

Univerzita Karlova
Přírodovědecká fakulta

Studijní program: Biologie

Studijní obor: Botanika



Bc. Kateřina Glässnerová

Vymezení druhových hranic v sekci *Candidi* rodu *Aspergillus*

*Species delimitation in *Aspergillus* section *Candidi**

Diplomová práce

Vedoucí závěrečné práce: MUDr. Mgr. Vít Hubka, Ph.D.

Praha 2022

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, 26. 4. 2022

.....

Kateřina Glässnerová

Poděkování

V první řadě bych ráda poděkovala mému školiteli MUDr. Mgr. Vítu Hubkovi, Ph.D. za pečlivé vedení mé práce, za jeho pomoc, čas, trpělivost, cenné rady a připomínky. Děkuji za možnost podílet se na více projektech pod jeho vedením a také za to, že i po dobu jeho pobytu v Japonsku jsem se na něho mohla se samozřejmostí kdykoliv a s čímkoliv obrátit.

Mnohokrát děkuji také Mgr. Františku Sklenářovi za možnost konzultací a nemalou pomoc zejména s moderními metodami nalezení druhových hranic, které tvoří podstatnou část této práce.

Děkuji všem kolegům a pedagogům kryptogamologického oddělení katedry botaniky PřF UK za přátelskou atmosféru, konzultování výsledků a za mnoho cenných znalostí předaných při odborných přednáškách během studia.

Doc. Mgr. Ondřeji Koukolovi, Ph.D. děkuji za všeobecnou pomoc se studijními záležitostmi a za poutavý výklad při přednášce základní mykologie, díky kterému jsem se o tento obor začala zajímat.

Grantové agentuře Univerzity Karlovy děkuji za poskytnutí finanční podpory pro mou diplomovou práci (projekt GAUK 140520).

V neposlední řadě bych ráda poděkovala mé rodině a příteli za trpělivost a podporu nejen při psaní této práce, ale i během celého studia.

Abstrakt

Aspergillus sekce *Candidi* zahrnuje bílé nebo žlutě sporulující druhy izolované většinou z vnitřního prostředí budov, jeskynního prostředí, půdy, potravin, krmiv, klinického materiálu a trusu. Identifikace zástupců této sekce není jednoduchá, protože jsou si morfologicky velmi podobní. Tato práce si klade za cíl provést revizi druhových hranic v sekci *Candidi* a předložit přehled všech akceptovaných druhů společně s informacemi o jejich ekologii. Do práce bylo zahrnuto celkem 113 kmenů izolovaných na různých kontinentech a z různých substrátů. Základem pro molekulární analýzy byly DNA sekvence genu pro β -tubulin (*benA*), kalmodulin (*CaM*) a velkou podjednotku RNA polymerázy II (*RPB2*). Pro fylogenetické vymezení druhů byly použity metody založené na modelu mnohadruhov $\acute{y}$ koalescence, jejichž výsledky byly porovnány s klasickými fylogenetickými metodami a přístupem GCPSR (genealogical concordance phylogenetic species recognition) a také s fenotypovými znaky. Analýza fenotypu zahrnovala porovnání makromorfologie na čtyřech kultivačních médiích, růstových parametrů při teplotách od 10 do 45 °C a sedmi mikromorfologických znaků. Pro výsledné rozhodnutí o druhových hranicích byl definován integrativní přístup sestávající ze čtyř kritérií, na jehož základě bylo podpořeno sedm stávajících a dva dosud nepopsané druhy. Revidovaná sekce *Candidi* tedy zahrnuje devět druhů, z nichž u některých byla pozorována značná genetická a fenotypová vnitrodruhov $\acute{y}$ variabilita (např. *A. subalbidus* a *A. campestris*), zatímco jiné druhy byly vysoce uniformní (např. *A. candidus* a *A. pragensis*). Mezi taxonomicky informativní znaky patřily růstové parametry při různých teplotách a na různých médiích, barva kolonií, produkce pigmentů a také rozměry stopky či měchýřku.

Klíčová slova: *Aspergillus candidus*, druhová delimitace, mnohogenová fylogeneze, morfologie, fyziologie, vnitrodruhov $\acute{y}$ variabilita

Abstract

Aspergillus section *Candidi* encompasses white- or yellow-sporulating species mostly isolated from indoor and cave environments, soil, food, feed, clinical material and dung. Their identification is non-trivial due to largely uniform morphology. This work aims to re-evaluate the species boundaries in the section *Candidi* and present an overview of all existing species along with information on their ecology. For this work, a set of 113 strains of different origins was gathered. DNA sequences of the genes for β -tubulin (*benA*), calmodulin (*CaM*), and the second largest subunit of RNA polymerase (*RPB2*) were used for molecular analyses, and species delimitation methods based on a multispecies coalescent model were applied. Classical phylogenetic methods and the genealogical concordance species recognition approach were used for comparison. Phenotypic studies involved comparisons of macromorphology on four cultivation media, seven micromorphological characters and growth in temperatures ranging from 10 to 45 °C. For the final decision about species boundaries, an integrative approach consisting of four criteria was defined, based on which seven existing and two undescribed species were supported. The revised section *Candidi* comprises nine species, some of which manifest a high level of intraspecific genetic and/or phenotypic variability (e.g. *A. subalbidus* and *A. campestris*) while other are very uniform (e.g. *A. candidus* or *A. pragensis*). The growth rates on different media and at different temperatures, colony colours, production of soluble pigments, stipe dimensions and vesicle diameters contributed to the species differentiation.

Key words: *Aspergillus candidus*, species delimitation, multigene phylogeny, morphology, physiology, intraspecific variability

Obsah

1. Úvod.....	1
1.1 Rod <i>Aspergillus</i>	1
1.2 Taxonomie rodu <i>Aspergillus</i>	1
1.2.1 Fylogenetický druhový koncept.....	1
1.2.2 Metody delimitace druhů založené na MSC modelu.....	2
1.3 <i>Aspergillus</i> Sekce <i>Candidi</i>	2
1.3.1 Biotechnologický význam	3
1.3.2 Lékařský význam.....	3
2. Metodika	5
2.1 Použité kmeny.....	5
2.2 Analýza fenotypu.....	5
2.2.1 Makromorfologie	5
2.2.2 Mikromorfologie.....	5
2.2.3 Fyziologie	6
2.3 Molekulární analýza	6
2.3.1 Izolace DNA	6
2.3.2 PCR amplifikace	6
2.3.3 Purifikace DNA	7
2.3.4 Sekvenace DNA.....	7
2.4. Fylogenetická analýza.....	8
2.5 Delimitace druhových hranic	8
2.5.1 Jednogenové MSC delimitační metody	9
2.5.2 Mnohogenová MSC metoda STACEY.....	9
2.6 Validace druhových hranic	9
3. Výsledky	11
3.1 Integrativní přístup vymezení druhových hranic	11
3.2 Fylogenetická analýza a přístup GCPSR.....	11
3.3 Vymezení druhů pomocí metody STACEY	18
3.4 Vymezení druhů s použitím jednogenových MSC metod.....	20
3.5 Analýza fenotypu.....	23
3.5.1 Makromorfologie	23
3.5.2 Mikromorfologie.....	24

3.5.3	Fyziologie.....	25
3.6	Validace druhů s použitím softwaru DELINEATE	36
3.7	Ekologie	38
4.	Popisy druhů sekce <i>Candidi</i>	41
5.	Diskuze.....	68
5.1	Vymezení druhových hranic	68
5.2.	Vnitrodruhová variabilita	70
5.3.	Sekundární metabolity a jejich význam v taxonomii	71
6.	Závěr.....	73
7.	Seznam použité literatury	74
8.	Přílohy	81

1. Úvod

1.1 Rod *Aspergillus*

Aspergillus je početný rod vřeckovýtrusých vláknitých hub z řádu *Eurotiales*, který je momentálně rozdělen do šesti podrodů a dvaceti sedmi sekcí (Houbraken *et al.* 2020). Jedná se o jeden z nejstudovanějších druhů hub, jehož zástupci se vyskytují kosmopolitně, obývají nejrozličnější substráty a najdeme u nich velmi pestrou škálu životních strategií. Zástupci tohoto rodu mají velký význam jak pro fungování ekosystému, tak pro člověka (Bennett 2007, De Hoog *et al.* 2009).

1.2 Taxonomie rodu *Aspergillus*

V taxonomických pracích zabývajících se druhovými hranicemi rodu *Aspergillus* se dnes standardně využívá takzvaný polyfázický přístup, který spočívá v konsenzuálním posouzení výsledků z několika typů nezávislých analýz, mezi nimiž vždy bývá zastoupena analýza fenotypu (morfologie, fyziologie, sekundární metabolity a další) a fylogenetická analýza (Taylor *et al.* 2000, Samson *et al.* 2012, Samson *et al.* 2014), které mohou být doplněny ekologickými a jinými daty. Na základě získaných dat je vyslovena hypotéza o druhových hranicích, která je nicméně málokdy podpořena všemi jednotlivými kritérii, a tak zůstává definitivní rozhodnutí o druhových hranicích na autorovi studie.

1.2.1 Fylogenetický druhový koncept

Kvůli značné podobnosti jednotlivých druhů rodu *Aspergillus* je kladen čím dál větší důraz na využití fylogenetického druhového konceptu, u kterého je nejběžněji používaným přístupem tzv. GCPSR (genealogical concordance phylogenetic species recognition), tedy delimitace druhů na základě genealogické konkordance (Dettman *et al.* 2003). Tento přístup spočívá ve vybrání několika nezávislých úseků DNA, pro něž jsou metodou maximální pravděpodobnosti (ML, maximum likelihood) nebo bayesovské inference (BI) vytvořeny jednogenové stromy, jejichž topologie je porovnávána. Klad, který je ve většině jednogenových stromů statisticky signifikantně podpořen, může být prohlášen jako fylogenetický druh, ale jen za předpokladu, že není v rozporu (co do zahrnutých izolátů) s jinými silně statisticky podpořenými klady v ostatních jednogenových fylogenezích (Dettman *et al.* 2003, Dettman *et al.* 2006).

1.2.2 Metody delimitace druhů založené na MSC modelu

V posledních letech bývají pro určení druhových hranic stále více využívány metody založené na modelu mnohodruhové koalescence (dále používáno jako „MSC metody“, z anglického „multispecies coalescent model-based methods“) (Kingman 1982). Mezi tyto metody patří například GMYC (General Mixed Yule-Coalescent approach) (Fujisawa & Barraclough 2013), bGMYC (bayesian General Mixed Yule-Coalescent approach) (Reid & Carstens 2012), PTP (Poisson Tree Processes model) a bPTP (bayesian Poisson Tree Processes model) (Zhang *et al.* 2013), které využívají jako vstupní data sekvenci jednoho genu, nebo mnohogenová metoda STACEY (Jones 2017). První studie, ve které byly použity tyto metody k určení druhových hranic u rodu *Aspergillus*, byla práce od Sklenáře *et al.* (2017), která se zabývala sekci *Restricti*. Použití těchto metod má oproti fylogenezi založené na konkatenovaném datasetu z více genů výhodu v tom, že se narozdíl od ní tyto metody dokáží vypořádat s jevy jako např. nekompletní třídění linií (incomplete lineage sorting), který nejčastěji způsobuje nesoulady v topologiích jednogenovými stromů, které byly konstruovány na základě různých genů (Kubatko & Degnan 2007, Edwards 2009, Rosenberg 2013).

1.3 *Aspergillus* Sekce *Candidi*

Sekce *Candidi* (podrodu *Circumdati*, rodu *Aspergillus*) momentálně zahrnuje sedm uznávaných druhů (Houbraken *et al.* 2020). Zástupci této sekce jsou si morfologicky velmi podobní a jsou charakterističtí tím, že bíle nebo žlutě sporulují. Nejznámějším a původně jediným členem sekce, podle kterého byla pojmenována, je *Aspergillus candidus* (Thom & Raper 1945, Raper & Fennell 1965, Gams *et al.* 1986). Jedná se o xerofilní druh, který je schopen růst na substrátech s nízkou vodní aktivitou. Typicky se vyskytuje například na skladovaných obilninách a semenech, u kterých může snižovat klíčivost, což může mít negativní hospodářský dopad (Papavizas & Christensen 1960, Visagie *et al.* 2017). Lze jej běžně nalézt také ve vnitřním prostředí budov, na potravinách v domácnostech (např. cereálie, mouka, ořechy, koření apod.) (Weidenbörner & Kunz 1994, Pitt & Hocking 1997), v půdě nebo v mořském prostředí (Klich 2002, Wei *et al.* 2007). Oproti většině jiných zástupců rodu *Aspergillus* je také schopen růst při nízkých hladinách kyslíku (Pitt & Hocking 1997).

První moderní revizi této sekce publikoval Varga *et al.* (2007). V této studii byly na základě polyfázického přístupu rozlišeny čtyři druhy - *A. candidus*, *A. tritici*, *A.*

campestris a *A. taichungensis*. Dalšími později popsanými druhy v sekci *Candidi* jsou *A. pragensis* (Hubka *et al.* 2014), *A. subalbidus* (Visagie *et al.* 2014) a *A. dobrogensis* (Hubka *et al.* 2018b).

1.3.1 Biotechnologický význam

Aspergillus candidus a další druhy ze sekce *Candidi* produkují mnoho průmyslově důležitých enzymů, které mají biotechnologický potenciál. Některé tyto enzymy a metabolity jsou využitelné v potravinářství, jelikož mají antioxidační účinky a zároveň neobsahují žádné pigmenty a nejsou toxické, tudíž jsou například používány při procesu zrání klobás a salámů (Grazia *et al.* 1986, Pitt & Hocking 1997, Sunesen & Stahnke 2003) nebo při procesech kvašení rýže koji (Yen *et al.* 2003a). Dalšími průmyslově využitelnými enzymy, které jsou produkovány zástupci sekce *Candidi*, jsou například extracelulární lipázy a celulázy, které se využívají při procesech degradace odpadu (Milala *et al.* 2009, Farias *et al.* 2015), nebo xylanázy, využívané pro štěpení polysacharidů (Beg *et al.* 2001, Garai & Kumar 2013). Dále se také průmyslově využívá acetamidáza pro detekci acetamidu (Rahim *et al.* 2003) nebo inulináza v produkci fruktózy (Kochhar *et al.* 1999).

U některých druhů byla zjištěna produkce bioaktivních metabolitů s farmakologickým potenciálem, například chlorflavoninu s antibiotickými a antimykotickými účinky (Munden *et al.* 1970, Marchelli & Vining 1973, Hubka *et al.* 2014) nebo sloučenin s významnou antioxidační aktivitou, jako například candidusinu B, 3-hydroxyterphenyllinu nebo dihydroxymetylpyranonu (Yen *et al.* 2001, Elaasser *et al.* 2011), cytotoxického candidusinu A, preussinu nebo derivátů p-terphenylu (Kobayashi *et al.* 1982, Malhão *et al.* 2019, Lin *et al.* 2021). Mnoho dalších nedávno objevených sloučenin má protinádorovou, antimikrobiální, cytotoxickou nebo antivirovou aktivitu, jak bylo popsáno například u ascandinů (Zhou *et al.* 2021), taichuninů (El-Desoky *et al.* 2021), unguisinů (Li *et al.* 2020) nebo p-terphenylových derivátů (Han *et al.* 2020, Shan *et al.* 2020, Wang *et al.* 2020).

