)  neznámé USA, Michigan (monoaskosporický izolát), neznámý substrát USA, Michigan (monoaskosporický izolát), neznámý substrát neznámé Kanada, Alberta, Edmonton, žena 60 let, nehty na nohou	Gentles 1961 izol. C. O. Dawson & J. C. Gentles 1961 neznámé izol. C. D. Jeffries 1985 izol. C. D. Jeffries 1985 neznámé izol. C. Sand 1998	<i>MATI-1</i>  <i>MATI-2</i> <i>MATI-2</i> <i>MATI-2</i> <i>MATI-2</i> <i>MATI-1</i>	×  × × × × ×	×  × — — × ×	×  × × × × ×
<b><i>Arthroderma vespertili</i></b>						
CBS 355.93 = FMR 3752 = IMI 357403 = RV 27093 <sup>f</sup>	Belgie, Louvain, zaživací trakt netopýra ( <i>Microchiroptera</i> )	sb. C. de Vroey 1971	neidentif.	AJ007846	LR136828	LR136829
<b><i>Arthroderma</i> sp. 1</b>						
UAMH 565 UAMH 566 UAMH 567 UAMH 629 UAMH 734	Kanada, Alberta, Edmonton, zorané pole Kanada, Alberta, Edmonton, zorané pole Kanada, Alberta, Edmonton, půda ve výběhu pro drůbež Kanada, Alberta, Edmonton, půda na zahradě Kanada, Alberta, Edmonton, půda na zahradě	izol. J. W. Carmichael 1956 izol. J. W. Carmichael 1956 izol. J. W. Carmichael 1956 izol. J. W. Carmichael 1959 izol. J. W. Carmichael 1959	<i>MATI-1</i> neidentif. neidentif. neidentif. neidentif.	× × × × ×	× × × × ×	× × × × ×
<b><i>Arthroderma</i> sp. 2</b>						
CCF 5955 = CFMR 26379-01-skin3-I1-DTM CCF 5956 = CFMR 26379-01-skin3-I1-SD CCF 5957 = CFMR 26417-01-biop-I1-DTM CCF 5958 = CFMR 44736-44 scale I1	USA, New Hampshire, Hillsborough County, kůže štíhlovky americké ( <i>Coluber constrictor</i> ) USA, New Hampshire, Hillsborough County, kůže štíhlovky americké ( <i>Coluber constrictor</i> ) USA, Wisconsin, Sauk County, kůže chřestýše lesního ( <i>Crotalus horridus</i> ) USA, Minnesota, Sherburne County, kůže heterodona nosatého ( <i>Heterodon nasicus</i> )	sb. B. Clifford 2015, izol. J. M. Lorch 2015 sb. B. Clifford 2015, izol. J. M. Lorch 2015 sb. J. Kapfer 2015, izol. J. M. Lorch 2015 izol. C. Smith 2013, izol. J. M. Lorch 2013	neidentif. neidentif. neidentif. neidentif.	× × × ×	× × × ×	× × × ×
<b><i>Arthroderma</i> sp. 3</b>						
CCF 5953 = CFMR 44736-26-102-I1 CCF 5954 = CFMR 44736-26-103-I3	USA, Wisconsin, Green County, kůže hada ( <i>Thamnophis radix</i> ) USA, Wisconsin, Green County, kůže hada ( <i>Thamnophis radix</i> )	sb. a izol. J. M. Lorch 2013 sb. a izol. J. M. Lorch 2013	neidentif. neidentif.	× ×	× ×	× ×
<b><i>Arthroderma</i> sp. 4</b>						
07MA15 CCF 6387 = CGS12-4	USA, Massachusetts, půda z hibernákula netopýrů ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst norníka rudého ( <i>Clethrionomys glareolus</i> )	sb. 2008/2009, izol. J. M. Lorch tato práce	neidentif. <i>MATI-2</i>	× #	— #	— #
<b><i>Arthroderma</i> sp. 5</b>						
CCF 5888 = CBS 143633 = MS246-T	Indie, Maharashtra, Ratnagiri, Chiplun, půda blízko holičství	sb. R. Sharma 2015, izol. 2016	neidentif.	×	×	×
<b><i>Arthroderma</i> sp. 6</b>						
CCF 5987 = CFMR 45707-81-shed1-I1-DTM	ČR, jižní Morava, kůže užovky podplamaté ( <i>Natrix tessellata</i> )	sb. V. Balaz 2016, izol. J. M. Lorch 2016	neidentif.	×	×	×

**Tab. P2** Seznam použitých kmenů a data o jejich původu.

Druh / kód izolátu <sup>1,2</sup>	Lokalita, substrát	Sběr, izolace	MAT lokus <sup>3</sup>	Přístupová čísla sekvencí <sup>4</sup>		
				ITS	<i>tubb</i>	<i>tefla</i>
<b>Arthroderma sp. 8</b>						
CCF 5998 = CFMR 46373-1380-C2-DPYA	USA, Arkansas, Newton County, kůže na křídlech netopýra ( <i>Myotis leibii</i> )	sb. B. Sasse 2017, izol. K. J. Vanderwolf 2017	neidentif.	×	×	×
CCF 5966 = CFMR 44736-43 chin I1-DTM	USA, Minnesota, Sherburne County, kůže užovky ( <i>Pituophis catenifer</i> )	sb. C. Smith 2012, izol. J. M. Lorch 2013	neidentif.	×	×	×
UAMH 663	půda	neznámé	MAT1-2	×	×	×
<b>Arthroderma sp. 9</b>						
UAMH 851	USA, Kalifornie, San Joaquin Valley, půda	neznámé	MAT1-2	×	—	×
UAMH 852	USA, Kalifornie, San Joaquin Valley, půda	neznámé	MAT1-2	×	×	×
<b>Arthroderma sp. 10</b>						
CCF 5959 = CFMR 44736-13-C4-I1	USA, Massachusetts, kůže chřestýše lesního ( <i>Crotalus horridus</i> )	sb. J. Condon, izol. J. M. Lorch 2013	MAT1-2	×	×	×
CCF 6382 = CGS2-5	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst norníka rudého ( <i>Clethrionomys glareolus</i> )	tato práce	MAT1-1	#	#	#
<b>Arthroderma sp. 11</b>						
CCF 5952 = CFMR 44797-079-I1-DTM	USA, Wisconsin, Iowa County, kůže na křídlech hibernujícího netopýra hnědého ( <i>Eptesicus fuscus</i> )	sb. J. P. White 2015, izol. J. M. Lorch 2015	neidentif.	×	×	×
<b>Arthroderma sp. 12</b>						
CCF 5961 = CFMR 24729-17-I2-DTM	USA, Západní Virginie, Pendleton County, kůže hibernujícího netopýra hnědého ( <i>Eptesicus fuscus</i> )	sb. C. Stihler 2014, izol. J. M. Lorch 2014	neidentif.	×	×	×
<b>Arthroderma sp. 13</b>						
CCF 5861 = AK 267_13	ČR, západní Čechy, Výškovice, jeskynní sediment	sb. a izol. A. Kubátová 2013	neidentif.	×	×	×
CCF 5960 = CFMR 44738-22-I2-SD	USA, Wisconsin, Grant County, kůže na křídlech hibernujícího netopýra ( <i>Myotis lucifugus</i> )	sb. J. P. White 2013, izol. J. M. Lorch 2014	neidentif.	×	×	—
<b>Arthroderma sp. 14</b>						
CCF 5856 = AK 111_14	ČR, Český Kras, podzemní chodba u Velké Ameriky, jeskynní sediment	sb. a izol. A. Kubátová 2014	neidentif.	×	×	×
CCF 5951 = CFMR 44738-22-I1/I3-SD	USA, Wisconsin, kůže na křídlech hibernujícího netopýra ( <i>Myotis lucifugus</i> )	sb. J. P. White 2013, izol. J. M. Lorch 2013	neidentif.	×	×	×
H414-1	ČR, Loužek (Cheb), statek, srst myši domácí ( <i>Mus musculus</i> )	tato práce	neidentif.	#	#	#
H424-2	ČR, Hartoušov (Cheb), statek, srst myši domácí ( <i>Mus musculus</i> )	tato práce	neidentif.	#	#	#
H427-2ZN	ČR, Hartoušov (Cheb), statek, srst myši domácí ( <i>Mus musculus</i> )	tato práce	neidentif.	#	#	#
<b>Arthroderma sp. 15</b>						
CCF 5996 = CFMR 46372-1303-C1-SD	USA, Oklahoma, kůže na křídlech netopýra ( <i>Perimyotis subflavus</i> )	sb. C. Hoose 2017, izol. K. J. Vanderwolf 2017	neidentif.	×	—	×