1.3.2 Lékařský význam

Sekce *Candidi* zahrnuje několik zástupců, kteří často kontaminují klinické vzorky a příležitostně mohou způsobovat povrchové mykózy. Celkově je ale význam zástupců sekce *Candidi* v klinické mykologii ve srovnání s některými jinými sekcemi rodu *Aspergillus* poměrně malý. Většina v literatuře uváděných izolátů pochází z povrchových

lézí, jako jsou například onychomykóza a otitis externa (Kaben 1962, Zaror & Moreno 1980, Falser 1983, Venneward *et al.* 2002, García-Agudo *et al.* 2011, Ahmadi *et al.* 2012, Hubka *et al.* 2012, Hubka *et al.* 2014, Gupta *et al.* 2016, Carballo *et al.* 2020). Potvrzenými etiologickými agens infekcí jsou přitom jen *A. tritici* a *A. candidus*, zatímco druhy *A. pragensis* a *A. dobrogensis* byly sice izolovány z klinických vzorků, ale jejich patogenní role nebyla prokázána (Hubka *et al.* 2018b). Dříve byl *A. candidus* považován také za původce lidských systémových infekcí, jako je meningitida, sinusitida, plicní absces, granulom mozku nebo invazivní aspergilóza (Linares *et al.* 1971, Avanzini *et al.* 1991, Iwasaki *et al.* 1991, Moling *et al.* 2002, Becker *et al.* 2015, Kaur *et al.* 2021), ale vzhledem k tomu, že není schopen růst při 37 °C a dokonce ani při 35 °C, byly tyto infekce pravděpodobně způsobeny *A. tritici* nebo bíle sporulujícími mutanty některých jiných klinicky významných druhů, jako jsou *A. fumigatus*, *A. terreus* nebo *A. flavus* (Raper & Fennell 1965, Cole *et al.* 1986, Jackson *et al.* 2009).

Znalost druhových hranic v sekci má i medicínský význam, protože některé druhy vykazují zvýšené minimální inhibiční koncentrace (MIC) vůči běžně používaným antimykotikům, např. *A. pragensis* vůči azolovým derivátům (vorikonazol, itraconazol a posakonazol) (Hubka *et al.* 2014, Hubka *et al.* 2018b).

2. Metodika

2.1 Použité kmeny

V této práci bylo analyzováno celkem 113 izolátů rodu *Aspergillus* spadajících do sekce *Candidi*, které pocházely z různých zemí a substrátů. Kompletní seznam použitých izolátů je uveden v příloze v Tabulce P1.

2.2 Analýza fenotypu

2.2.1 Makromorfologie

Pro analýzu makromorfologie byly kmeny kultivovány na čtyřech médiích: agaru s maltózovým extraktem (MEA, Malt Extract Agar), Czapekově agaru (CZA, Czapek-Dox Agar), Czapekově agaru s kvasničním extraktem (CYA, Czapek Yeast Autolysate agar) a na Czapekově agaru s kvasničním extraktem a 20 % sacharózy (CY20S, Czapek Yeast Autolysate agar with 20 % sucrose). Média byla připravena podle Samson *et al.* (2014). Kmeny byly tříbodově očkovány na Petriho misky o průměru 90 mm ze suspenze konidií. K přípravě 40 ml suspenze bylo použito 40 ml destilované vody, 0,08 g agaru a 1 kapka přípravku Tween 80[®]. Kultivace probíhala ve tmě při teplotě 25 °C. Velikosti kolonií byly měřeny po 7 a po 14 dnech. Barva a textura kolonií byly vyhodnocovány a fotografovány po dvou týdnech, kdežto produkce sklerocií a pigmentu až po čtyřech týdnech kultivace. Fotografie kolonií byly pořízeny pomocí fotoaparátu Canon EOS 500D a pomocí stereomikroskopu Leica M205C s digitální kamerou Leica DMC 5400. Barvy kolonií byly pojmenovány podle Kornerup & Wanscher (1967). Fotografie byly zpracovány v programu CorelDRAW Graphic Suite 2021.

2.2.2 Mikromorfologie

Mikromorfologické znaky byly pozorovány, měřeny a fotografovány pomocí světelného mikroskopu Olympus BX-51 s digitální kamerou Olympus DP 72 po 7–21 dnech kultivace ve 25 °C na médiu MEA. Preparáty pro focení byly připravovány v 60% kyselině mléčné. U jednotlivých kmenů byly pozorovány tyto znaky: délka a šířka stopky, průměr měchýřku, délka metul a fialid, délka a šířka konidií. Od každého kmene bylo naměřeno nejméně 35 hodnot. Statistická významnost rozdílů mikromorfologických znaků mezi jednotlivými druhy byla zjištěna pomocí analýzy ANOVA a na ni navazujícího Tukey HSD testu, obou provedených v programu R 4.1.2 (R Core Team

2021). Boxploty a houslové grafy byly vytvořeny v programu R 4.1.2 s použitím balíčku GGPlot2 (Wickham 2016).

2.2.3 Fyziologie

Pro zjištění celkového teplotního profilu růstu a stanovení minimální, optimální a maximální teploty růstu byly kmeny kultivovány na médiu MEA při 10, 15, 20, 25, 30, 35, 37, 40 a 45 °C. Velikosti kolonií byly měřeny po 7 a poté i po 14 dnech kultivace, kdy byly kolonie také fotografovány.

2.3 Molekulární analýza

2.3.1 Izolace DNA

DNA byla izolována z kultur rostoucích 7 dní na médiu MEA za použití kitu Fungal/Bacterial DNA Kit™ (Zymo Research, Irvin, CA, USA). Byl dodržen přesný postup podle pokynů výrobce. Kvalita izolované DNA byla ověřena pomocí spektrofotometru Nanodrop ND-1000.

2.3.2 PCR amplifikace

Pro molekulární analýzu byly vybrány a pomocí PCR amplifikovány 4 geny: oblast vnitřního přepisovaného mezerníku ribozomální DNA (ITS rDNA, z anglického “internal transcribed spacer”), zahrnující podoblasti ITS1, 5.8S a ITS2, byla amplifikována s použitím forward primeru ITS1 (White *et al.* 1990) a reverse primeru NL4 (O'Donnell 1993) nebo ITS4 (White *et al.* 1990). Dále byly amplifikovány tři geny kódující proteiny: gen pro β -tubulin (*benA*) byl amplifikován pomocí forward primeru Bt2a (Glass & Donaldson 1995), T10 (O'Donnell & Cigelnik 1997) nebo Ben2f (Hubka & Kolařík 2012) a reverse primeru Bt2b (Glass & Donaldson 1995). Gen pro kalmodulin (*CaM*) byl amplifikován pomocí forward primeru CF1L, CF1M (Peterson 2008) nebo cmd5 (Hong *et al.* 2006) a reverse primeru CF4 (Peterson 2008) nebo cmd6 (Hong *et al.* 2006) a gen pro velkou podjednotku RNA polymerázy II (*RPB2*) byl amplifikován pomocí forward primeru fRPB2-5F (Liu *et al.* 1999) nebo RPB2-F50-CanAre (Jurjević *et al.* 2015) a reverse primeru fRPB2-7cR (Liu *et al.* 1999).

PCR reakční směs o objemu 20 μ l byla připravena v následujícím složení:

deionizovaná H ₂ O	14,2 μ l
pufr (MyTaq Bioline 5 $\times$ obsahující nukleotidy a MgCl ₂)	4 μ l
primery (forward i reverse, 25 pmol/ μ l)	0,3 μ l
DNA polymeráza MyTaq HS Red (Bioline, Londýn, UK)	0,2 μ l
Izolovaná genomická DNA	1 μ l

Pro většinu PCR reakcí byl použit následující amplifikační cyklus:

95 °C / 1 min (1 $\times$)
92 °C / 20 s; 55 °C / 30 s; 72 °C / 1 min (35 $\times$)
72 °C / 10 min (1 $\times$)

Pro některé vzorky, u kterých opakovaně nebyl pozorován žádný produkt, byl použit tzv. program „touchdown“. Zejména se jednalo o amplifikaci genu *RPB2*:

94 °C / 2 min (1 $\times$)
94 °C / 30 s, 66 °C – 60 °C / 45 s, 72 °C / 1 min (5 $\times$)
94 °C / 30 s, 60 °C / 45 s, 72 °C / 45 s (30 $\times$)
72 °C / 10 min (1 $\times$)

Výsledky amplifikace byly zobrazeny na 1% agarózovém gelu s elektroforetickým pufrům TAE a přidavkem kapky ethidium bromidu (HiMedia, Bombaj, Indie).

2.3.3 Purifikace DNA

Čištění PCR produktů probíhalo pomocí produktu ExoSAP-IT™ (Thermo Fisher Scientific, Vilnius, Litva), který byl přidán v množství 8 μ l k PCR produktu zředěný v poměru 1:9 deionisovanou H₂O. Postup byl dodržen dle pokynů výrobce.

2.3.4 Sekvenace DNA

Sekvenace PCR fragmentů byla provedena v Laboratoři sekvenace DNA PřF UK (Biocev, Vestec, ČR) oběma koncovými primery použitými při PCR. Prvotní úpravy získaných sekvencí byly provedeny v programu Bioedit 7.2.5 (Hall 1999).

2.4. Fylogenetická analýza

Alignmenty sekvencí genů *benA*, *CaM* a *RPB2* byly vytvořeny pomocí online programu MAFFT7 (Kato *et al.* 2019). Oblast ITS rDNA byla z analýz vyloučena kvůli nízkému počtu informativních míst. Alignmenty byly oříznuty, spojeny a následně analyzovány metodou maximální věrohodnosti (ML) a bayesovské inference (BI). Vhodná schémata rozdělení alignmentů na segmenty a příslušné substituční modely (podle bayesovského informačního kritéria) byly vybrány pomocí strategie „greedy“ v programu PartitionFinder 2 (Lanfear *et al.* 2017) s nastavením umožňujícím, aby introny, exony a pozice kodonů byly nezávislými datasety. Stromy vytvořené metodou ML byly konstruovány pomocí programu IQ-TREE 1.4.4 (Nguyen *et al.* 2015), podpory uzlů byly určeny pomocí ultrarychlého bootstrappingu (BS) se 100 000 opakováními. Stromy byly zakořeněny kladem obsahujícím izoláty *A. tritici*. Bayesovské posteriorní pravděpodobnosti (PP) byly vypočteny pouze pro konkatenovaný dataset pomocí programu MrBayes 3.2.6 (Ronquist *et al.* 2012) s nastavením délky řetězce na 10^6 generací, 2 paralelní běhy se 4 řetězci každý. Zachován byl každý tisící strom a prvních 25 % stromů bylo vyřazeno jako burn-in. Konvergence běhů a efektivní velikosti vzorků byly zkontrolovány v programu Tracer v1.6 (Rambaut *et al.* 2018).

2.5 Delimitace druhových hranic

V této práci byly použity čtyři delimitační MSC metody pracující s DNA daty z jednoho lokusu: GMYC (General Mixed Yule-Coalescent approach) (Fujisawa & Barraclough 2013), bGMYC (bayesian General Mixed Yule-Coalescent approach) (Reid & Carstens 2012), PTP (Poisson Tree Processes model) a bPTP (bayesian Poisson Tree Processes model) (Zhang *et al.* 2013). Dále byla použita MSC metoda STACEY, která pracuje s DNA daty z více lokusů naráz (Jones 2017). V programu jModelTest 2.1.10 (Darriba *et al.* 2012) byl pro každý alignment vybrán vhodný model evoluce pomocí bayesovského informačního kritéria (BIC). Pro získání alignmentů složených pouze z unikátních sekvencí byla použita funkce *haplotype* z balíčku PEGAS (Paradis 2010) v programu R 4.1.2 (R Core Team 2021). Grafický výstup přehledu výsledků jednotlivých metod byl vytvořen v programu iTOL (Interactive Tree Of Life) (Letunic & Bork 2021).

2.5.1 Jednogenové MSC delimitační metody

GMYC analýza byla provedena v programu R 4.1.2 pomocí balíčku SPLITS (Fujisawa & Barraclough 2013). Ultrametrické vstupní stormy pro tuto metodu byly vypočítány programem BEAST 2.6.6 (Bouckaert *et al.* 2014) s délkou řetězce 1×10^7 generací.

Metoda bGMYC byla provedena pomocí balíčku BGMYC (Reid & Carstens 2012) v programu R 3.4.1. Nejprve bylo odstraněno 25 % stromů vytvořených programem BEAST 2.6.6 jako burn-in a následně byl v programu R 4.1.2 použit balíček APE (Paradis *et al.* 2004) pro náhodné vybrání sta ultrametrických stromů, které byly použity jako vstupní stormy.

Pro metody PTP a bPTP bylo v programu IQ-TREE 1.6.12 (Nguyen *et al.* 2015) vypočítáno tisíc standardních bootstrapových ML stromů a následně použito jako vstupní soubor. Analýzy PTP i bPTP byly provedeny pomocí balíčku PTP (Zhang *et al.* 2013) v programu Python 3 (van Rossum & Drake 2019).

2.5.2 Mnohogenová MSC metoda STACEY

Vícelokusová metoda STACEY byla provedena pomocí doplňku STACEY 1.2.5 (Jones 2017) v programu BEAST 2.6.6 (Bouckaert *et al.* 2014). Délka mcmc řetězce byla nastavena na 1×10^9 generací, byl vybrán model striktních molekulárních hodin a Yule model druhového stromu. Výstup byl zpracován programem SpeciesDelimitationAnalyser. Pro prezentaci výsledků analýzy STACEY byl nejprve vytvořen graf znázorňující změny počtu vymezených druhů a pravděpodobnosti nejpravděpodobnějších scénářů v závislosti na hodnotě parametru *collapseheight*, a dále byly vytvořeny matice podobnosti pomocí použití kódu od Jones *et al.* (2015) se dvěma různými hodnotami parametru *collapseheight* (0,007; 0,01) vybraných z grafu (Obrázek 3). Fylogenetický strom vygenerovaný v průběhu analýzy STACEY byl následně použit v Obrázku 4 pro znázornění výsledků druhových delimitačních metod.

2.6 Validace druhových hranic

K ověření různých hypotéz o druhových hranicích byl použit software DELINEATE (Sukumaran *et al.* 2021). Nejprve byl soubor dat rozdělen do hypotetických populací analýzou „A10“ v BPP 4.3 (Yang 2015). Poté byl programem starBEAST (zahrnutém v programu BEAST 2.6.6) (Heled & Drummond 2009) odhadnut druhový strom pro tyto populace. Nakonec byly populace vymezené BPP přiřazeny do druhů na základě předchozích výsledků druhových delimitačních metod a fenotypových znaků. Ve vlastní

analýze byly vždy u několika populací/druhů jasně definovány jejich druhové hranice, kdežto jiné populace/druhy byly ponechány volné a bylo sledováno jejich přiřazení do druhů programem DELINEATE. Analýza byla provedena pomocí balíčku DELINEATE (Sukumaran *et al.* 2021) v programu Python 3 (van Rossum & Drake 2019).

3. Výsledky

3.1 Integrativní přístup vymezení druhových hranic

Už od počátku této studie bylo patrné, že vytvořit prvotní hypotézu o druhových hranicích v sekci *Candidi* bude obtížné z důvodu relativně jednotvárné morfologie izolátů a nesouhlasných výsledků jednotlivých fylogenetických metod. Aby bylo dosaženo co nejkomplexnějšího pohledu na taxonomii sekce *Candidi*, byly srovnány výsledky přístupu GCPSR (Genealogical Concordance Phylogenetic Species Recognition) s metodami založenými na modelu mnohodruhové koalescence (MSC, multispecies coalescent model-based methods) a s výsledky analýzy fenotypu.

Pro tyto analýzy byly celkově získány a analyzovány sekvence tří genů (*benA*, *CaM* a *RPB2*) u 113 izolátů ze sekce *Candidi*. Dále byly u 66 izolátů, reprezentujících genetickou variabilitu napříč sekcí, měřeny a skórovány různé fenotypové znaky.

Aby bylo o druhových hranicích rozhodováno zhruba jednotně napříč sekcí, byla stanovena čtyři hlavní kritéria, která byla skórována podle toho, jak podporovala vymezení jednotlivých druhů. Pro tento integrativní přístup bylo požadováno, aby byl navržený druh podpořen alespoň třemi z těchto čtyř kritérií: (1) žádný rozpor při posuzování druhových hranic pomocí přístupu GCPSR, (2) podpora mnohogenové MSC metody STACEY (alespoň jednoho ze dvou nejpravděpodobnějších scénářů – viz níže), (3) podpora většiny jednogenových MSC metod (souhlas s vymezením druhu v jeho přesné formě nebo vymezení menších jednotek v jeho rámci, ale bez jeho sloučení s příbuznými druhy/populacemi) a (4) přítomnost fenotypových rozdílů u fylogeneticky příbuzných druhů. Výsledky jsou shrnuty na konci kapitoly 3.5 v Tabulce 4. S použitím tohoto přístupu bylo podpořeno vymezení dvou nových druhů v sekci *Candidi* – *Aspergillus* sp. 1 a *Aspergillus* sp. 2 (více podrobností viz níže a v kapitole 4).