**Tab. P2** Seznam použitých kmenů a data o jejich původu.

Druh / kód izolátu <sup>1,2</sup>	Lokalita, substrát	Sběr, izolace	MAT lokus <sup>3</sup>	Přístupová čísla sekvencí <sup>4</sup>		
				ITS	<i>tubb</i>	<i>tefla</i>
<b><i>Arthroderma</i> sp. 16</b>						
AFS1-4B	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst myšice lesní ( <i>Apodemus flavicollis</i> )	tato práce	<i>MAT1-1</i>	#	#	#
AFS2-3	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst myšice lesní ( <i>Apodemus flavicollis</i> )	tato práce	<i>MAT1-1</i>	#	#	#
AFS7-1	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst myšice lesní ( <i>Apodemus flavicollis</i> )	tato práce	<i>MAT1-2</i>	#	#	#
AFS8-1	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst myšice lesní ( <i>Apodemus flavicollis</i> )	tato práce	<i>MAT1-1</i>	#	#	#
AFS12-3	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst myšice lesní ( <i>Apodemus flavicollis</i> )	tato práce	<i>MAT1-2</i>	#	#	#
AFS13T-2	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst myšice lesní ( <i>Apodemus flavicollis</i> )	tato práce	<i>MAT1-1</i>	#	#	#
AFS15-3	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst myšice lesní ( <i>Apodemus flavicollis</i> )	tato práce	<i>MAT1-2</i>	#	#	#
AFS16-1ZN	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst myšice lesní ( <i>Apodemus flavicollis</i> )	tato práce	<i>MAT1-2</i>	#	#	#
CCF 6383 = AFS11-3	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst myšice lesní ( <i>Apodemus flavicollis</i> )	tato práce	<i>MAT1-2</i>	#	#	#
CCF 6384 = CGS13-1	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst normíka rudého ( <i>Clethrionomys glareolus</i> )	tato práce	<i>MAT1-2</i>	#	#	#
CGS1-3	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst normíka rudého ( <i>Clethrionomys glareolus</i> )	tato práce	<i>MAT1-2</i>	#	#	#
CGS2-4	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst normíka rudého ( <i>Clethrionomys glareolus</i> )	tato práce	<i>MAT1-2</i>	#	#	#
CGS5-1	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst normíka rudého ( <i>Clethrionomys glareolus</i> )	tato práce	<i>MAT1-1</i>	#	#	#
CGS6-3	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst normíka rudého ( <i>Clethrionomys glareolus</i> )	tato práce	<i>MAT1-2</i>	#	#	#
CGS8-7	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst normíka rudého ( <i>Clethrionomys glareolus</i> )	tato práce	<i>MAT1-1</i>	#	#	#
CGS9-1	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst normíka rudého ( <i>Clethrionomys glareolus</i> )	tato práce	<i>MAT1-1</i>	#	#	#
CGS14-2	ČR, Sedlečko (Karlovy Vary), les, srst normíka rudého ( <i>Clethrionomys glareolus</i> )	tato práce	<i>MAT1-1</i>	#	#	#
<b><i>Onygenales</i> sp. (outgroup)</b>						
CBS 143072 = CCF 5750 = L 1447_16	ČR, Liberec, žena 68 let, nehet palce pravé nohy	sb. a izol. J. Doležalová 2016	neidentif.	×	×	×
MML1-2	ČR, Lipence (Praha), stáj, srst myši domácí ( <i>Mus musculus</i> )	tato práce	neidentif.	#	#	#
<b><i>Ctenomyces serratus</i> (outgroup)</b>						
CBS 187.61 = ATCC 15504 = IMI 086199 = NRRL A-11176 <sup>T</sup>	Austrálie, půda	neznámé	neidentif.	LR136982	LR136830	LR136831
<b><i>Pectinotrichum ilanense</i> (outgroup)</b>						
CBS 882.71 = ATCC 18921 = IHEM 4440 = IMI 155643 = RV 22834 <sup>T</sup>	Venezuela, půda ze savany	sb. a izol. G. F. Orr	neidentif.	LR136983	LR136832	LR136833

**Tab. P2** Seznam použitých kmenů a data o jejich původu.

Druh / kód izolátu <sup>1,2</sup>	Lokalita, substrát	Sběr, izolace	MAT lokus <sup>3</sup>	Přístupová čísla sekvencí <sup>4</sup>		
				ITS	<i>tubb</i>	<i>tefla</i>
<i>Microsporium canis</i> SK 3494_19	ČR, Praha, žena 44 let, kůže na zápěstí	M. Skořepová 2019				
<i>Trichophyton benhamiae</i> var. <i>benhamiae</i> IHEM 4710 = NCPF 410 = ATCC 16781 = CBS 623.66 = CECT 2892 = IMI 124768 = RV 23303 <sup>T</sup>	USA, lidský klinický materiál (monoaskosporecký izolát vzniklý křížením kmenů TM 20 x TM 17)	L. Ajello 1989				
<i>Trichophyton benhamiae</i> var. <i>luteum</i> IHEM 25742	Belgie, Brusel, lidská kůže (tinea corporis)	Univerzitní nemocnice St. Pierre Brusel 2012				
<i>Trichophyton europaeum</i> ME 192/12	ČR, Pardubice, dívka 16 let, kůže na stehně	K. Mencl 2012				
<i>Trichophyton erinacei</i> CLIS 1516/19	ČR, Ostrava, žena 20 let (chovatelka ježka), kůže na břicho	S. Dobiášová 2019				
<i>Trichophyton japonicum</i> IHEM 17701 = ATCC 28063 = CBS 807.72 = CECT 2894 = RV 14988	Španělsko, lidský klinický materiál	M. Pereiro Miguens 1997				
<i>Trichophyton rubrum</i> IDE 120	ČR, Hanušovice, muž 34 let, kůže	P. Hamal 2019				
<i>Trichophyton tonsurans</i> SK 2335/17	ČR, Praha, muž 28 let (zápasník), kůže na ušním boltci	M. Skořepová 2017				

<sup>1</sup> Sbírkové kódy: ATCC = American Type Culture Collection, Manassas, Virginia, USA; CBS = CBS-KNAW, Centraalbureau voor Schimmelcultures, Westerdijk Fungal Biodiversity Institute, Utrecht, The Netherlands; CCF = Sběrka kultur hub katedry botaniky, PřF UK, Praha, ČR; CCM = Česká sbírka mikroorganismů, Masarykova Univerzita, Brno, ČR; CDC = Centers for Disease Control and Prevention, Atlanta, Georgia, USA; CFMR = Center for Forest Mycology Research, Madison, Wisconsin, USA; DSM = Deutsche Sammlung von Mikroorganismen und Zellkulturen, Braunschweig, Germany; FMR = Faculty of Medicine, University Rovira i Virgili, Reus, Spain; IFO = Institute for Fermentation Culture Collection, Osaka, Japan; IHEM = Belgian Coordinated Collections of Microorganisms (BCCM/IHEM), Brussels, Belgium; IMI = Culture Collection of CABI, Egham, UK; NCPF = National Collection of Pathogenic Fungi, Salisbury, UK; NHL = National Institute of Hygienic Sciences, Tokyo, Japan; NRRL = Agricultural Research Service Culture Collection, Peoria, Illinois, USA; UAMH = Centre for Global Microfungal Biodiversity, University of Toronto, Canada; UKNCC = United Kingdom National Culture Collection. Ostatní kódy (07MA15, AK, AN, CLIS, D, DERM, DMF, GE, IDE, KVK, L, ME, MYK, PL, RV, SILKE, SK) jsou unikátními kódy izolátora a označují originální čísla izolátů, pod kterými nejsou izoláty uloženy v žádné veřejné sbírce.

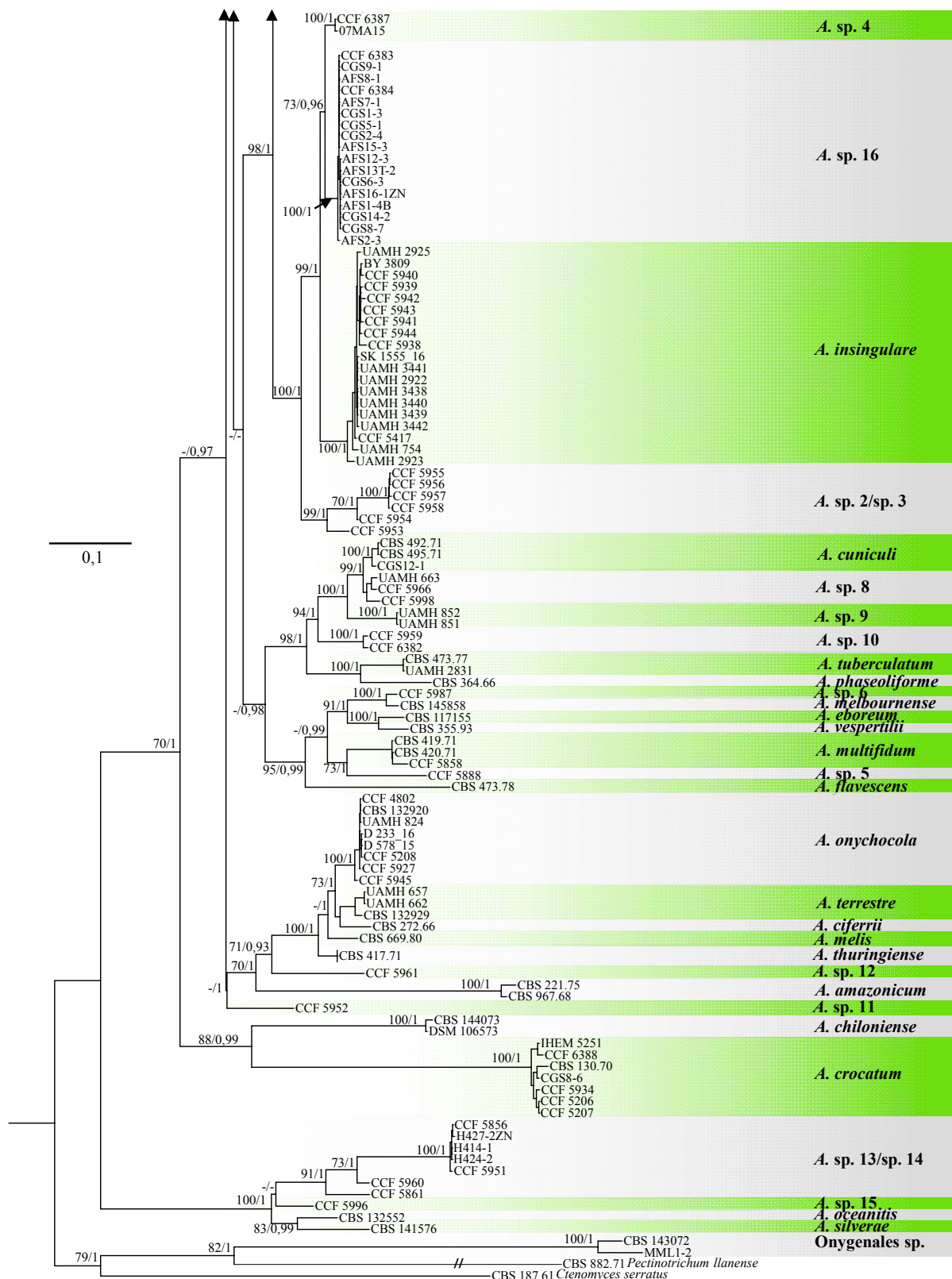
<sup>2</sup> Písmeno T v horním indexu u izolátů značí ex-typový izolát a písmena MT v horním indexu tzv. „mating-type“ izoláty, tedy opačně pohlavně laděné izoláty, které jsou oba obsaženy v holotypu (jejich křížení dalo vzniknout pohlavnímu stadiu, položka byla autorem usušena a uložena do herbáře; pro daný druh tedy existují hned dva kmeny, které se dají označit jako ex-typové).

<sup>3</sup> MAT lokusy označené **tučně** byly zjištěny v této práci, ostatní jsou převzaty z práce Míková (2018). Párovací typy (MT- a MT+) pro *A. amazonicum* uvádějí Moraes et al. (1975), pro *A. cuniculi* a *A. multifidum* Dawson (1963) a pro *A. tuberculatum* Sekhon et al. (1973).

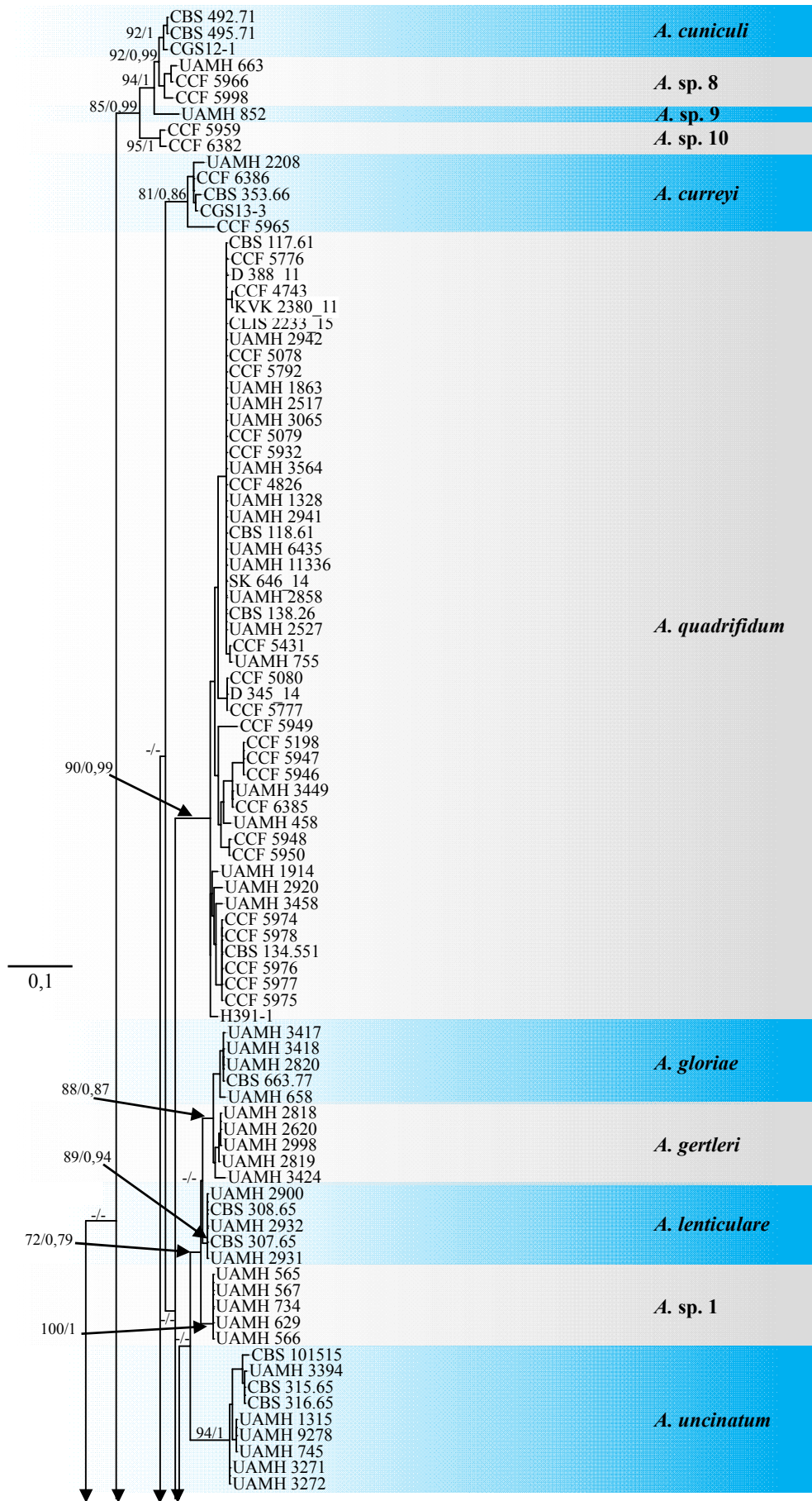
<sup>4</sup> Sekvence uložené v databázi GenBank/ENA/DDBJ jsou označeny příslušným přístupovým číslem; sekvence získané v této práci jsou označeny mřížkou #; sekvence převzaté z práce Míková (2018) jsou označeny křížkem × (sekvence, které se nepodařilo amplifikovat, značí dlouhá pomlčka —).