3.2 Fylogenetická analýza a přístup GCPSR

Na Obrázku 1 je zobrazený fylogenetický strom vytvořený metodou maximální věrohodnosti (ML), který získal nejvyšší hodnotu log likelihood, a který byl založený na konkatenovaném alignmentu 3 genů pro 113 kmenů. Rozdělení alignmentů na segmenty (partitions) a použité substituční modely pro každý segment jsou uvedeny v příloze v Tabulce P2. Topologie stromu získaného pomocí bayesovské inference (BI) byla téměř totožná a posteriorní pravděpodobnosti spolu s hodnotami bootstrapové podpory z ML analýzy jsou připojeny k jednotlivým uzlům. Informace o geografickém původu kmenů

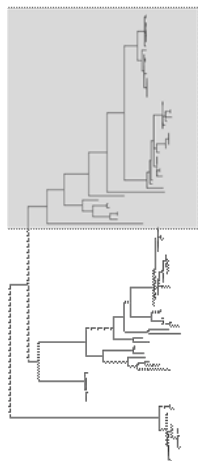
a o substrátech, ze kterých byly izolovány, jsou znázorněny ikonami u fylogenetického stromu a uvedeny v příloze v Tabulce P1.

Fylogenetické vztahy mezi zástupci sekce *Candidi* jsou v kombinované fylogenezi zřejmé a dobře podpořené. Druhy se shlukovaly do tří hlavních monofyletických kladů. První klad zahrnoval *A. candidus*, *A. dobrogensis*, *Aspergillus* sp. 3 (reprezentovaný izolátem DTO 244-F1), *A. campestris* a *Aspergillus* sp. 1 (reprezentovaný izolátem UAMH 1324). Druhý klad sestává z druhů *A. subalbidus*, *A. taichungensis*, *Aspergillus* sp. 2 (reprezentovaný izoláty DTO 337-H7, DTO 440-E1, DTO 440-E2) a *A. pragensis*. *Aspergillus tritici* tvořil samostatnou linii, relativně vzdálenou od ostatních druhů. Tato topologie byla téměř identická s topologií stromu vygenerovaného v analýze metodou STACEY s jednou významnou výjimkou. V ML a BI stromech byl *A. campestris* polyfyletický z důvodu pozice kmene IBT 17867, který vytvořil linii shlukující se s kladem zahrnujícím *Aspergillus* sp. 3, *A. candidus* a *A. dobrogensis*. Je to způsobeno atypickou sekvencí genu *RPB2* tohoto kmene, která ovlivňuje topologii nejen stromu založeného na genu *RPB2* (Obrázek 2), ale i mnohogenového fylogenetického stromu. Tato sekvence sdílí mnoho variabilních pozic s *A. candidus* a *A. dobrogensis* a pravděpodobně se jedná o tzv. ancestrální polymorfismus (ancestral polymorphism) nebo nekompletní třídění linií (incomplete lineage sorting). Naopak ve stromě z multilokusové MSC metody STACEY tvořilo všech sedm kmenů *A. campestris* monofyletický klad (Obrázek 4). Ostatní charakteristiky a sekvence kmene IBT 17867 jsou pro linii *A. campestris* typické.

Při porovnávání topologií jednogenových stromů a použití pravidel přístupu GCPSR (Obrázek 2) nebyly nalezeny žádné konflikty mezi druhy *A. candidus* a *A. dobrogensis*, což podporuje vymezení těchto druhů tak, jak bylo stanoveno dříve (Hubka et al. 2018). V rámci linie *A. candidus* došlo mezi jednotlivými klady k výměně izolátů, což ukazuje, že tento druh je pouze jedním fylogenetickým druhem. V linii *A. campestris* bylo možné podpořit až tři fylogenetické druhy: IBT 17867 + CBS 348.81 (druh 1), IMI 344489 + IBT 23172 (druh 2) a FMR 15224 + FMR 15226 + CCF 5641 (druh 3). S výjimkou druhu 1 jsou tyto klady bez konfliktu přítomny ve všech třech jednogenových stromech. Jak ale bylo uvedeno výše, odlišná sekvence genu *RPB2* a fylogenetická pozice kmene IBT 17867 ve stromě *RPB2* jsou podle přístupu GCPSR v rozporu s podporou těchto fylogenetických druhů.

Přístup GCPSR jasně podpořil vymezení druhu *Aspergillus* sp. 2 a jeho sesterského druhu *A. taichungensis*. V rámci linie *A. taichungensis* je fylogenetická pozice kmenů nestabilní mezi jednotlivými jednogennými fylogenezemi, což neumožňuje vymezit tento druh jinak než v podobě čtyř kmenů (IBT 19404, DTO 266-G2, DTO 270-C9 a DN07). Významné neshody v topologii lze nalézt také v robustní linii *A. subalbidus*, která je strukturovaná do několika kladů. Z důvodu těchto konfliktů bylo nutné podpořit široké vymezení tohoto druhu, které zahrnuje i bazální klad s izoláty CCF 5642 a CCF 6197 (označované jako "pop 6" podle analýzy DELINEATE - viz níže).

Aspergillus pragensis byl jasně podpořen ve všech fylogenezích, protože je jeho linie téměř klonální a vždy dobře oddělena od ostatních druhů. V rámci linie *A. tritici* je přítomen klad se dvěma uniseriálními kmeny CCF 4914 a IBT 12658, který je podporován fylogenezí *benA* a *CaM*, ale nikoliv *RPB2*. V důsledku toho podporuje přístup GCPSR širší definici *A. tritici* zahrnující tyto dva kmeny. Linie, které obsahovaly pouze jediný kmen s nestabilní fylogenetickou pozicí (*Aspergillus* sp. 1 a *Aspergillus* sp. 3), byly z hodnocení přístupem GCPSR vyloučeny.

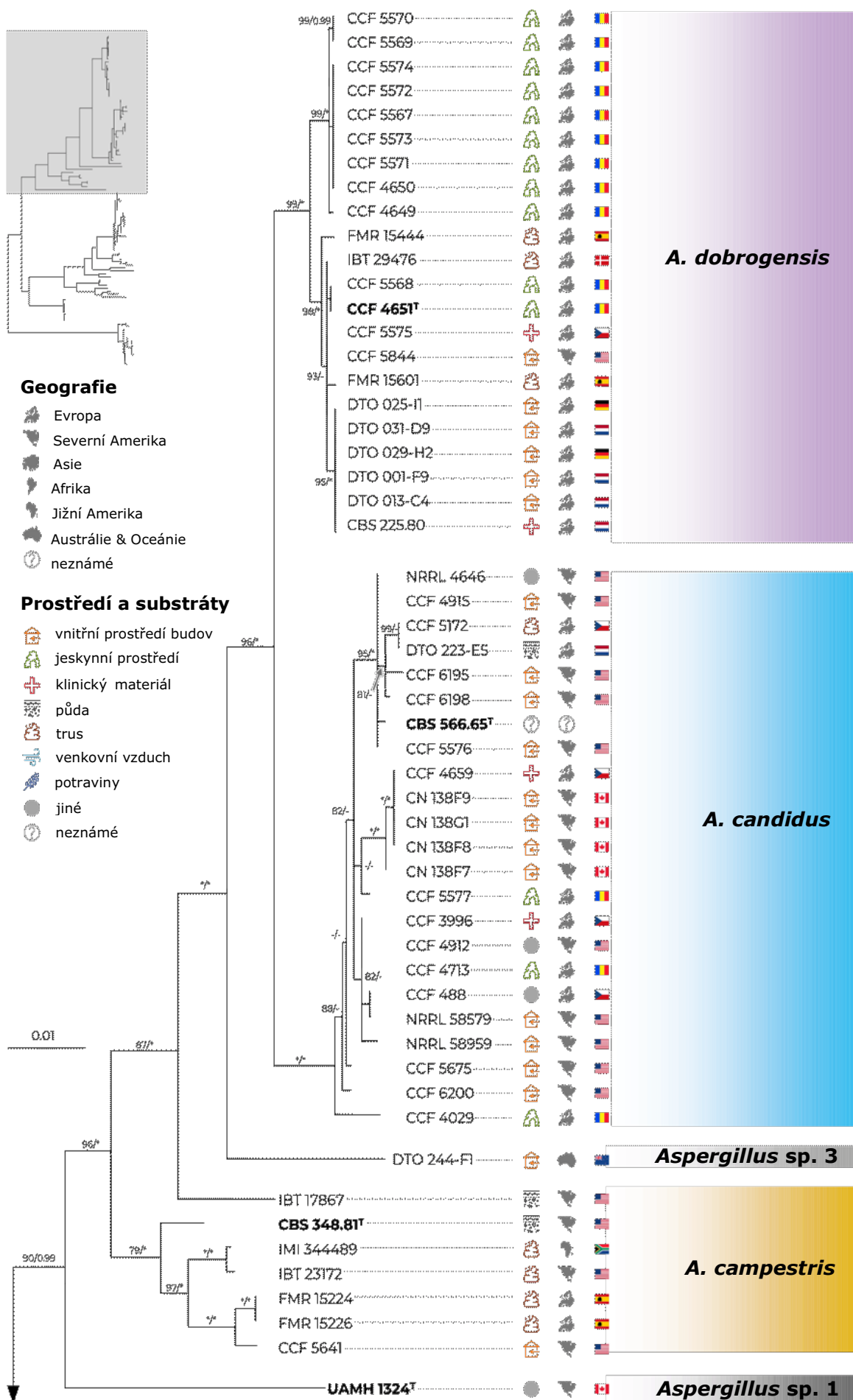


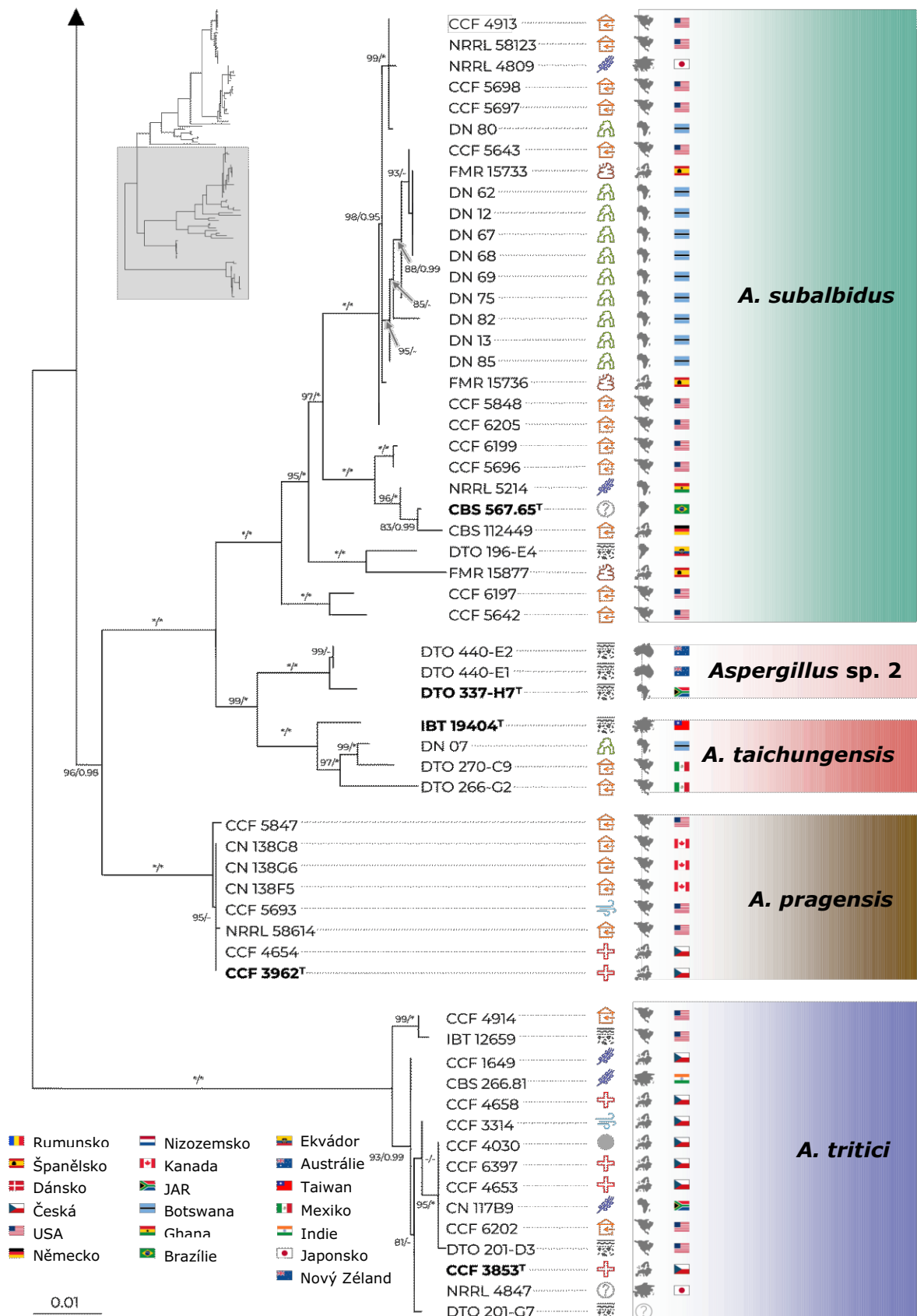
Geografie

- Evropa
- Severní Amerika
- Asie
- Afrika
- Jižní Amerika
- Austrálie & Oceánie
- neznámé

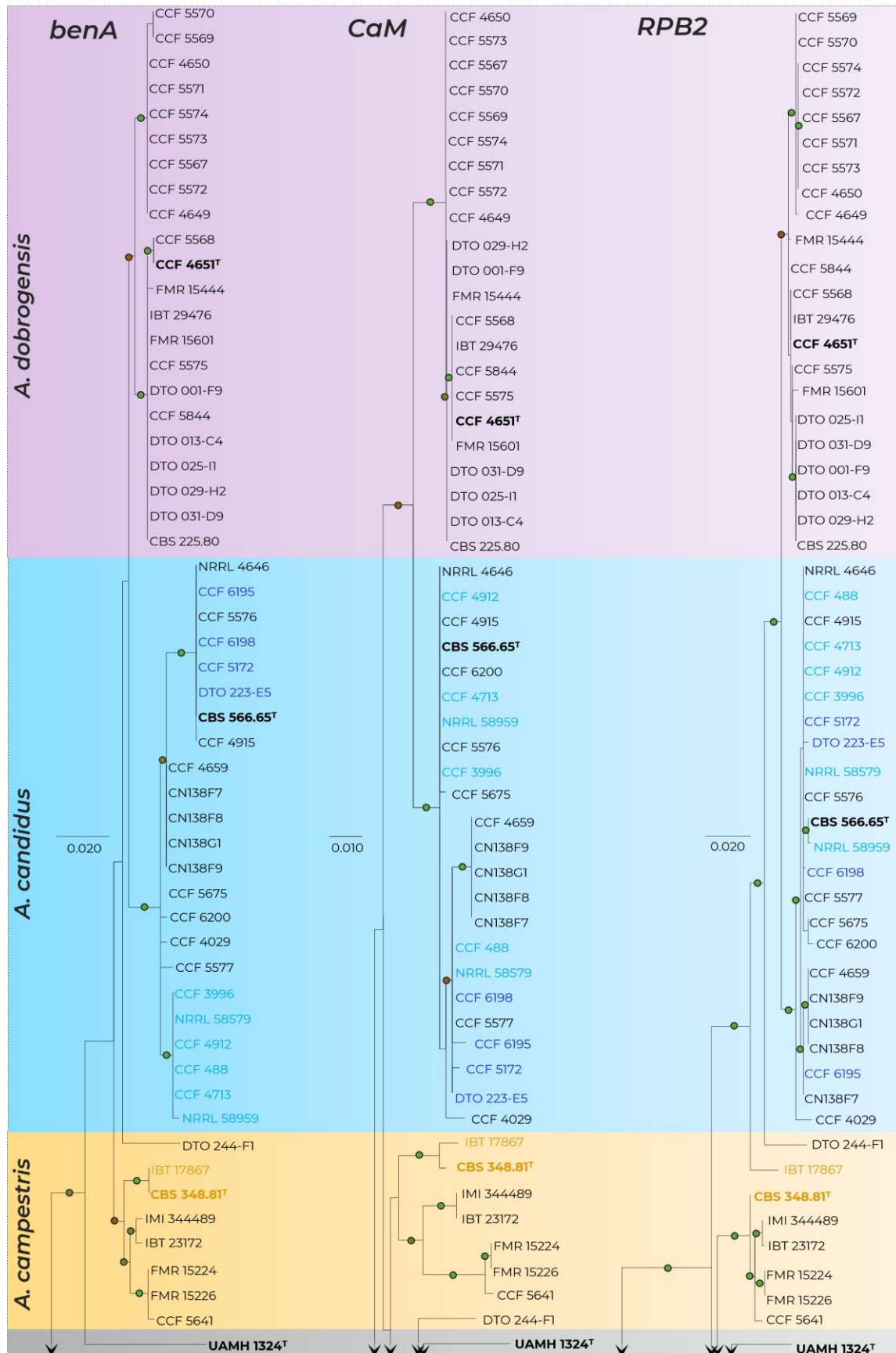
Prostředí a substráty

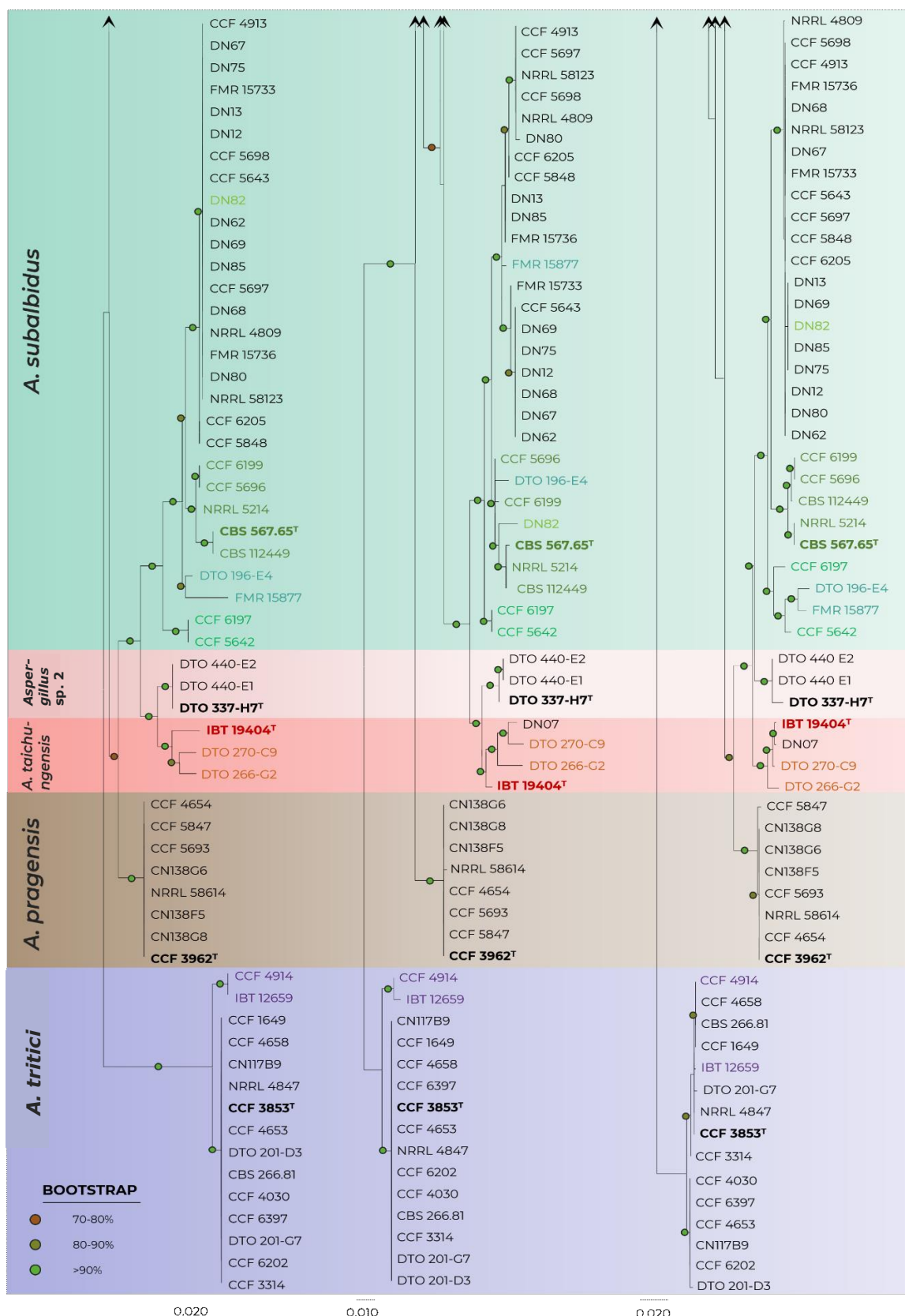
- vnitřní prostředí budov
- jeskynní prostředí
- klinický materiál
- půda
- trus
- venkovní vzduch
- potraviny
- jiné
- neznámé





Obrázek 1. Mnohogenová fylogeneze 113 izolátů *Aspergillus* ze sekce *Candidi* založená na třech lokusech (*benA*, *CaM*, *RPB2*). Na obrázku je znázorněn strom vytvořený metodou maximální věrohodnosti (ML) v programu IQ-TREE 1.4.4, který získal nejvyšší skóre log likelihood. Bootstrapové podpory přesahující 70 % a bayesovské posteriorní pravděpodobnosti přesahující 0.95 jsou připojeny k jednotlivým uzlům; nižší hodnoty nejsou uvedeny. Ex-typové kmeny jsou označeny tučným písmem a horním indexem "T". Měřítko odpovídá počtu substitucí na jednu pozici v alignmentu (substitutions per site).





Obrázek 2. Výsledky druhové delimitace s použitím přístupu GCPSR. Jednogenové fylogenetické stromy vypočítané metodou Maximum Likelihood byly vypočítány v programu IQ-TREE 1.4.4 na základě sekvencí genů *benA*, *CaM* a *RPB2*. Barevně jsou zvýrazněny kmeny nebo skupiny kmenů, které zaujímají nestabilní pozici a způsobují tak neshody v topologii jednotlivých fylogenetických stromů. Ex-typové kmeny jsou označeny tučným písmem a horním indexem "T". Bootstrapové podpory přesahující 70 % jsou připojeny k jednotlivým uzlům; nižší hodnoty nejsou uvedeny. Měřítko odpovídá počtu substitucí na jednu pozici v alignmentu (substitutions per site).

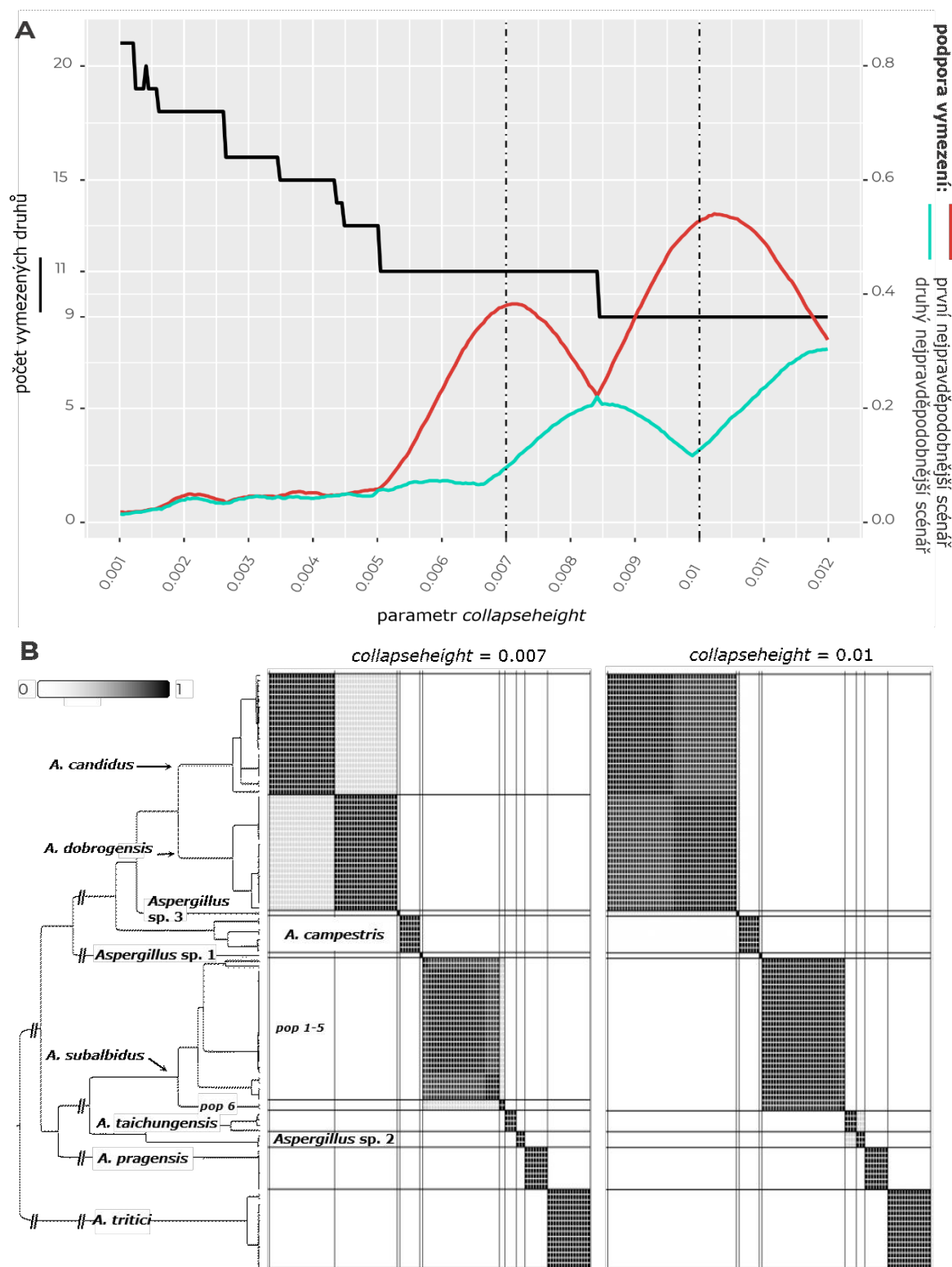
3.3 Vymezení druhů pomocí metody STACEY

Podrobné výsledky mnohogenové metody STACEY jsou uvedeny na Obrázku 3, kde je na podobrázku A znázorněn vliv hodnoty parametru *collapseheight* na počet vymezených druhů. Tento parametr je vynesena na ose x, zatímco levá osa y znázorňuje počet vymezených druhů při dané hodnotě parametru *collapseheight* (černá čára). Červenou křivkou je znázorněn nejpravděpodobnější scénář a tyrkysovou křivkou druhý nejpravděpodobnější scénář. Ostatní méně podporované scénáře jsou vynechány. Mění se hodnota parametru *collapseheight* se odráží zejména ve vymezení druhů *A. dobrogensis*, *A. candidus* a druhů v kladu zahrnujícím *A. subalbidus*, *A. taichungensis* a *Aspergillus* sp. 2.

Výsledkem této metody jsou dva dobře podpořené scénáře. V prvním z nich bylo vymezeno jedenáct druhů a ve druhém devět. Svislé přerušované čáry na podobrázku 4A znázorňují tyto scénáře s konkrétními hodnotami parametru *collapseheight*, které jsou podrobně ilustrovány na podobrázku 4B ve formě matic podobnosti, které ukazují posteriorní pravděpodobnosti zařazení každého páru izolátů do stejného druhu.

Scénář s 11 vymezenými druhy dosáhl podpory přibližně 0,4 (pravá osa y, maximum je 1) při hodnotě parametru *collapseheight* přibližně 0,007. V tomto scénáři jsou *A. dobrogensis*, *A. candidus*, *A. taichungensis* a *Aspergillus* sp. 2 vymezeny jako samostatné druhy. Izoláty *A. subalbidus* jsou rozděleny do dvou druhů - klad "pop 6" byl vymezen jako samostatný druh.

Ve scénáři s 9 druhy a hodnotou parametru *collapseheight* přibližně 0,01 je *A. subalbidus* vymezen jako jeden široký druh (včetně „pop 6“) a *A. dobrogensis* je sloučen s *A. candidus*. *Aspergillus taichungensis* i *Aspergillus* sp. 2 jsou stále vymezeny, ale tentokrát s nižší podporou. Podpora ostatních druhů (*Aspergillus* sp. 3, *A. campestris*, *Aspergillus* sp. 1, *A. pragensis* a *A. tritici*) byla v obou scénářích stabilně vysoká.



Obrázek 3. Výsledky druhové delimitace s použitím mnohogenové metody STACEY. (A) Závislost výsledku delimitace na parametru *collapseheight*. Plná černá čára představuje počet vymezených druhů (osa y) v závislosti na měnící se hodnotě parametru *collapseheight* (osa x). Červená křivka znázorňuje pravděpodobnost (v rozsahu 0 až 1 na pravé ose y) nejpravděpodobnějšího scénáře při specifické hodnotě parametru *collapseheight* a tyrkysová křivka představuje pravděpodobnost druhého nejpravděpodobnějšího scénáře. Svislé přerušované čáry značí tyto dva scénáře při hodnotách parametru *collapseheight* 0,007 a 0,01, jejichž výsledky jsou podrobně znázorněny maticemi podobnosti na podobrázku B, které ukazují posteriorní pravděpodobnosti zařazení každého páru izolátů do stejného druhu. Černý odstín odpovídá posteriorní pravděpodobnosti 1, zatímco bílá barva je rovna 0. Vodorovné a svislé čáry v maticích podobnosti ohraničují skupiny izolátů, které získaly ve scénářích významnou podporu.

3.4 Vymezení druhů s použitím jednogenových MSC metod

Téměř všechny jednogenové delimitační metody založené na MSC modelu se shodly na vymezení *Aspergillus* sp. 1, *A. pragensis* a *A. tritici* jako samostatných druhů, zatímco u ostatních druhů bylo jednotlivými metodami s různým nastavením navrženo velké množství variant jejich rozdělení (Obrázek 4). Vymezení *A. pragensis* a *Aspergillus* sp. 1 od ostatních druhů bylo podpořeno všemi metodami kromě metody GMYC s nastavením „Common Ancestor heights“ (GMYC CAh) aplikované na lokus *benA*. Při tomto nastavení byl *Aspergillus* sp. 1 sloučen s *A. candidus*, *A. dobrogensis* a *Aspergillus* sp. 3, a *A. pragensis* byl sloučen s *A. subalbidus*, *A. taichungensis* a *Aspergillus* sp. 2. Pouze tři metody rozdělily *A. tritici* do dvou nebo více druhů, jmenovitě metoda GMYC s nastavením „Median heights“ (GMYC Mh) aplikovaná na lokusy *benA* a *CaM* a dále metoda bPTP aplikovaná na lokus *CaM*. Tyto tři metody se shodly na oddělení kladu zahrnujícím uniseriální kmeny CCF 4914 a IBT 12659 od *A. tritici*. Většina metod (12 z 18) také podpořila vymezení kmene DTO 244-F1 (*Aspergillus* sp. 3) jako samostatného druhu příbuzného *A. candidus*, *A. dobrogensis* a *A. campestris*. Je velmi pravděpodobné, že tento kmen reprezentuje nový nepopsaný druh, ale jeho další zkoumání nebylo možné z důvodu jeho definitivní ztráty ve sbírce DTO.

Shoda metod na vymezení a uspořádání zbývajících druhů byla mnohem nižší než u výše uvedených druhů. Většina metod nepodpořila oddělení *A. dobrogensis* od *A. candidus*. Pouze sedm metod rozlišilo *A. candidus* a *A. dobrogensis* a/nebo vymezilo několik dalších druhů v jejich rámci.