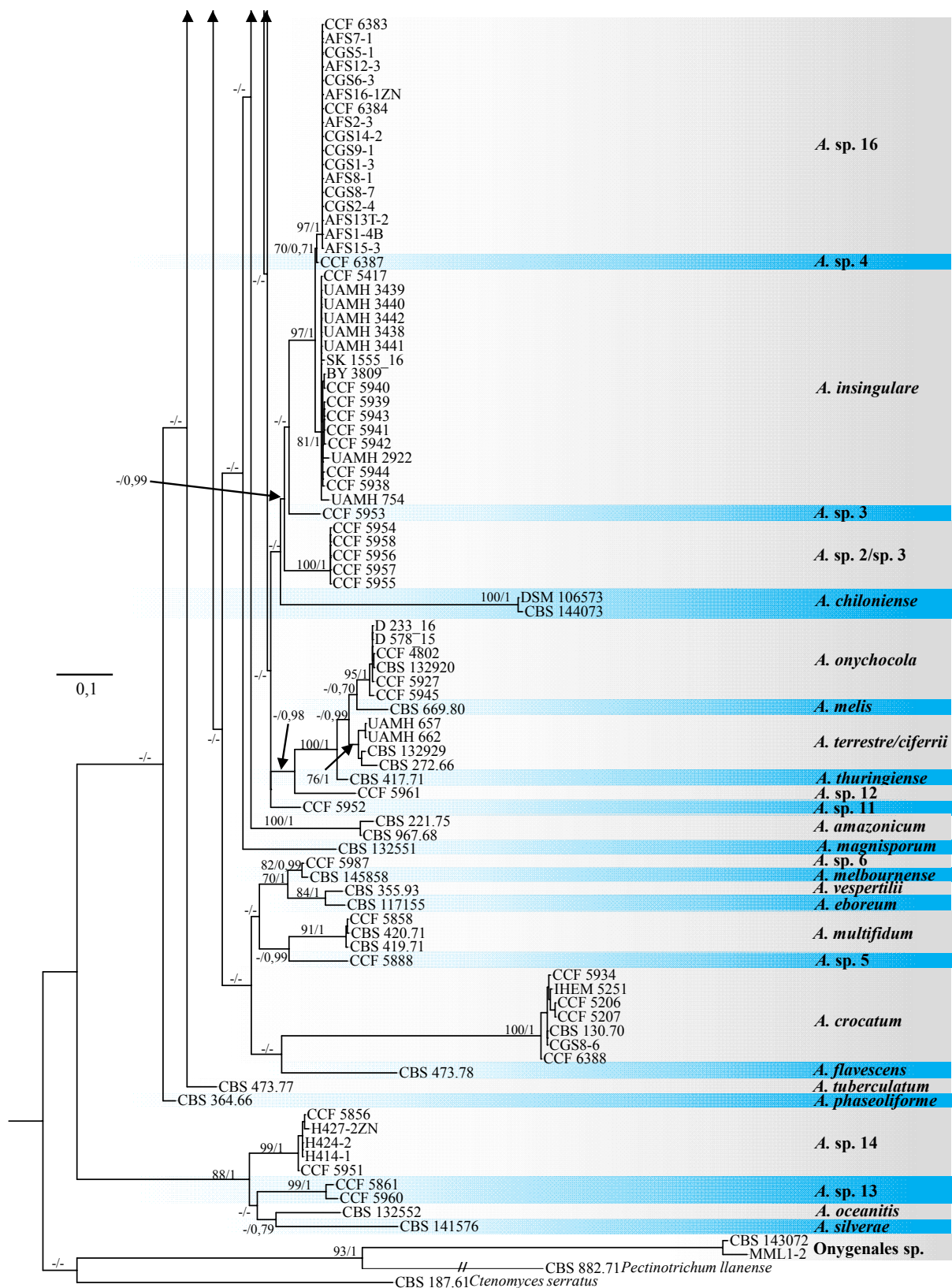
\* Nově navržené jméno podle Hainsworth et al. (2020, v přípravě).