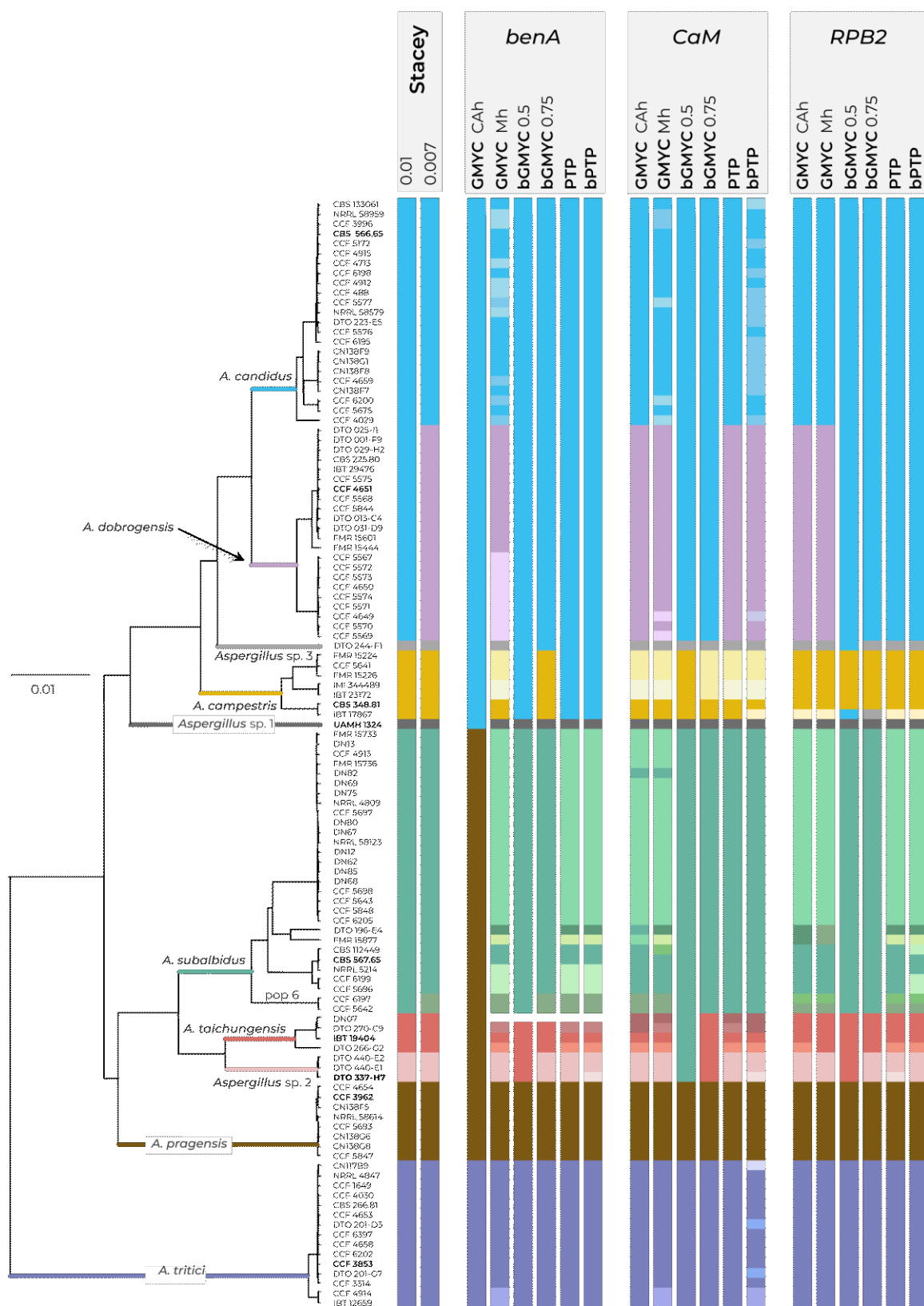
Vymezení *A. campestris* v jeho širším konceptu (všech 7 kmenů) bylo podpořeno pouze metodou bGMYC s hodnotou 0.5 funkce *bgmyc.point* (bGMYC 0.5) aplikovanou na lokus *CaM* a s hodnotou 0.75 (bGMYC 0.75) u lokusu *benA*. Tento širší koncept se shoduje s výsledky metody STACEY s oběma hodnotami parametru *collapsheight*. Všechny metody aplikované na lokus *CaM* (kromě bGMYC 0.5) a GMYC Mh aplikovaná na lokus *benA* vymezily 2 až 4 druhy v rámci *A. campestris*. Vzhledem k tomu, že sekvence úseku *RPB2* u kmene IBT 17867 byla atypická a nepříliš podobná sekvencím ostatních izolátů *A. campestris* (viz výše), tak ho všechny jednogenové metody aplikované na lokus *RPB2* nepřiradily do *A. campestris*. Ve většině případů byl tento izolát vymezen jako samostatný druh nebo byl metodou bGMYC 0.75 sloučen s *Aspergillus* sp. 3 či metodou bGMYC 0.5 i s *A. candidus*/*A. dobrogensis*. Některé metody

aplikované na lokus *benA* (PTP, bPTP, GMYC CAh a bGMYC 0.5) ale naopak sloučily všechny izoláty *A. campestris* dohromady s *A. candidus* a *A. dobrogensis*.

Aspergillus taichungensis byl metodou STACEY (s oběma hodnotami parametru *collapseheight*) vymezen jako druh skládající se ze 4 kmenů (IBT 19404, DTO 270-C9, DTO 266-G2 a DN07). Toto rozdělení bylo podpořeno pouze třemi jednogenovými metodami, jmenovitě metodou bGMYC 0.75 aplikovanou na lokusy *benA* a *RPB2* a metodou GMYC Mh aplikovanou na lokus *RPB2*. Většina metod (10 z 18) vymezila 2 až 4 druhy v rámci *A. taichungensis*. Tři metody sloučily *A. taichungensis* s *Aspergillus* sp. 2 a dvě metody (bGMYC 0.5 aplikované na lokus *CaM* a GMYC Cah aplikované na lokus *benA*) dokonce tyto druhy sloučily s *A. subalbidus* a/nebo *A. pragensis*.

Většina metod vymezila *Aspergillus* sp. 2 jako samostatný druh zahrnující tři kmeny (DTO 337-H7, DTO 440-E1 a DTO 440-E2), což se shoduje s výsledky metody STACEY. Tři metody podpořily rozdělení *Aspergillus* sp. 2 do dvou druhů a zbývajících pět metod ho sloučilo s příbuznými druhy, jak je uvedeno výše.

Aspergillus subalbidus byl zastoupen vysokým počtem kmenů ($n = 29$) strukturovaných do několika kladů, které byly často jednogenovými MSC metodami vyčleněny jako samostatné druhy. Metoda STACEY navrhla široký druhový koncept *A. subalbidus* s 29 nebo 27 izoláty, přičemž oddělení "pop 6" se dvěma kmeny od *A. subalbidus* bylo podpořeno pouze při nižší hodnotě parametru *collapseheight* (0,007). Široký koncept *A. subalbidus* s 29 kmeny podpořilo 6 z 18 jednogenových MSC metod a zbývajících metody obvykle oddělily "pop 6" a/nebo vymezily několik dalších druhů s proměnlivým uspořádáním. Dvě metody dokonce spojily *A. subalbidus* se sousedními druhy (Obrázek 4).



Obrázek 4. Schematické znázornění výsledků vymezení druhových hranic v sekci *Candidi* jednotlivými MSC metodami. Mnohogenová metoda STACEY a čtyři jednojednogenové metody (GMYC, bGMYC, PTP, bPTP) byly aplikovány na dataset tří genů (*benA*, *CaM*, *RPB2*). Výsledky jsou znázorněny barevnými sloupci, kdy odlišné barvy a jejich odstíny představují jednotlivé druhy navržené konkrétními metodami s různým nastavením. Ex-typové izoláty jednotlivých druhů jsou zvýrazněny tučným písmem. Výsledky metody STACEY jsou znázorněny se dvěma hodnotami parametru *collapseheight* (0,01 a 0,007). Pro metodu GMYC byl jako vstupní strom použit model *Coalescent Constant Population* s nastavením výšky uzlů *Common Ancestor heights* (CAh) a *Median heights* (Mh). Metoda bGMYC byla použita se dvěma hodnotami funkce *bgmyc.point* (0.5 a 0.75). Fylogenetický strom byl vypočítán v průběhu analýzy STACEY a je použit výhradně pro komplexní znázornění výsledků různých metod.

3.5 Analýza fenotypu

3.5.1 Makromorfologie

Přehled makromorfologie všech druhů a jejich různých morfortypů je ukázán na Obrázku 5. Morfologie kolonií *A. candidus* je velmi podobná *A. dobrogensis*, ale izoláty *A. dobrogensis* rostou poněkud rychleji na MEA, CYA a CY20S (Tabulka 1). Barva kolonií většiny druhů sekce *Candidi* je obvykle bílá nebo nažloutlá, ale odstíny výrazně žluté barvy převládají u *A. campestris* (obvykle jasně žlutá až sírově žlutá), *Aspergillus* sp. 1 (šedožlutá na MEA, CYA a CY20S) a *A. taichungensis* (pastelově žlutá na CYA a MEA). U některých druhů byla pozorována vysoká vnitrodruhová variabilita v barvě a rozměrech kolonií. Například kolonie *A. campestris*, kterým se obvykle přisuzuje žlutá, sírově žlutá nebo jasně žlutá barva, byly u kmene FMR 15224 spíše bílé nebo jen nažloutlé. Kromě toho byly mezi izoláty *A. campestris* zjištěny také výrazné rozdíly ve tvaru a profilu kolonií, produkci pigmentu a zbarvení spodní strany kolonií, avšak bez souvislosti s fylogenetickou pozicí a shlukováním jednotlivých kmenů. Dalším fenotypově variabilním druhem byl *A. subalbidus* s izoláty lišícími se výrazně v rozměrech kolonií, jejich texturou a barvou. Většina izolátů *A. subalbidus* má bílou až nažloutlou barvu kolonií, kdežto dva kmeny (DTO 196-E4 a FMR 15877) se od ostatních lišily šedobéžovými koloniemi, ale jinak nevykazovaly žádné další jedinečné vlastnosti. Morfologická variabilita obecně u *A. subalbidus* nesledovala žádný fylogenetický vzorec a naopak blízké příbuzné kmeny často vykazovaly odlišnou morfologii. Dva kmeny *A. tritici* (CCF 4914 a IBT 12659), které tvořily vlastní menší klad (Obrázky 1, 2 a 3), se od ostatních izolátů *A. tritici* lišily sametovým povrchem kolonií, ale především mikromorfologickými znaky (viz níže).

Produkce sklerocií byla pozorována u všech druhů kromě *Aspergillus* sp. 1 a většinou na médiích CZA a CYA. S výjimkou *A. dobrogensis* produkovaly po čtyřech týdnech kultivace rozpustný pigment do média alespoň některé izoláty každého druhu, opět nejčastěji na CZA a CYA (Tabulka 1). Obecně byla produkce sklerocií a pigmentů většinou kmenově než druhově specifická. U několika druhů zastoupených více izoláty však byly pozorovány určité trendy a v několika případech produkce pigmentů přispěla k rozlišení druhů, například *Aspergillus* sp. 2 produkoval tmavě hnědý pigment, kdežto jeho blízké příbuzný druh *A. taichungensis* produkoval žlutý pigment. Tmavé rozpustné pigmenty produkovaly také všechny kmeny *A. campestris* a *A. pragensis*, ale s různou

intenzitou a lokalizací vzhledem ke koloniím. U kmenů *A. dobrogensis* nebyla pozorována produkce žádného pigmentu, zatímco u jeho blízkce příbuzného *A. candidus* produkovalo pigment 5 z 9 zkoumaných kmenů.

3.5.2 Mikromorfologie

Mikromorfologické znaky zástupců sekce *Candidi* jsou shrnuty v Tabulce 2. Statistická významnost rozdílů těchto znaků mezi druhy je uvedena v příloze v Tabulce P3. Všechny druhy vytvářely biseriální konidiofory, tedy takové, které mají nevětvenou (většinou delší) stopku, kulovitý až oválný měchýřek a vrstvu metul i fialid. U většiny druhů byly také příležitostně pozorovány redukované (z anglického „diminutive“) konidiofory, které jsou výrazně menší a mají menší měchýřky.

Zajímavý fenomén byl pozorován u *A. tritici*, kde některé kmeny (CCF 4914 a IBT 12659) vytvářely atypicky krátké a uniseriální konidiofory. Tyto kmeny vytvořily separátní klad v *benA* a *CaM* fylogenetických stromech a byly také vymezeny třemi jednogennovými MSC metodami jako samostatný druh. Zajímavým zjištěním této práce je také to, že druh *A. tritici* byl neplatně popsán, protože nebyl uveden a uložen jeho typus (Mehrotra & Basu, 1976). Druh byl navíc popsán na základě atypického kmene CBS 288.81, který produkuje krátké, pokřivené a hojně septované konidiofory, a také na všech médiích roste pomaleji než ostatní kmeny tohoto druhu a produkuje početná sklerocia.

Výsledky mikromorfologické analýzy ukázaly, že mezi znaky, které nejvíce přispěly k rozlišení druhů, patří délka a šířka stopky, průměr měchýřku a délka metul (Obrázek 6). Rozměry konidií naopak k rozlišení druhů nepřispěly vůbec. *Aspergillus* sp. 1 má nejdelší a nejširší stopky, největší měchýřky, nejdelší metuly, a je tím pádem snadno odlišitelný od ostatních druhů. *Aspergillus dobrogensis* má větší rozměry stopky, měchýřku, metul a fialid v porovnání s jeho blízkce příbuzným druhem *A. candidus*. Toto tvrzení ale platí jen na úrovni celého druhu, protože některé izoláty *A. dobrogensis* se od *A. candidus* svými rozměry neliší (Obrázek 7). Druhy *A. subalbidus*, *A. taichungensis*, *A. pragensis* a *Aspergillus* sp. 2 je od sebe na mikroskopické úrovni těžké odlišit. Z těchto druhů je *Aspergillus* sp. 2 výjimečný svými delšími fialidami a metulami, a má také větší měchýřky než *A. taichungensis*. Některé fylogenetické metody podpořily oddělení „pop 6“ od *A. subalbidus*, nicméně nebyly pozorovány žádné specifické fenotypové znaky spojené s těmito kmeny, kterými by se odlišovaly od zbylých kmenů *A. subalbidus*. Některé metody podobně podpořily oddělení kmene DTO 266-G2 od *A. taichungensis*, ale u něho stejnětak nebyly pozorovány žádné unikátní znaky v porovnání se zbylými

kmeny tohoto druhu, kromě toho, že oproti nim produkoval výrazně menší množství žlutého pigmentu.

U některých druhů byly pozorovány značné odlišnosti v určitých mikroskopických znacích. Například kmen IMI 344489 produkoval větší konidie a kmen CBS 348.81 měl větší měchýřky než ostatní izoláty *A. campestris*, a kmen DTO 196-E4 měl výrazně větší stopky a měchýřky než ostatní izoláty *A. subalbidus*. Kmen CCF 4030 měl delší metuly a kmen CCF 3853 produkoval větší konidie než ostatní izoláty *A. tritici* (Obrázek 7). Nicméně, tyto morfologicky se odlišující kmeny nebyly ničím unikátní na molekulární a fylogenetické úrovni.

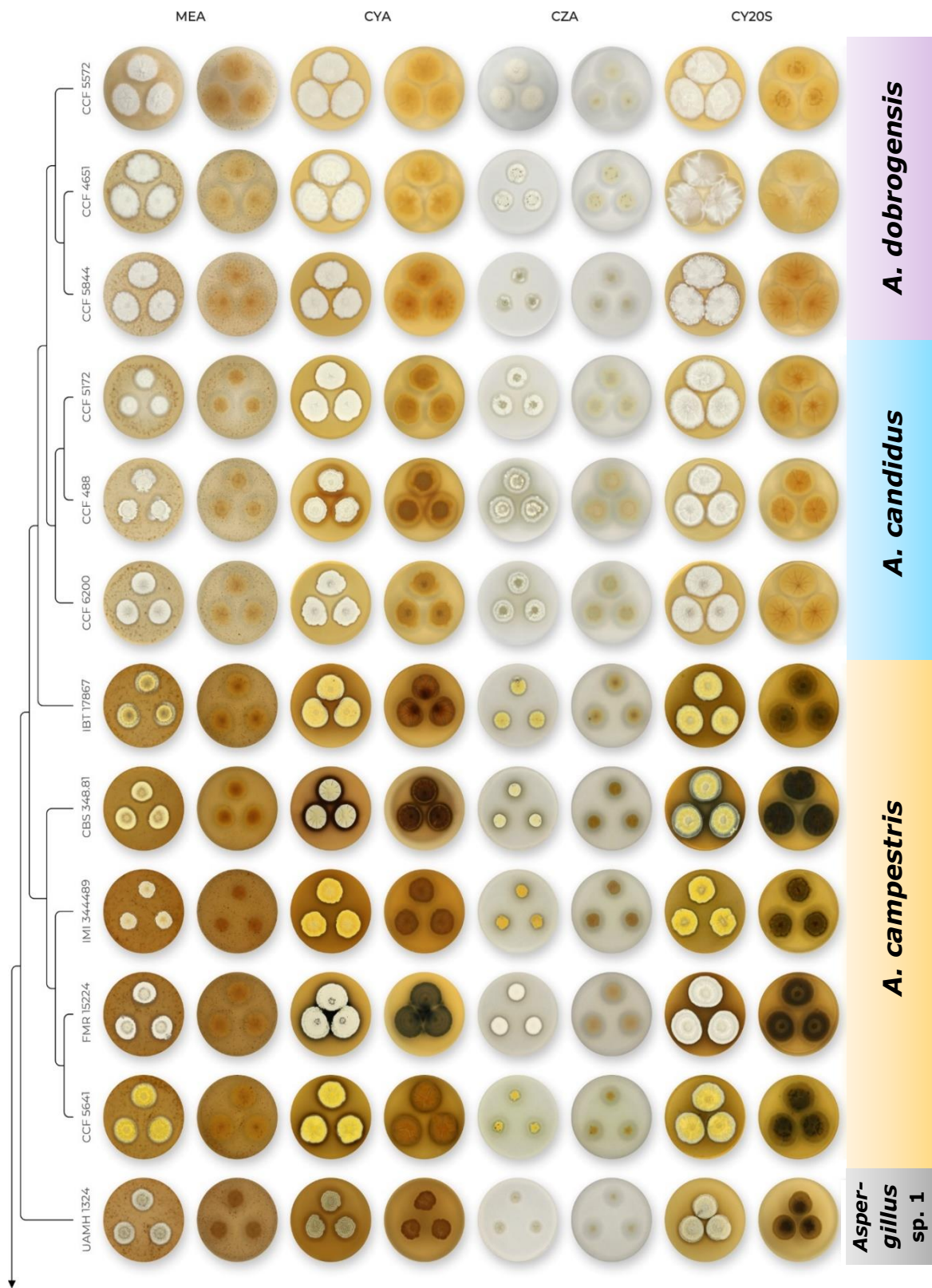
3.5.3 Fyziologie

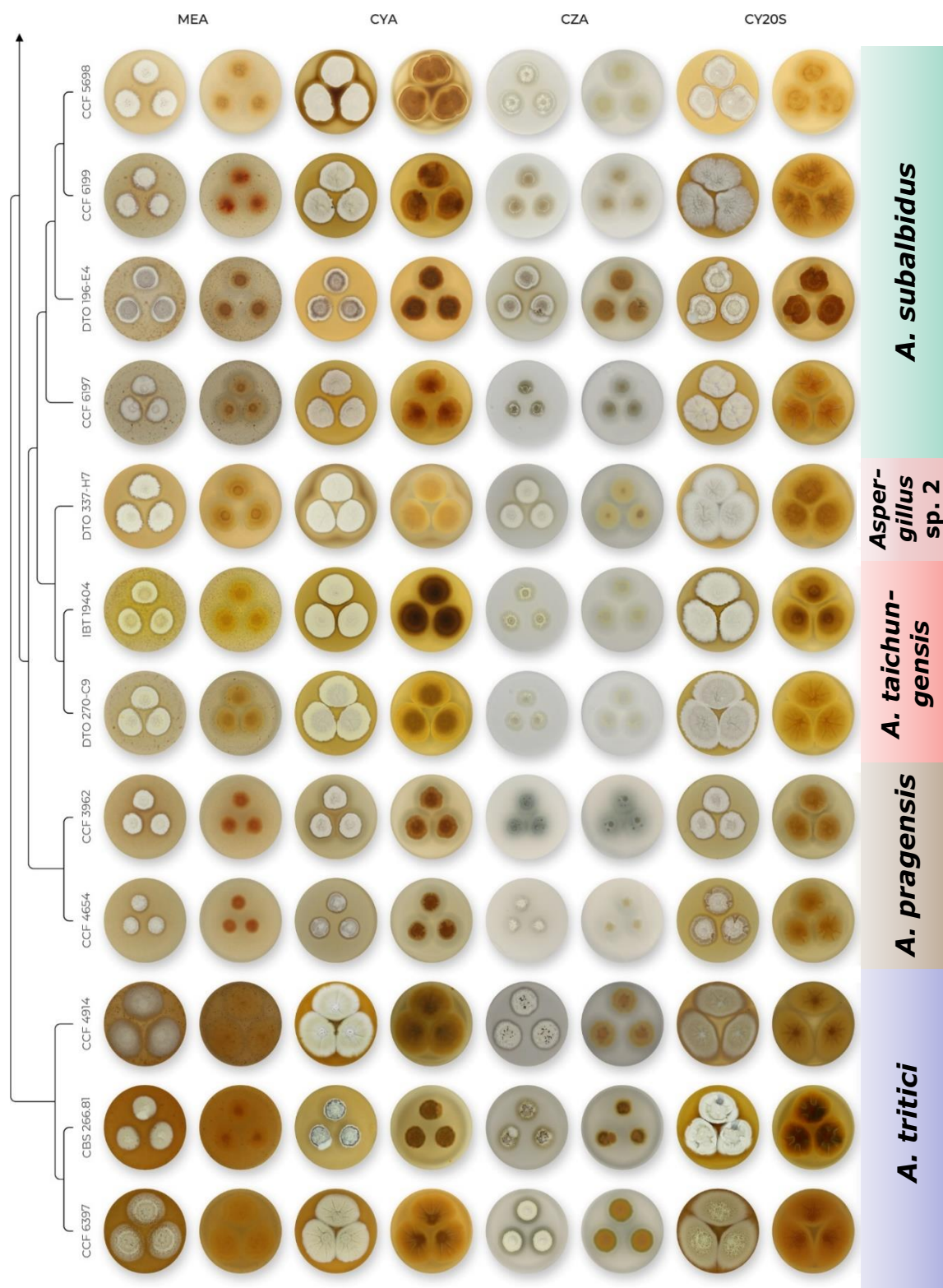
Teplotní profil růstu byl zjišťován na MEA v devíti různých teplotách v rozpětí 10 °C až 45 °C a jeho přehled je ukázán na Obrázku 8. Růstové křivky jednotlivých druhů jsou znázorněny na Obrázku 9. *Aspergillus tritici* je jediný druh, který není schopný růst nebo klíčit při teplotě 10 °C a jeho optimální teplota růstu je 30 °C. Všechny ostatní druhy mají teplotní optimum okolo 25 °C nebo nerostou rychleji při 30 °C v porovnání s růstem při 25 °C. Alespoň některé izoláty čtyř druhů (*A. tritici*, *A. subalbidus*, *A. taichungensis* a *Aspergillus* sp. 2) byly schopny růst při 37 °C. Všechny izoláty *A. taichungensis* a *A. tritici* byly schopny růst nebo klíčit při teplotě 40 °C. Neobvykle vysoká variabilita v maximální teplotě růstu byla pozorována u *A. campestris*, kde některé kmeny nebyly schopny růst při 30 °C (IBT 17867, IBT 23172), zatímco kmen CBS 348.81 rostl i při 35 °C. Podobná situace byla pozorována u *A. subalbidus*, kde byly jen některé kmeny schopny růst při 35 °C, a jen některé kmeny *A. subalbidus* a *Aspergillus* sp. 2 rostly při 37 °C.

Tabulka 1. Přehled vybraných makromorfologických znaků při 25 °C

Druh (počet testovaných kmenů)	Rozměr kolonií v mm po 7 dnech (průměr)				Rozměr kolonií v mm po 14 dnech (průměr)				Barva kolonií (CYA a MEA)	Pigment (je : není) ¹	Sklerocia (jsou : nejsou) ¹
	MEA	CYA	CZA	CY20S	MEA	CYA	CZA	CY20S			
<i>A. campestris</i> (7)	11–17 (15)	14–20 (17)	6–14 (9)	10–21 (18)	16–28 (24)	22–36 (28)	10–20 (16)	25–34 (30)	jasně žlutá, sírově žlutá, nažloutlá	7 : 0 (CZA > CYA > CY20S)	4 : 3 (CZA, CYA)
<i>A. candidus</i> (9)	12–17 (15)	15–21 (18)	9–15 (11)	16–25 (22)	20–27 (24)	20–32 (27)	16–25 (21)	25–45 (36)	bílá, nádech světle žluté	5 : 4 (CZA > CYA)	5 : 4 (CZA)
<i>A. dobrogensis</i> (10)	17–20 (19)	20–24 (21)	9–14 (10)	18–28 (24)	22–35 (29)	26–39 (32)	17–22 (19)	32–48 (41)	bílá, nádech světle žluté	0 : 10	2 : 8 (CZA > MEA, CYA, CY20S)
<i>A. pragensis</i> (5)	8–10 (9)	9–14 (12)	3–6 (5)	13–18 (15)	15–18 (16)	16–22 (20)	11–15 (12)	24–30 (27)	bílá	5 : 0 (CZA, CYA)	2 : 3 (CYA > MEA)
<i>A. subalbidus</i> (19)	11–17 (14)	14–24 (20)	8–18 (13)	18–27 (22)	18–30 (24)	24–42 (32)	16–26 (21)	24–45 (33)	bílá, nažloutlá, šedobéžová	12 : 7 (CYA > CZA)	7 : 12 (CZA > CYA > MEA > CY20S)
<i>A. taichungensis</i> (3)	16–18 (17)	22–28 (25)	10–12 (11)	28–31 (30)	25–29 (27)	33–43 (38)	19–21 (20)	40–51 (46)	pastelově žlutá	2 : 1 (CYA, MEA)	2 : 1 (CZA, CY20S)
<i>A. tritici</i> (11)	10–25 (18)	14–28 (22)	5–19 (12)	19–31 (27)	20–47 (31)	21–50 (38)	14–39 (25)	28–60 (51)	bílá, nažloutlá	6 : 5 (CZA)	4 : 7 (CZA)
<i>Aspergillus</i> sp. 1 (1)	12–14 (13)	12–14 (13)	4–6 (5)	13–15 (14)	20–22 (21)	16–17 (17)	11–13 (12)	19–20 (20)	šedožlutá, bledě žlutá	1 : 0 (CYA)	0 : 1
<i>Aspergillus</i> sp. 2 (3)	19–21 (20)	19–23 (21)	12–14 (13)	28–30 (29)	26–33 (30)	29–34 (31)	22–24 (23)	48–52 (50)	bílá, nažloutlá	3 : 0 (CYA, CZA)	2 : 1 (CZA)

¹Vyhodnoceno po 4 týdnech kultivace na MEA, CYA, CZA a CY20S; poměr znázorňuje počet kmenů produkujících a neprodukujících pigment/sklerocia z celkového počtu všech testovaných kmenů daného druhu. Podrobnosti týkající se produkce pigmentů a sklerocií jsou uvedeny v kapitole 4.





Obrázek 5. Přehled makromorfologických znaků (svrchní a spodní strana kolonií) zástupců sekce *Candidi* na čtyřech kultivačních médiích (MEA, CYA, CZ, CY20S) po 14 dnech při 25 °C. Makromorfologické znaky byly detailně vyhodnocovány celkem u 68 kmenů a na obrázku jsou vyobrazeny pouze unikátní znaky jednotlivých druhů. Více podrobností je uvedeno v Tabulce 1 a v kapitole 4.

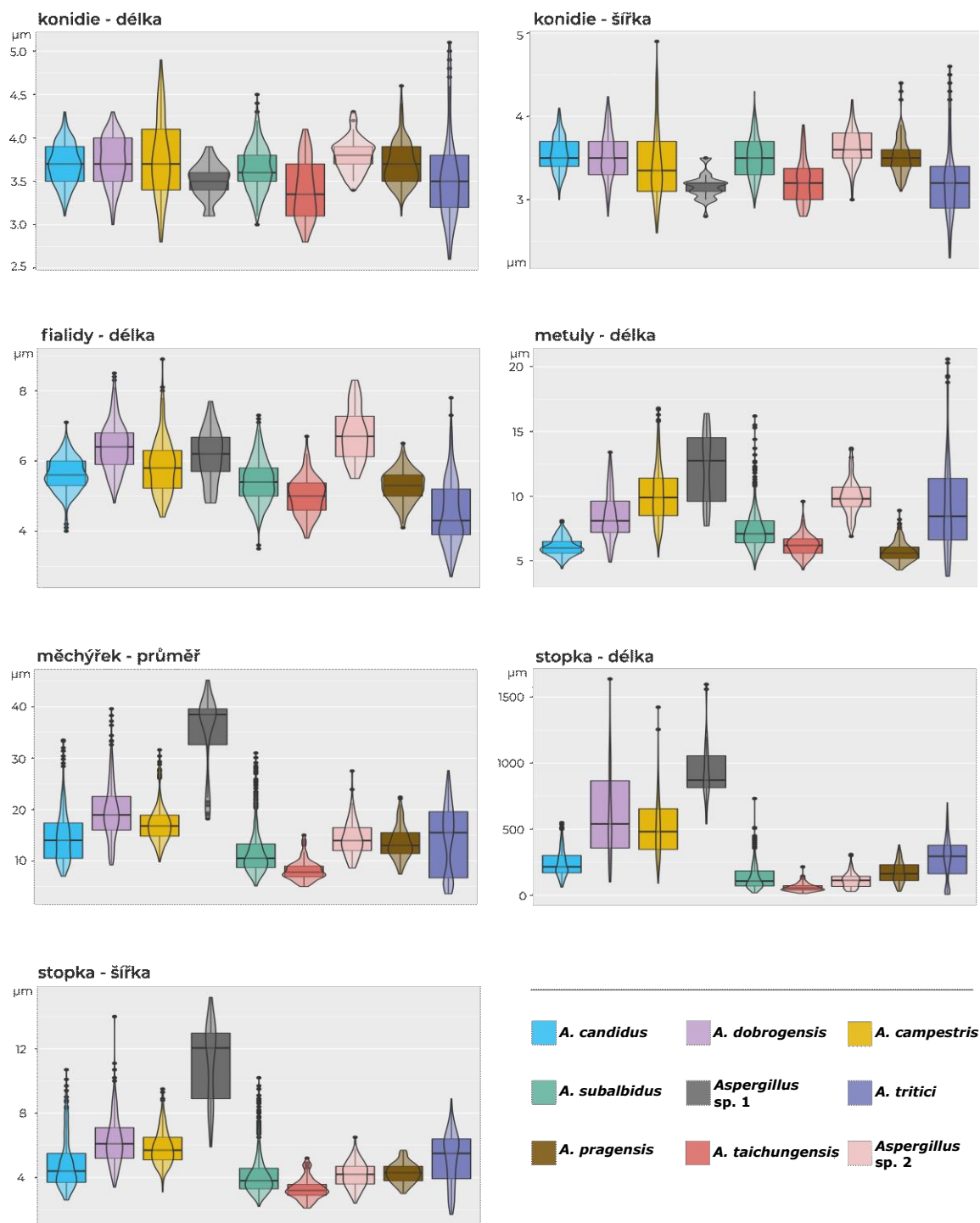
Tabulka 2. Přehled mikromorfologických znaků zástupců sekce *Candidi* ^{1,2}