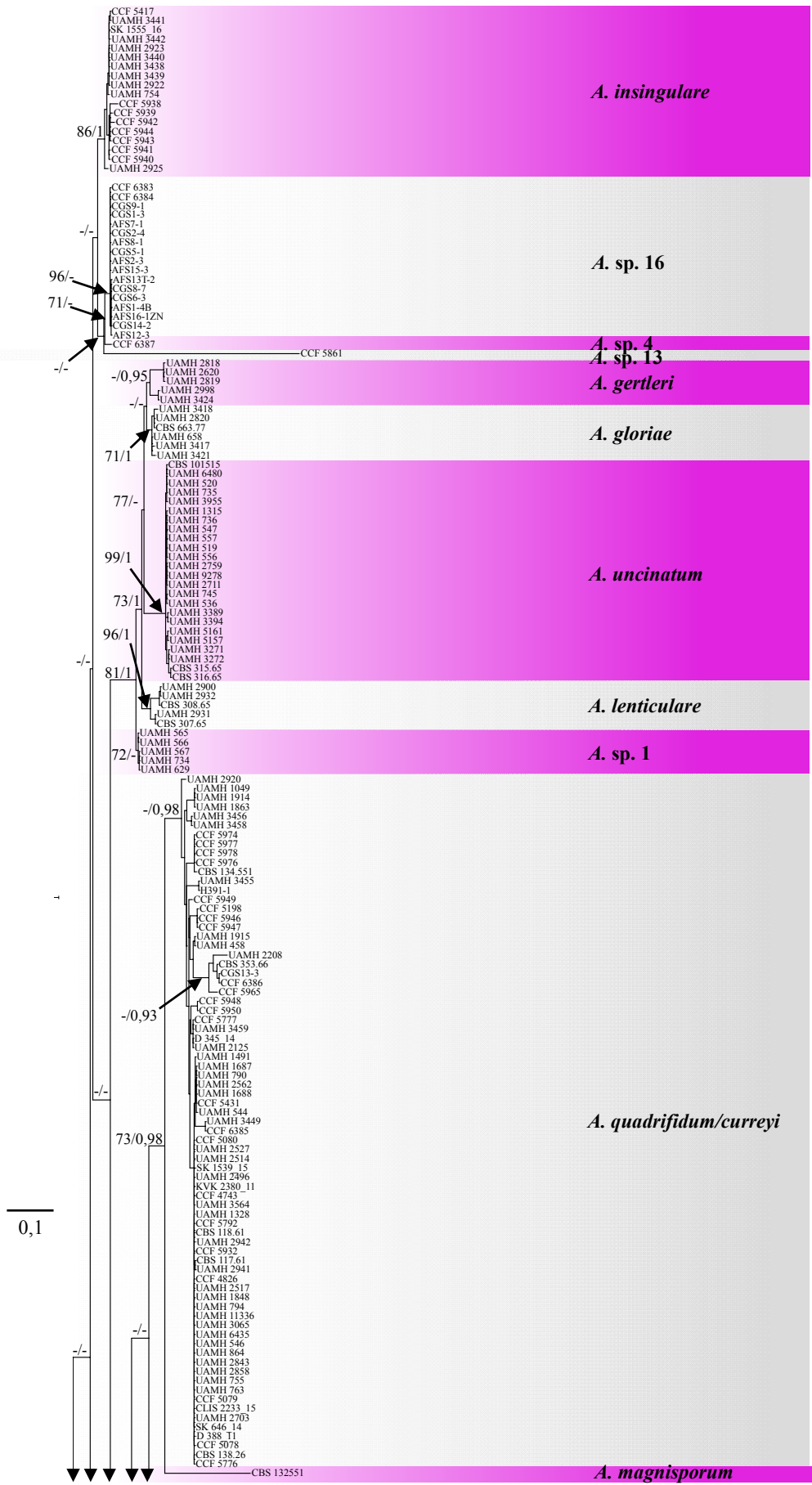


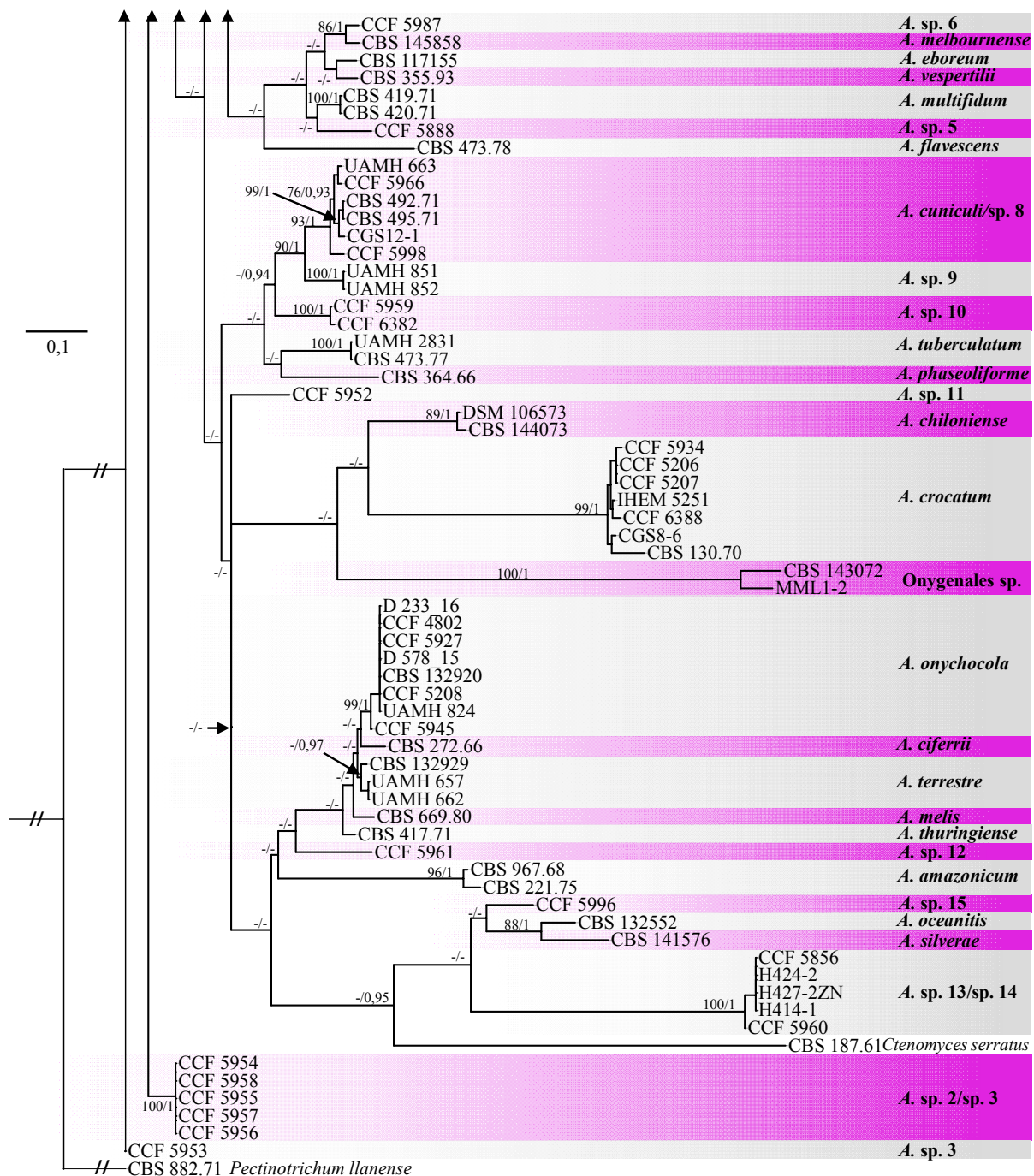
**Obr. P1** Kombinovaný fylogenetický strom rodu *Arthroderma* vytvořený na základě sekvencí *tubb*, *tefla* a ITS metodou Maximum likelihood. Uvedeny jsou bootstrapové podpory větví z ML analýzy >70 % a posteriorní pravděpodobnosti z Bayesovské analýzy >0,90, nižší podpory jsou nahrazeny pomlčkou. Strom je zakotven izoláty *Pectinotrichum llanense*, *Ctenomyces serratus* a *Onygenales* sp. (outgroup). Měřítka odpovídá počtu substitucí na jednu pozici v alignmentu (substitutions per site).