Druh (počet testovaných kmenů)	Stopka		Délka metal; průměr ± sd	Délka filalid; mean ± sd	Rozměr měchyřku; průměr ± sd	Konidie (delší rozměr); průměr ± sd
	Délka; průměr ± sd	Šířka; průměr ± sd				
<i>A. campestris</i> (7)	(90-)250-850(-1300); 507 ± 217.5	(4-)5-7.5(-9); 5.9 ± 1.1	(7-)8-14(-17); 10.1 ± 2.3	(4.5-)5-7(-9); 5.9 ± 0.8	(10.5-)14-22(-31.5); 17.1 ± 3.7	(2.8-)3-4.5(-4.9); 3.8 ± 0.5
<i>A. candidus</i> (9)	(70-)125-400(-520); 242 ± 101.5	(2.5-)3.5-8.5(-9.5); 4.9 ± 1.6	(4.5-)5.5-7.5(-8); 6 ± 0.7	(4.5-)5-6.5(-7); 5.6 ± 0.5	(8-)10-23(-33); 14.7 ± 5.0	(3.1-)3.3-4(-4.3); 3.7 ± 0.2
<i>A. dobrogensis</i> (10)	(100-)150-1150(-2000); 609 ± 330.2	(3-)5-7(-14); 6.2 ± 1.5	(5-)5.5-12(-14); 8.4 ± 1.9	(5-)5.5-7.5(-8.5); 6.4 ± 0.7	(9-)10-30(-39.5); 19.6 ± 5.6	(3-)3.4-4.1(-4.3); 3.7 ± 0.3
<i>A. pragensis</i> (5)	(40-)110-260(-380); 175 ± 82.1	(3-)3.5-5(-6); 4.3 ± 0.6	(4-)5-6.5(-8); 5.7 ± 0.8	(4-)5-6(-6.5); 5.3 ± 0.4	(7-)10-17(-23); 13.6 ± 3.1	(3.1-)3.5-4(-4.6); 3.7 ± 0.3
<i>A. subalbatus</i> (19)	(20-)50-330(-730); 136 ± 91.0	(2.5-)3-8(-10); 4.2 ± 1.3	(4-)6-11(-16.5); 7.4 ± 1.5	(3.5-)4.5-6(-7.5); 5.4 ± 0.6	(5-)7-23(-31); 11.8 ± 4.7	(3-)3.2-4.2(-4.5); 3.7 ± 0.3
<i>A. taichungensis</i> (3)	(15-)40-90(-215); 60 ± 31.4	(2-)3-4(-5); 3.3 ± 0.7	(4-)5.5-7(-9.5); 6.2 ± 0.8	(3.5-)4.5-6.5(-7.5); 5.0 ± 0.5	(5-)7-11(-15); 8.2 ± 2.0	(2.8-)3-3.8(-4.1); 3.4 ± 0.3
<i>A. tritici</i> (9)	(140-)250-500(-700); 363 ± 109.7 ³	(3.5-)4-8(-9); 6.1 ± 1.0 ³	(4-)7-17(-21); 9.9 ± 3.3 ³	(2.5-)3.5-6(-8); 4.5 ± 0.9	(11-)14-24(-28); 18.4 ± 3.7 ³	(2.6-)3-4.6(-5.1); 3.5 ± 0.5
<i>Aspergillus sp. 1</i> (1)	(540-)810-1150(-1600); 945 ± 225.8	(6-)9-13(-16); 11.2 ± 2.4	(7.5-)9-14(-17); 12.1 ± 2.8	(4.5-)5.5-7(-8); 6.1 ± 0.8	(18-)33-49(-45); 34.8 ± 8.0	(3.2-)3.4-3.6(-3.8); 3.5 ± 0.2
<i>Aspergillus sp. 2</i> (3)	(30-)80-140(-310); 114 ± 57.9	(2.5-)3.5-5(-6.5); 4.2 ± 0.8	(7-)8-12(-14); 9.9 ± 1.3	(5.5-)6-7(-8.5); 6.7 ± 0.7	(8.5-)11-18(-27); 14.3 ± 3.4	(3.4-)3.6-3.9(-4.3); 3.8 ± 0.2

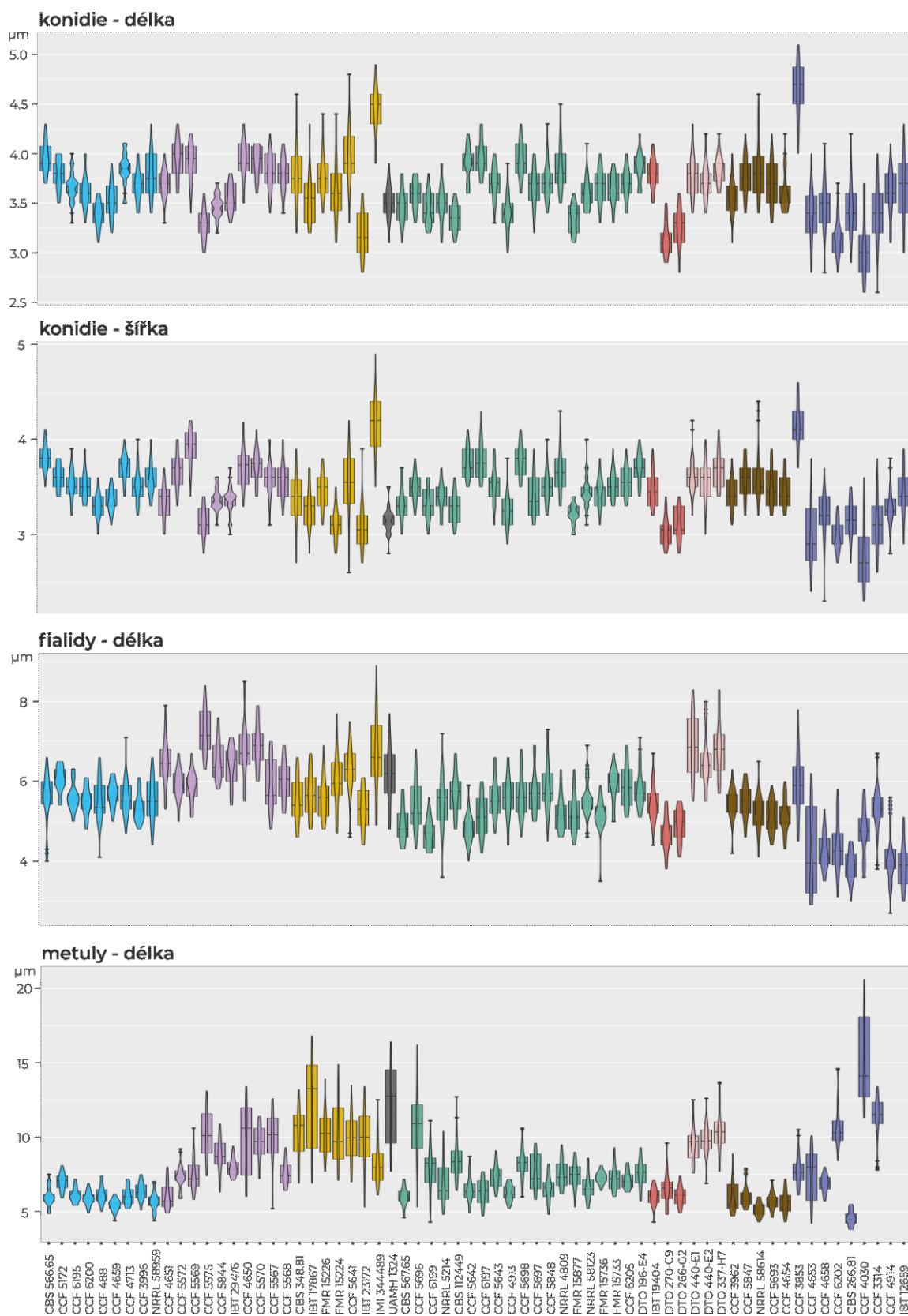
¹Měřeno po 1-3 týdnech kultivace na MEA při 25 °C

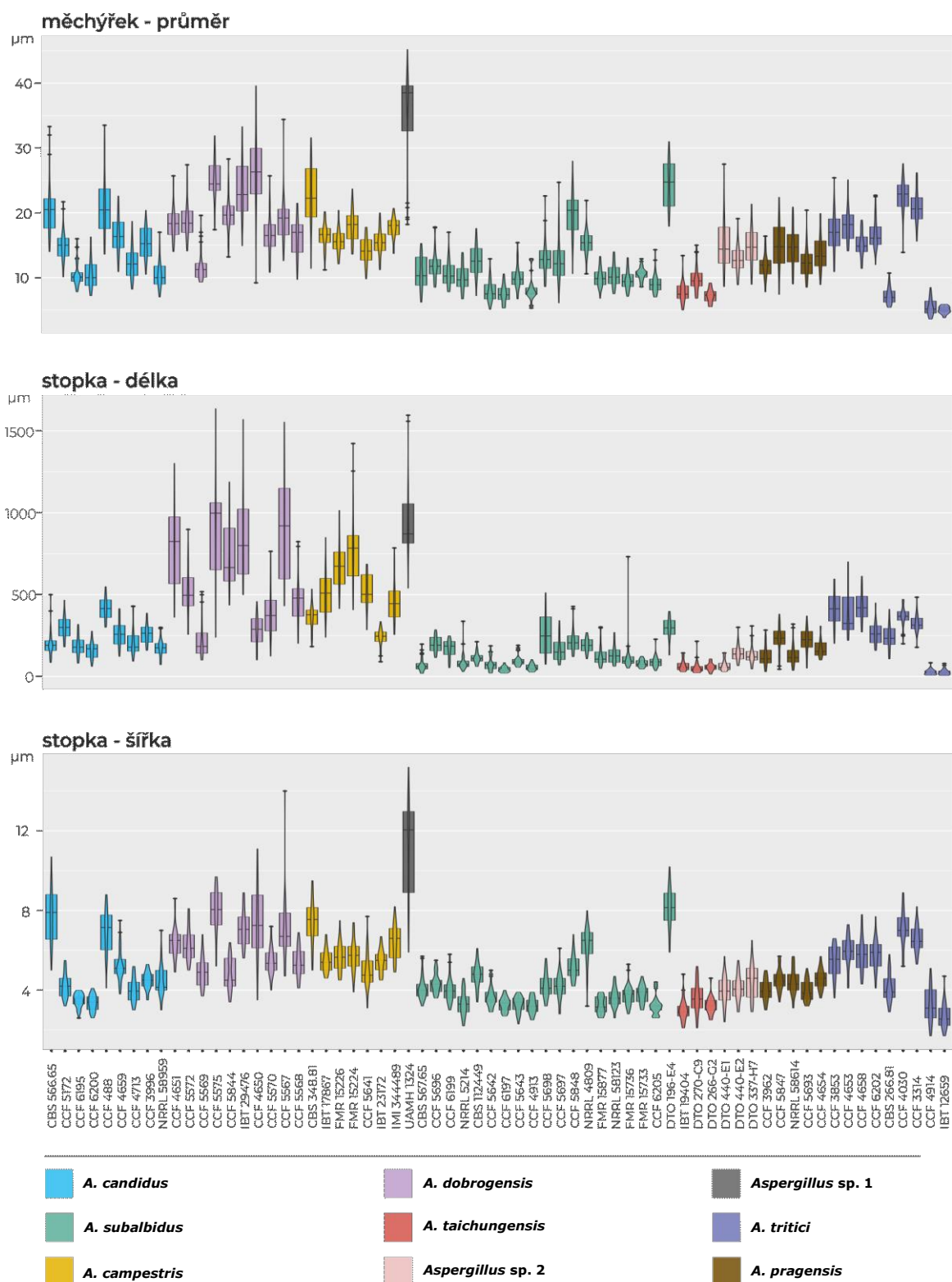
²Statistické porovnání mikromorfologických znaků mezi jednotlivými druhy je uvedeno v příloze v Tabulce P3

³Kmeny CCF 4914, IBT 12659 a CBS 266.81 byly vynechány, protože produkují krátké, uniseriální nebo atypické konidiofory
sd = směrodatná odchylka (standard deviation)

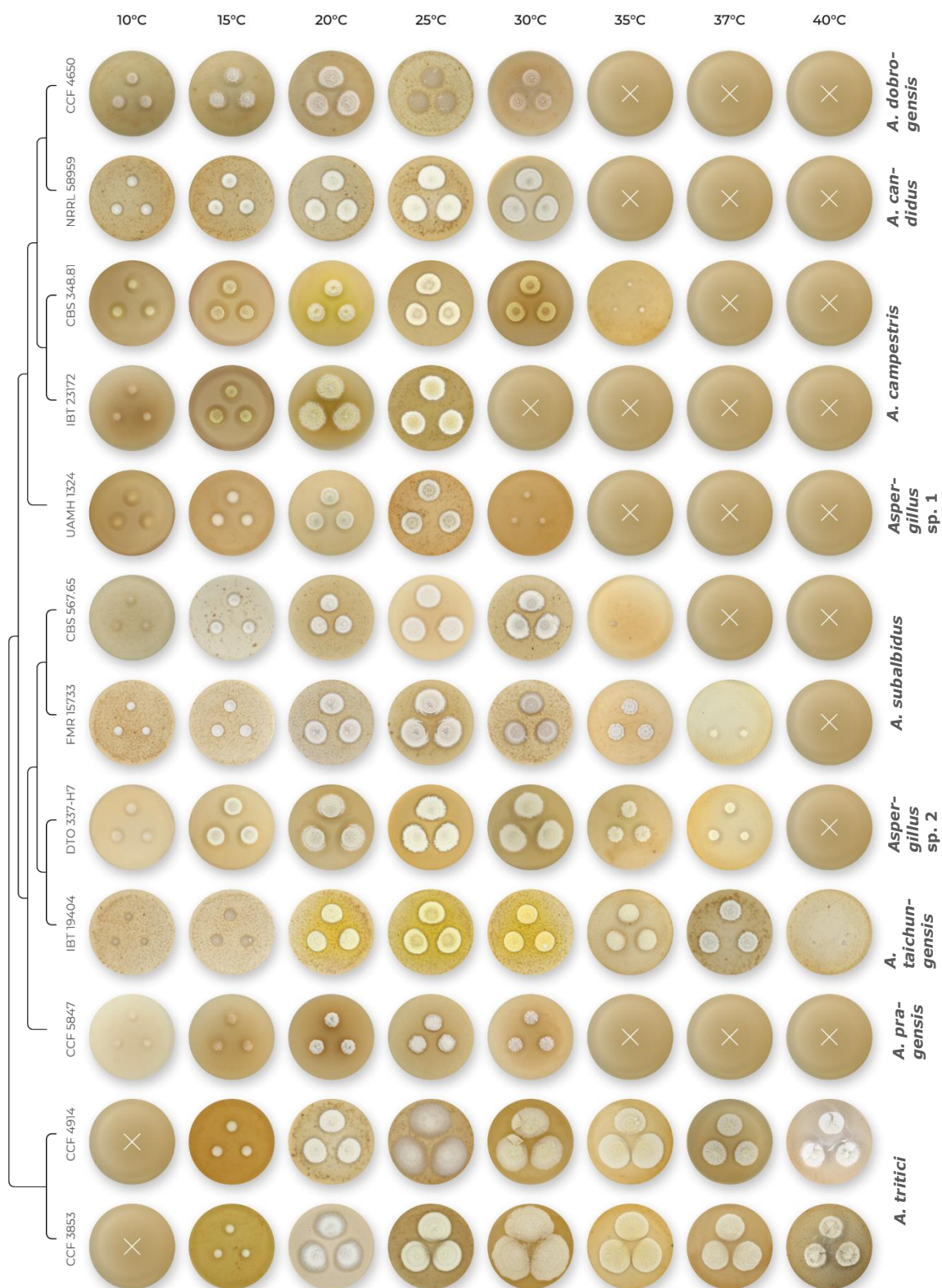


Obrázek 6. Přehled mikromorfologických znaků napříč druhy sekce *Candidi*. Boxploty znázorňují medián, mezikvartilové rozpětí, hodnoty v rozmezí ± 1.5 od mezikvartilového rozpětí (protáhlé části) a odlehlé hodnoty.





Obrázek 7. Podrobný přehled sedmi mikromorfologických znaků na úrovni jednotlivých kmenů. Boxploty znázorňují medián, mezikvartilové rozpětí, hodnoty v rozmezí ± 1.5 od mezikvartilového rozpětí (protáhlé části) a odlehlé hodnoty.