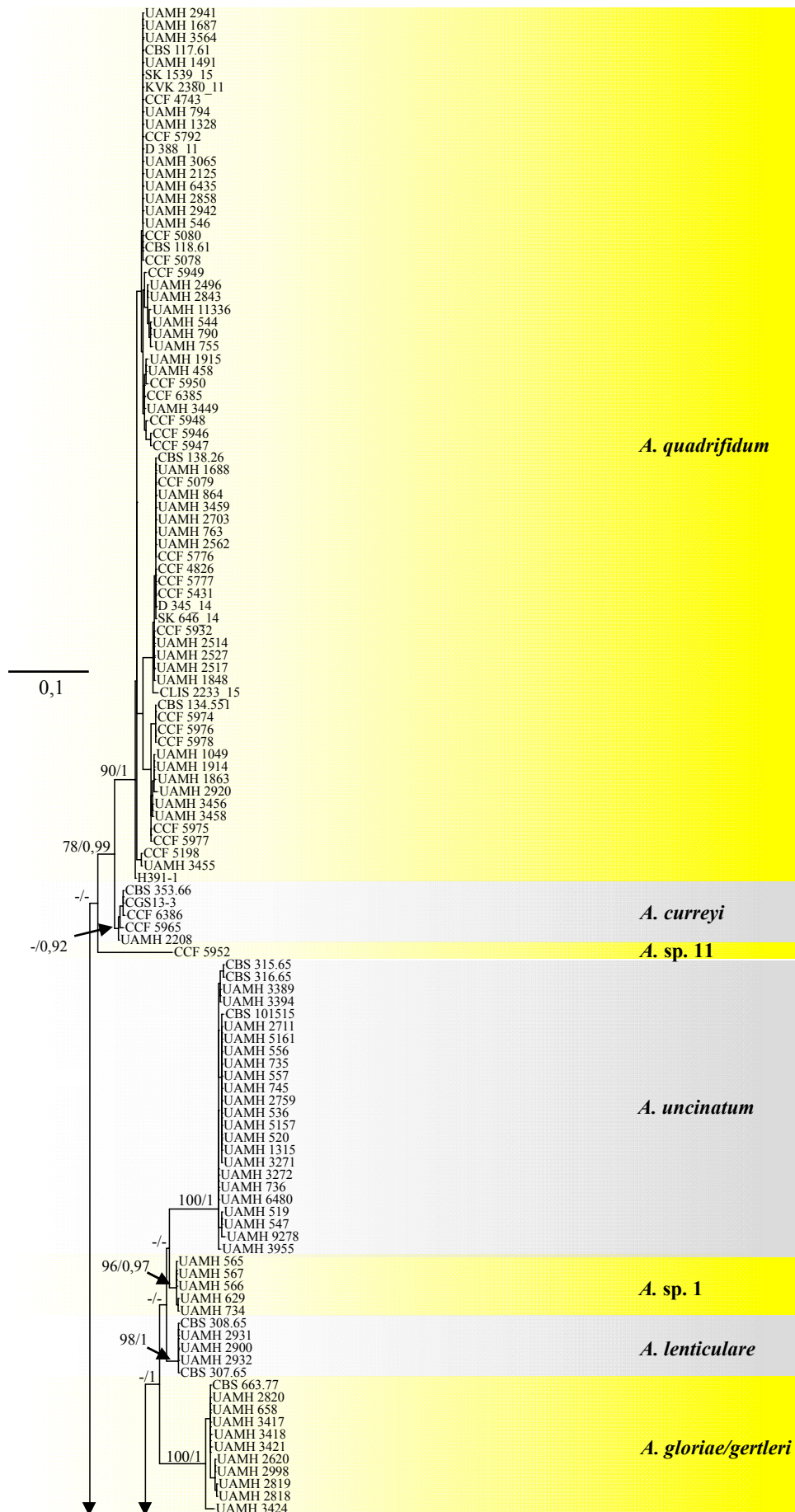


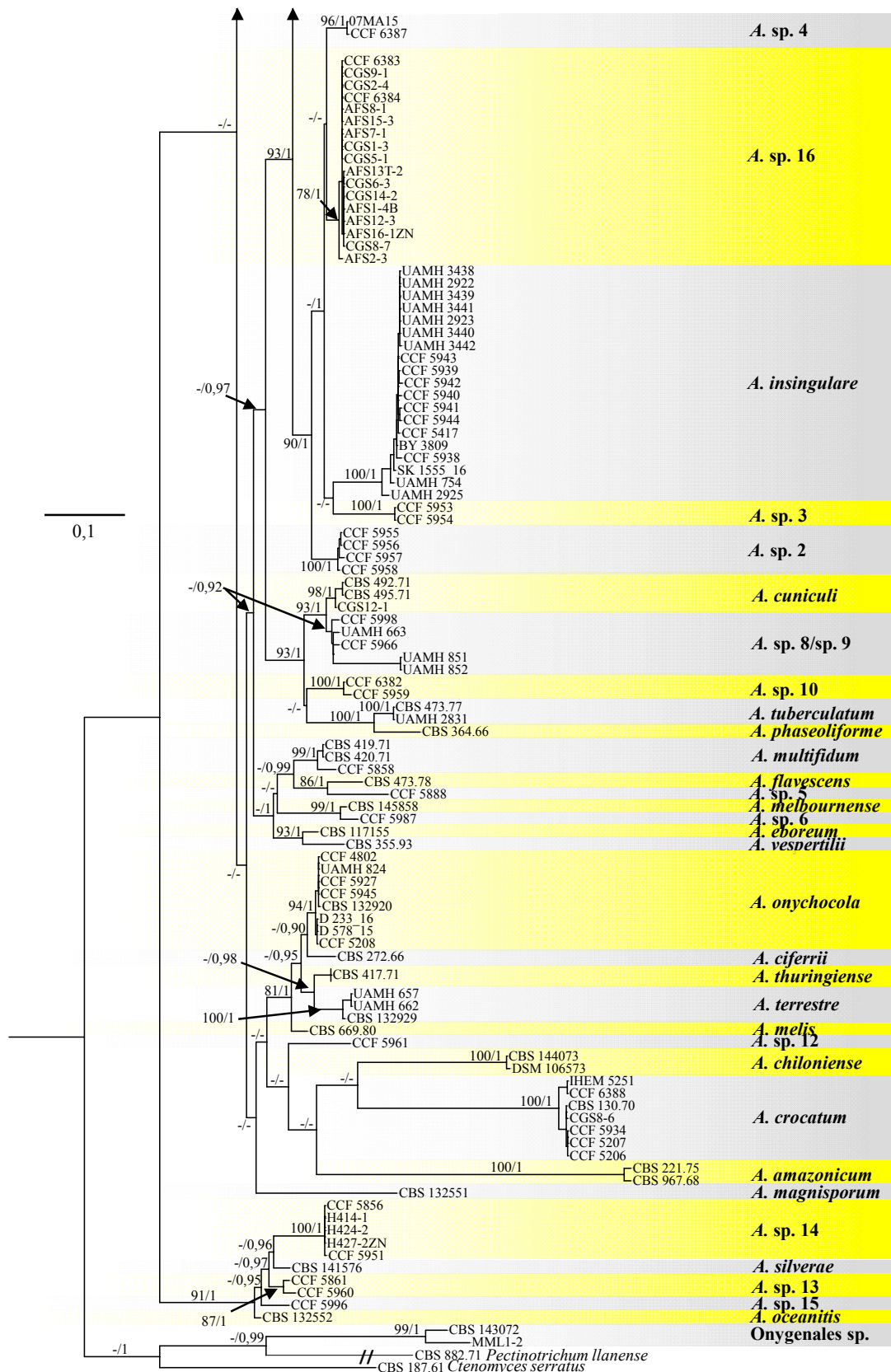
**Obř. P2** Fylogenetický strom rodu *Arthroderma* vytvořený na základě sekvencí *tubb* metodou Maximum likelihood. Uvedeny jsou bootstrapové podpory větvi z ML analýzy >70 % a posteriorní pravděpodobnosti z Bayesovské analýzy >0,90, nižší podpory jsou nahrazeny pomlčkou. Strom je zakořeněn izoláty *Pectinotrichum llanense*, *Ctenomyces serratus* a *Onygenales* sp. (outgroup). Měřitko odpovídá počtu substitucí na jednu pozici v alignmentu (substitutions per site).





**Obr. P3** Fylogenetický strom rodu *Arthroderma* vytvořený na základě sekvencí *tef1a* metodou Maximum likelihood. Uvedeny jsou bootstrapové podpory větví z ML analýzy >70 % a posteriorní pravděpodobnosti z Bayesovské analýzy >0,90, nižší podpory jsou nahrazeny pomlčkou. Strom je zakořeněn izolátem *Pectinotrichum llanense* (outgroup). Měřítko odpovídá počtu substitucí na jednu pozici v alignmentu (substitutions per site).





**Obr. P4** Fylogenetický strom rodu *Arthroderma* vytvořený na základě sekvencí ITS metodou Maximum likelihood. Uvedeny jsou bootstrapové podpory větví z ML analýzy >70 % a posteriorní pravděpodobnosti z Bayesovské analýzy >0,90, nižší podpory jsou nahrazeny pomlčkou. Strom je zakotven izoláty *Pectinotrichum llanense*, *Ctenomyces serratus* a *Onygenales* sp. (outgroup). Měřítka odpovídá počtu substitucí na jednu pozici v alignmentu (substitutions per site).

## 8.4. Morfologická data

Tab. P3 Makromorfologické charakteristiky zkoumaných druhů.

Znak*	<i>A. sp. 16</i> (n = 6)	<i>A. curreyi</i> (n = 3)	<i>A. crocatum</i> (n = 5)	<i>A. quadrifidum</i> (n = 1)	<i>A. sp. 4</i> (n = 1)	<i>A. sp. 10</i> (n = 2) <sup>1</sup>	<i>A. cuniculi</i> (n = 2)	<i>A. tuberculatum</i> (n = 1)	<i>A. phaseoliforme</i> (n = 1)
<b>Průměr [mm]</b>	<b>MEA 30 °C</b> 14–24	–	–	–	neroste	35–38	20–30	40–42	51–52
	<b>MEA</b> 36–47	33–40	25–41	27–31	25–26	41–46	33–46	41–44	63–66
	<b>SGA</b> 30–47	40–43	18–48	31–36	28–30	55–61	58–61	52–54	68
	<b>OA</b> 28–43	23–36	20–39	20–24	24,5–25	43–48	50–61	44–45	60–61
	<b>PDA</b> 25–41	30–35	25,5–49	26–27,5	21,5–23,5	44–51	29–51	40–41	60–62
<b>Textura, tvar</b>	<b>MEA 30 °C</b> střed sametový, vyvýšený, okolo jemné mycelium, koncentrické uspořádání	–	–	–	neroste	vločkovitá, umbonátní, okraj zanořený	sametová až vatovitá	vločkovitá, umbonátní, okraj zanořený	vločkovitá, střed nepravidelně rýhovaný
	<b>MEA</b> sametová až granulární, umbonátní, okraj vzdušné mycelium	střed vatovitý umbonátní, okolo granulární, neprav. koncentrické uspořádání	sametová až vatovitá, vyvýšená středová část	granulární, okraj zanořený	vločkovitá, okraj zanořený	vločkovitá až granulární	vatovitá, nadýchaná	vločkovitá až sametová	vločkovitá, vatovité úseky, střed nepravidelně vyvýšený
	<b>SGA</b> sametová až granulární, umbonátní, koncentrické uspořádání	sametová, umbonátní, nepravidelné koncentrické uspořádání, nepravidelný okraj	vatovitá, umbonátní, okraj vzdušné mycelium	vločkovitá, střed nepravidelně zprohýbaný	střed sametový až granulární, okolo jemné vatovité mycelium, nepravidelný okraj	vločkovitá až granulární, umbonátní	vatovitá, nadýchaná	sametová, středový kráter	sametová až vatovitá, okraj vločkovitý, střed nepravidelně zprohýbaný

<b>Znak*</b>	<b><i>A. sp. 16</i></b> <b>(n = 6)</b>	<b><i>A. curreyi</i></b> <b>(n = 3)</b>	<b><i>A. crocatum</i></b> <b>(n = 5)</b>	<b><i>A. quadrifidum</i></b> <b>(n = 1)</b>	<b><i>A. sp. 4</i></b> <b>(n = 1)</b>	<b><i>A. sp. 10</i></b> <b>(n = 2)<sup>1</sup></b>	<b><i>A. cuniculi</i></b> <b>(n = 2)</b>	<b><i>A. tuberculatum</i></b> <b>(n = 1)</b>	<b><i>A. phaseoliforme</i></b> <b>(n = 1)</b>
<b>OA</b>	vločkovitá až sametová, umbonátní, okraj vzdušné mycelium	sametová až granulární, nepravidelně vyvýšená	vatovitá až hrubě granulární	granulární, nepravidelný okraj	střed granulární, okolo vatovité vzdušné mycelium	vločkovitá až granulární	sametová až nadýchaná	střed vatovitý, okolo granulární, okraj vzdušné mycelium	sametová až granulární, vatovité úseky, okraj zanořený
<b>PDA</b>	sametová až vatovitá, umbonátní, koncentrické uspořádání	sametová až granulární, ve středu neprav. vyvýšená, náznaky koncentrického uspořádání	vatovitá až granulární	granulární, radiální rýhování, koncentrické uspořádání, neprav. okraj	střed granulární, okolo vatovité mycelium, neprav. okraj	hrubě granulární, umbonátní	sametová až vatovitá	střed vatovitý, okraj vločkovitý	vatovitá až vločkovitá, střed neprav. vyvýšený s radiálním rýhováním, okraj zanořený
<b>Barva averz</b>	<b>MEA</b> bílý až sivožlutý (1A5, 2A4)	–	–	–	neroste	bílý až smetanový	bílý až sivě žlutý (2A3)	bílý až žlutobílý (2A2)	bílý až sivě žlutý (4A3)
	<b>MEA</b> bílý až žlutobílý (3A2)	bílý až žlutobílý (3A2)	bílý až žlutobílý (2A2)	bílý	bílý až žlutobílý (2A2)	bílý až žlutobílý (2A2)	bílý až žlutobílý (1A2)	bílý až žlutobílý (3A2)	bílý až žlutobílý (4A2)
	<b>SGA</b> bílý až světle žlutý (1A6, 2A5)	bílý až žlutobílý (2A6, 3A2)	bílý	bílý	bílý až žlutobílý (1A2)	bílý až žlutobílý (3A2)	bílý	bílý až žlutobílý (1A2)	bílý až žlutobílý (4A2)
	<b>OA</b> bílý až žlutobílý (3A2)	bílý až žlutobílý (1A4)	bílý až žlutobílý (4A2)	bílý	bílý až žlutobílý (2A2), ve středu jantarově žlutý (4B6) exudát	bílý až žlutobílý (4A2)	bílý až žlutobílý (4A2)	bílý až žlutobílý (3A2)	oranžovobílý (5A2) s bílými úseky
	<b>PDA</b> bílý až pastelově žlutý (1A8, 2A4)	bílý až žlutobílý (1A6, 2A3)	bílý až žlutobílý (3A2)	žlutobílý (1A2)	bílý až žlutobílý (2A2)	bílý až sivě žlutý (3A3)	bílý až žlutobílý (3A2)	bílý až sivě žlutý (3A3)	bílý až oranžovobílý (5A2)

<b>Znak*</b>	<b><i>A. sp. 16</i></b> <b>(n = 6)</b>	<b><i>A. curreyi</i></b> <b>(n = 3)</b>	<b><i>A. crocatum</i></b> <b>(n = 5)</b>	<b><i>A. quadrifidum</i></b> <b>(n = 1)</b>	<b><i>A. sp. 4</i></b> <b>(n = 1)</b>	<b><i>A. sp. 10</i></b> <b>(n = 2)<sup>1</sup></b>	<b><i>A. cuniculi</i></b> <b>(n = 2)</b>	<b><i>A. tuberculatum</i></b> <b>(n = 1)</b>	<b><i>A. phaseoliforme</i></b> <b>(n = 1)</b>
<b>Barva</b>	MEA žlutobílý, střed	–	–	–	neroste	krémový	světle žlutý	žlutobílý (4A2),	sivě žlutý (3A3),
<b>reverz</b>	30 °C žlutý až hnědý (3A5, 5E7)					(4A3), střed meruňkově žlutý (5B6)	(2A5), střed oranžový (6B8)	střed šedožlutý (4B6)	střed šedožlutý (4B5)
	MEA žlutobílý (3A2), střed žlutooranžový (4B8)	žlutobílý (4A2), střed hnědooranžový (5C6)	žlutobílý (4A2), střed oranžový (5B8)	sivě žlutý (4A3), střed žlutooranžový (4A6)	žlutobílý (4A2), střed hnědooranžový (5C5)	žlutobílý až žlutooranžový (4A2, 4A6)	světle žlutý (3A5), střed oranžový (5A7)	sivě žlutý (3A3)	žlutobílý (4A2)
	SGA žlutý (2A7), střed žlutohnědý (6D7)	pastelově žlutý (3A4, 5A5)	žlutý až temně oranžový (3A6, 6A8)	sivě žlutý (3A3), střed žlutooranžový (4A6)	žlutobílý (4A2), střed žlutooranžový (4A6)	světle žlutý až červeno- oranžový (4A4, 6C7)	sivě až jantarově žlutý (2A3, 4B6)	žlutobílý až světle žlutý (3A2, 3A5)	světle žlutý (3A5)
	OA žlutý (3A6), střed hnědý (5E6)	sivě žlutý (4A3, 6A3)	sivě žlutý (4A3), střed šedooranžový (6B6)	žlutobílý (4A2), střed hnědooranžový (5C5)	žlutobílý (4A2), střed hnědooranžový (6C4)	sivě žlutý (4A3), střed světle hnědý (6D7)	pastelově až okrově žlutý (3A4, 5C7)	sivě žlutý (3A3), střed hnědooranžový (5C5)	sivě žlutý až šedooranžový (4A3, 5B4)
	PDA žlutý (2A6), střed hnědý (6E5)	žlutobílý (4A2), střed žlutooran- žový (4A7)	pastelově žlutý (3A4), střed hnědý (6D6)	žlutooranžový (4A6)	šedožlutý (4B4), střed světle hnědý (5D5)	žlutobílý až žlutooranžový (3A2, 4A6)	sivě až okrově žlutý (1A3, 5C8)	sivě žlutý (3A3), střed zlatohnědý (5D7)	sivě žlutý až žlutooranžový (3A3, 4A7)

\* Pokud není uvedeno jinak, kolonie byly pozorovány po 14 dnech při 25 °C. Pomlčka – značí nezjišťovaný údaj. Textura a tvar kolonií byly charakterizovány podle Otčenáška a Dvořáka (1973), kódy v závorkách u barev kolonií odpovídají barvám podle Kornerup & Wanscher (1978).

<sup>1</sup> Údaje při 30 °C zjišťovány pouze u izolátu CCF 6382.

**Tab. P4** Mikromorfologické charakteristiky nepohlavního stadia. Hodnoty jsou uvedeny v  $\mu\text{m}$ .

Znak*	<i>A. sp. 16</i> (n = 6)	<i>A. curreyi</i> (n = 3)	<i>A. crocatum</i> (n = 5) <sup>1</sup>	<i>A. quadrifidum</i> (n = 1)	<i>A. sp. 4</i> (n = 1)	<i>A. sp. 10</i> (n = 2)	<i>A. cuniculi</i> (n = 2)	<i>A. tuberculatum</i> (n = 1)	<i>A. phaseoliforme</i> (n = 1)
<b>Mikrokonidie</b>	klavátní, hladké	klavátní,	klavátní,	klavátní, hladké	válcovité až	klavátní,	klavátní,	kulovité, vejčité až	klavátní až
<b>(tvar,</b>	2,2–11,7 (4,8 ±	hladké	hladké	2,9–7,3 (4,3 ±	klavátní,	hladké	hladké	klavátní, ostnité	rohličkovité, hladké
<b>ornamentika,</b>	1,3) × 1,3–4	2,3–12,8 (4,6 ±	2,4–11 (4,5 ±	0,9) × 1,5–3	hladké	2,8–6 (4,1 ±	2,8–9 (4,4 ±	5,3–21,7 (10,8 ±	3,3–6,7 (4,7 ± 0,9) ×
<b>délka × šířka)</b>	(2,3 ± 0,4)	1,5) × 1,4–3,7	3,1) × 1,2–2,7	(2,2 ± 0,4)	3,7–17,4 (5,8 ±	0,6) × 1,5–2,7	1,1) × 1,3–2,7	2,9) × 4,2–12	1,6–2,4 (1,9 ± 0,2)
		(2,1 ± 0,4)	(2 ± 0,3)		2,4) × 1,5–2,5	(2 ± 0,2)	(1,9 ± 0,3)	(7,4 ± 1,6)	
				(2 ± 0,2)					
<b>Makrokonidie</b>	2–4buněčné,	2–4buněčné,	nepozorovány	2–4buněčné,	2–4buněčné,	nepozorovány	2buněčné,	nepozorovány	2buněčné, válcovité
<b>(počet buněk,</b>	doutníkovité až	válcovité,		doutníkovité až	válcovité,		klavátní,		až rohličkovité,
<b>tvar,</b>	válcovité,	hladké <sup>3</sup>		válcovité, hladké	hladké		hladké <sup>4</sup>		hladké <sup>5</sup>
<b>ornamentika,</b>	hladké <sup>2</sup>	6,6–19,7 (11,1		6,9–23,2 (11,4 ±	8,7–22,2 (14,5		7,1–12,2 (9,1 ±		5,7–11,7 (8,2 ± 1,2)
<b>délka × šířka)</b>	6,3–29,5 (11,3 ±	± 3,1) × 2–4,2		4,2) × 1,9–3,5	± 3,5) ×		1,9) × 1,8–2,7		× 1,7–2,6 (2,1 ± 0,2)
	3,4) × 1,9–4,6	(3 ± 0,4)		(2,6 ± 0,3)	1,9–3,2		(2,2 ± 0,3)		
	(3,1 ± 0,4)			(2,4 ± 0,3)					
<b>Větvení</b>	jednoduchý, 1. a	jednoduchý,	jednoduchý,	jednoduchý,	jednoduchý,	jednoduchý,	jednoduchý,	jednoduchý,	jednoduchý,
<b>konidioforu</b>	2. stupeň	1. a 2. stupeň	1. a 2. stupeň	1. stupeň	1. a 2. stupeň	1. a 2. stupeň	1. a 2. stupeň	1. stupeň	1. stupeň
<b>Pohlavní systém</b>	heterothalický <sup>6</sup>	homothalický	homothalický	heterothalický	heterothalický <sup>6</sup>	heterothalický <sup>6</sup>	heterothalický	heterothalický	heterothalický

\* Pokud není uvedeno jinak, znaky byly pozorovány na MEA po 14 dnech při 25 °C.

<sup>1</sup> Izoláty CCF 5934 a CCF 5206 byly sterilní, u izolátu CCF 6388 mikrokonidie pozorovány až po 21 dnech.

<sup>2</sup> Nepozorovány u izolátu AFS16-1ZN, u izolátu CGS6-3 vzácné (2 měření).

<sup>3</sup> Nepozorovány u izolátu CBS 353.66, u izolátu CGS13-3 vzácné (7 měření).

<sup>4</sup> Makrokonidie minimálně, pozorovány pouze u izolátu CBS 495.71 (4 měření).

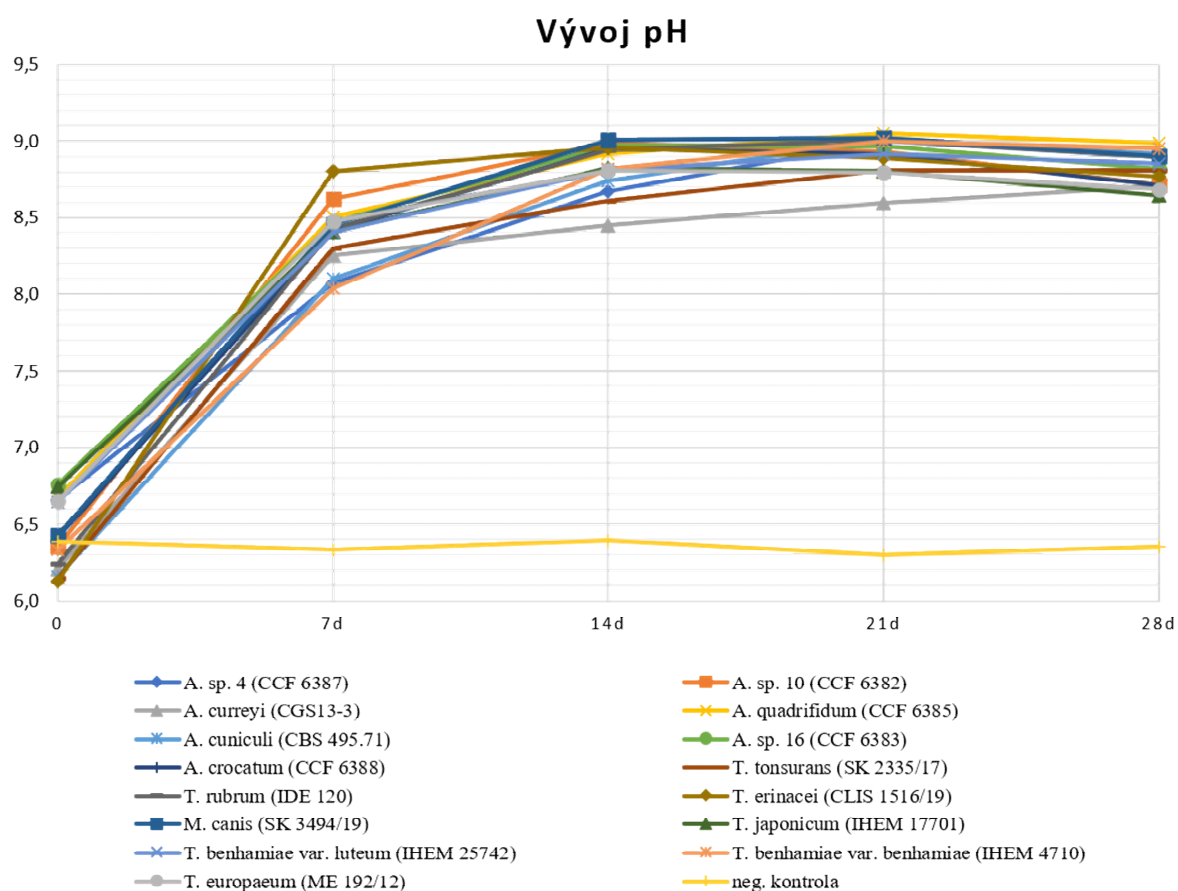
<sup>5</sup> Makrokonidie vzácné (23 měření).

<sup>6</sup> Zjištěno v této práci.

**Tab. P5** Mikromorfologické charakteristiky pohlavního stadia pozorované na GAA po 6 týdnech při 17 °C. Hodnoty jsou uvedeny v  $\mu\text{m}$ .

Znak	<i>Arthroderma</i> sp. 16 (n = 4)	<i>Arthroderma crocatum</i> (n = 2)
Plodnice (průměr)	300–600	300–500
Peridiální buňky (délka, široké místo, úzké místo)	6,7–13,2 ( $9,1 \pm 1,3$ ) 3,1–7 ( $5 \pm 0,8$ ) 2–5,4 ( $3,2 \pm 0,5$ )	nezměřeno
Vřecka (délka $\times$ šířka)	4,3–6,6 ( $5,3 \pm 0,4$ ) $\times$ 3,2–5,4 ( $4,3 \pm 0,4$ )	3,7–6,3 ( $5 \pm 0,5$ ) $\times$ 3,1–5,2 ( $4,2 \pm 0,4$ )
Askospory (délka $\times$ šířka)	1,8–3 ( $2,3 \pm 0,2$ ) $\times$ 1–2,5 ( $1,7 \pm 0,2$ )	1,7–2,7 ( $2,1 \pm 0,2$ ) $\times$ 1,1–2 ( $1,5 \pm 0,2$ )

## 8.5. Změny pH při inkubaci se zdrojem keratinu



**Obr. P5** Graf vývoje pH v průběhu 4 týdnů kultivace 15 různých kmenů v tekutém mediu s ovčí vlnou jako zdrojem keratinu. pH bylo měřeno po týdnu a v grafu jsou zaneseny průměrné hodnoty z měření triplikátů (po odstranění opakování s kontaminací či výrazně odlišným pH).