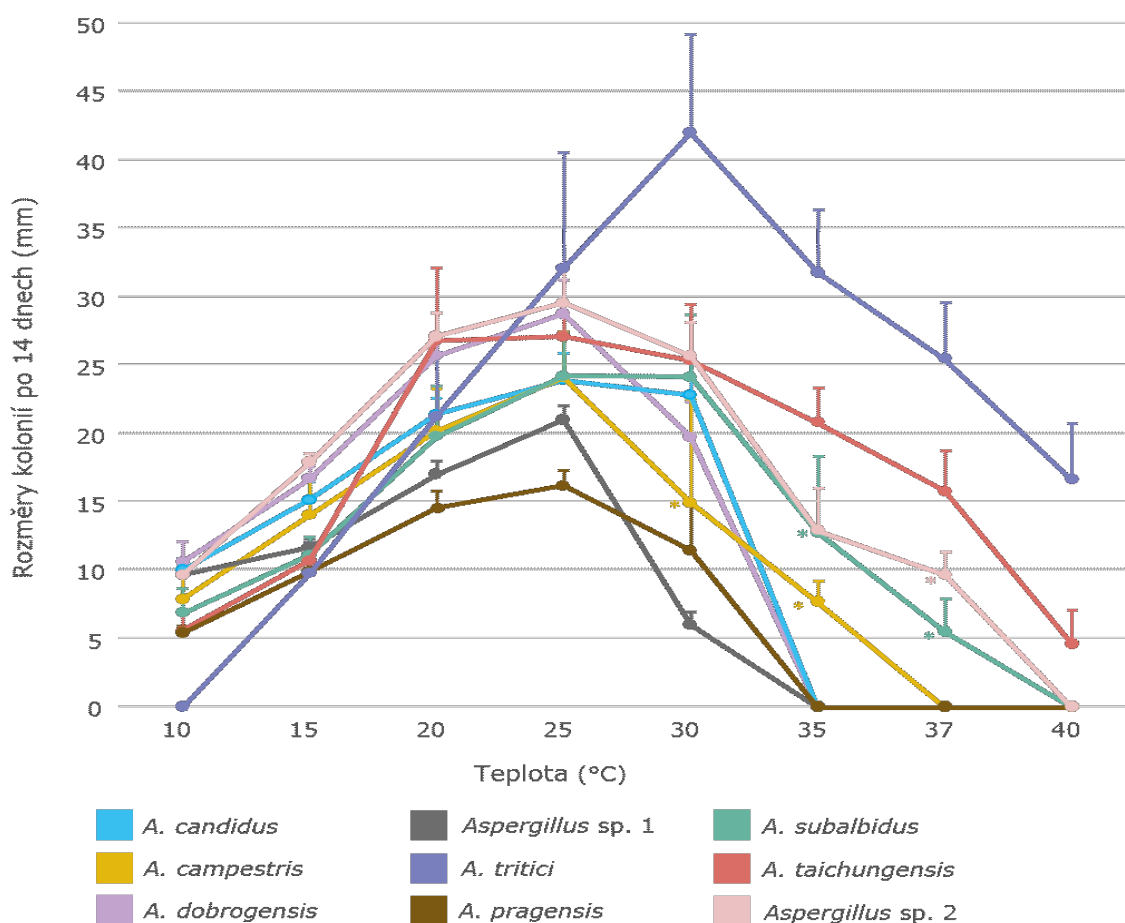
Obrázek 8. Teplotní profil růstu zástupců sekce *Candidi* po 14 dnech na MEA při teplotách od 10 °C do 40 °C. Fyziologické znaky byly detailně vyhodnocovány celkem u 52 kmenů a na obrázku jsou vyobrazeny pouze převládající znaky jednotlivých druhů. Více podrobností je uvedeno v Tabulce 3 a v kapitole 4.

Tabulka 3. Přehled růstových parametrů zástupců sekce *Candidi* v různých teplotách

Druh (počet testovaných kmenů)	Rozměry kolonií v mm po 14 dnech kultivace na MEA (průměr)							
	10 °C	15 °C	20 °C	25 °C	30 °C	35 °C	37 °C	40 °C
<i>A. campestris</i> (7)	4–10 (8)	10–17 (14)	15–26 (20)	16–28 (24)	0–22 (18) ¹	0–4 (3) ¹	—	—
<i>A. candidus</i> (5)	8–11 (10)	12–17 (15)	20–23 (21)	20–27 (24)	18–25 (23)	—	—	—
<i>A. dobrogensis</i> (6)	9–13 (11)	15–18 (17)	24–27 (26)	23–32 (29)	17–24 (20)	—	—	—
<i>A. pragensis</i> (5)	5–6 (5)	9–11 (10)	13–17 (15)	15–18 (16)	3–14 (11)	—	—	—
<i>A. subalbidus</i> (16)	3–9 (7)	9–14 (11)	15–30 (20)	18–30 (24)	9–29 (24)	0–22 (13) ¹	0–9 (6) ¹	—
<i>A. taichungensis</i> (3)	4–7 (6)	9–12 (11)	20–32 (27)	25–29 (27)	20–29 (25)	18–25 (21)	12–20 (16)	1–7 (5)
<i>A. tritici</i> (6)	—	4–13 (10)	11–26 (21)	23–47 (32)	32–51 (42)	30–42 (32)	18–33 (25)	4–22 (17)
<i>Aspergillus</i> sp. 1 (1)	9–10 (10)	11–12 (12)	16–18 (17)	20–22 (21)	5–7 (6)	—	—	—
<i>Aspergillus</i> sp. 2 (3)	9–11 (10)	17–19 (18)	25–29 (27)	26–33 (30)	22–29 (26)	8–16 (13)	0–12 (10) ¹	—

¹Průměr byl vypočítán pouze z nenulových hodnot. Podrobnější informace jsou uvedeny v kapitole 4.

„—“ neroste



Obrázek 9. Teplotní profil růstu zástupců sekce *Candidi* po 14 dnech v teplotách od 10 °C do 40 °C. Body na křivkách znázorňují průměr a krátké úsečky znázorňují směrodatnou odchylku. Pokud se izoláty jednoho druhu lišily maximálními teplotami růstu, tak byl průměr vypočítán pouze z nenulových hodnot. Tyto případy jsou v obrázku označeny hvězdičkou.

Tabulka 4. Podpora vymezení jednotlivých druhů/populací s využitím integrativního přístupu začleňujícího čtyři hlavní komponenty

Testovaný kmen/populace	Podpora čtyř vyhodnocovaných komponentů				Celková podpora (3–4/4)
	GCPSR	STACEY ¹	Jednogenové MSC metody ²	Morfologie / fyziologie	
<i>A. campestris</i>	NE	ANO (2/2)	ANO (12/18)	ANO	ANO
<i>A. candidus</i>	ANO	ANO (1/2)	NE (7/18)	X	?
<i>A. dobrogensis</i>	ANO	ANO (1/2)	NE (7/18)	X	?
<i>A. pragensis</i>	ANO	ANO (2/2)	ANO (17/18)	ANO	ANO
<i>A. subalbidus</i>	ANO	ANO (1/2)	ANO (17/18)	ANO	ANO
oddělení CCF 6199 a CCF 5642 od <i>A. subalbidus</i>	NE	ANO (1/2)	ANO (9/18)	NE	NE
<i>Aspergillus</i> sp. 3 DTO 244-F1	X	ANO (2/2)	ANO (11/18)	X	?
<i>A. taichungensis</i>	ANO	ANO (2/2)	ANO (13/18)	ANO	ANO
<i>A. tritici</i>	ANO	ANO (2/2)	ANO (18/18)	ANO	ANO
oddělení DTO 266-G2 od <i>A. taichungensis</i>	NE	NE (0/2)	ANO (10/18)	NE	NE
<i>Aspergillus</i> sp. 1	X	ANO (2/2)	ANO (17/18)	ANO	ANO
<i>Aspergillus</i> sp. 2	ANO	ANO (2/2)	ANO (13/18)	ANO	ANO

MCS – metody založené na modelu mnohadruhové koalescence (multispecies coalescent model-based methods)

X – nedostupná nebo nevyhodnotitelná data (kmen DTO 244-F1 byl ve sbírce DTO definitivně ztracen a nemohl být použit v analýze fenotypu; druhy/populace reprezentované jen jedním kmenem nemohou být vyhodnoceny s pomocí přístupu GCPSR; část izolátů *A. dobrogensis* a *A. candidus* je morfologicky nerozlišitelná – viz kapitoly 3.5, 4 a 5.1)

¹podpora alespoň jednoho ze dvou nejpravděpodobnějších scénářů s hodnotami parametru *collapseheight* 0,007 a 0,01 (Obrázek 3)

²podpora většiny jednogenových metod (vymezení druhu v jeho přesné formě nebo rozdělení do více menších skupin, ale nesmí být sloučen s příbuznými druhy/populacemi)

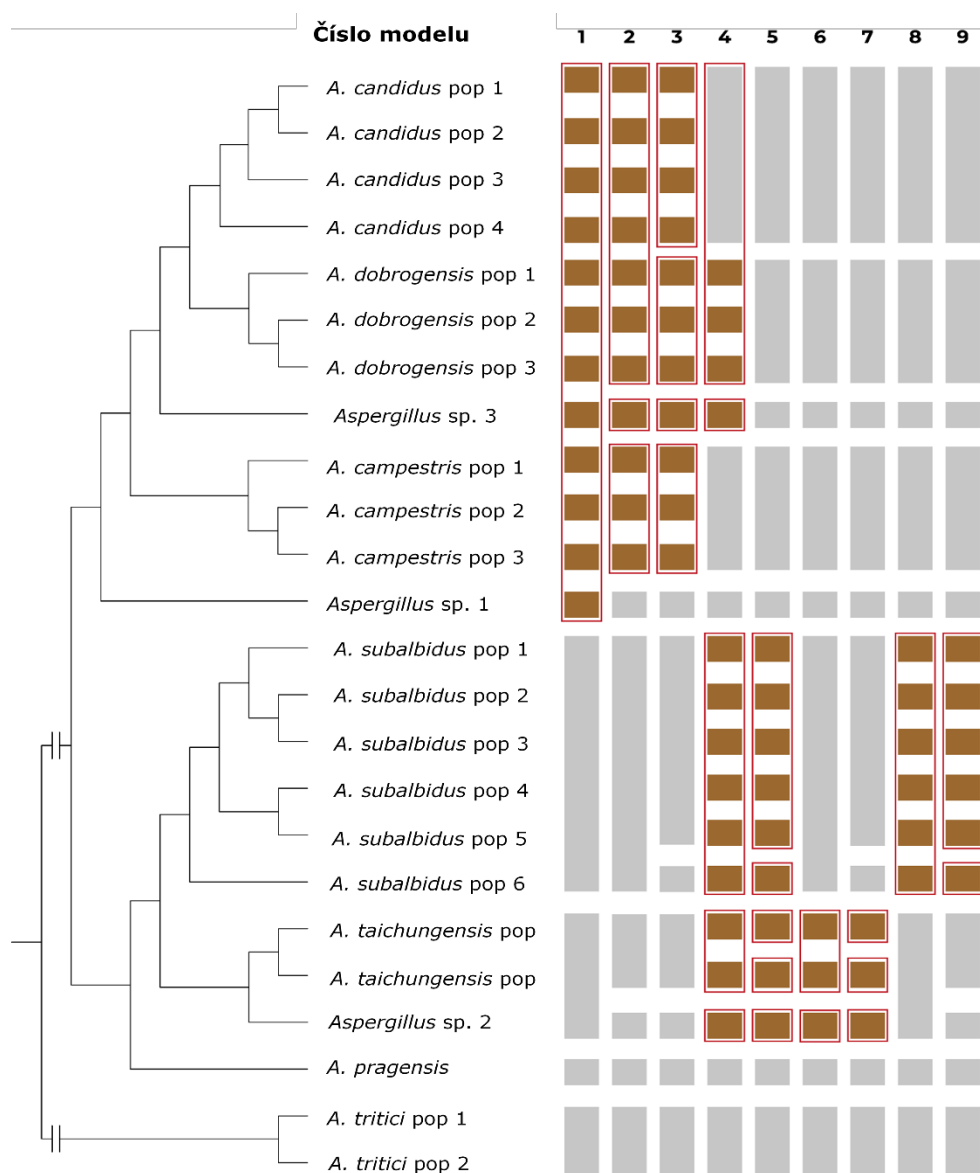
3.6 Validace druhů s použitím softwaru DELINEATE

Hypotézy o druhových hranicích byly nezávisle testovány pomocí softwaru DELINEATE, který ale nebyl přímo zahrnut do integrativního přístupu sestávajícího ze 4 komponent (viz výše). Pro analýzu bylo nastaveno devět modelů a výsledky jsou shrnuty na Obrázku 10. Jednotlivé populace druhů byly buď přiřazeny do druhů na základě převládajících výsledků z MSC metod (šedé sloupce), nebo nebyly přiřazeny a zůstaly volně k vymezení (hnědé sloupce). Zařazení kmenů do jednotlivých populací podle analýzy v softwaru BPP je uvedeno v příloze v Tabulce P4.

První model nechal všechny populace *A. candidus*, *A. dobrogensis*, *A. campestris*, *Aspergillus* sp. 1 a *Aspergillus* sp. 3 nepřirazené do druhu a všechny ostatní druhy byly definovány v jejich nejširším konceptu, což znamená, že všechny populace *A. subalbidus* tvořily jeden druh a *A. taichungensis* byl sloučen s *Aspergillus* sp. 2. Při tomto nastavení byly všechny volné populace sloučeny do jednoho druhu (*A. candidus* + *A. dobrogensis* + *A. campestris* + *Aspergillus* sp. 1 + *Aspergillus* sp. 3). Druhý model se od prvního lišil tím, že byl *Aspergillus* sp. 1 definován jako druh a *Aspergillus* sp. 2 byl oddělen od *A. taichungensis*. Při tomto nastavení byly *A. campestris* a *Aspergillus* sp. 3 rozlišeny jako samostatné druhy, zatímco *A. candidus* a *A. dobrogensis* zůstaly sloučeny dohromady. Ve třetím modelu byla „pop 6“ *A. subalbidus* (izoláty CCF 5642 a CF 6197) definována jako samostatný druh. Při tomto nastavení byly oproti druhému modelu *A. candidus* a *A. dobrogensis* podpořeny jako samostatné druhy. Ve čtvrtém modelu byly populace *A. dobrogensis*, *Aspergillus* sp. 3, *A. subalbidus*, *A. taichungensis* a *Aspergillus* sp. 2 volně ponechány k vymezení druhových hranic a ostatní druhy byly definovány v jejich obvyklých hranicích. V tomto modelu byl *A. subalbidus* rozeznán jako samostatný druh, *Aspergillus* sp. 2 byl oddělen od *A. taichungensis* a *A. dobrogensis* byl sloučen s *A. candidus*.

Zbylé modely byly zaměřeny na delimitaci druhů v kladu zahrnujícím *A. subalbidus*, *A. taichungensis* a *Aspergillus* sp. 2. Ve všech těchto modelech byl *A. dobrogensis* definován jako samostatný druh a všechny ostatní druhy byly vymezeny v rámci jejich běžných hranic. V pátém modelu zůstaly všechny populace *A. subalbidus*, *A. taichungensis* a *Aspergillus* sp. 2 nepřirazené do druhu. Při tomto nastavení byla populace *A. subalbidus* „pop 6“ oddělena od *A. subalbidus*, *Aspergillus* sp. 2 byl oddělen od *A. taichungensis* a *A. taichungensis* byl rozdělen na dva druhy. V šestém a sedmém modelu zůstaly populace *A. taichungensis* a *Aspergillus* sp. 2 jako jediné nepřirazené do druhu.

V šestém modelu byl *Aspergillus subalbidus* definován jako jeden druh a v sedmém modelu jako dva druhy („pop 6“ byla oddělena). V obou případech byl *Aspergillus* sp. 2 určen jako samostatný druh, zatímco *A. taichungensis* byl v sedmém modelu rozdělen na dva druhy. V posledních dvou modelech zůstaly volně k vymezení jen populace *A. subalbidus*. Když byly v osmém modelu *A. taichungensis* a *Aspergillus* sp. 2 definovány jako jeden druh, tak *A. subalbidus* zahrnoval i „pop 6“. Kdežto v devátém modelu, kde byly *A. taichungensis* i *Aspergillus* sp. 2 oba definovány jako samostatné druhy, tak byla „pop 6“ od *A. subalbidus* oddělena a rozeznána jako samostatný druh.



Obrázek 10. Výsledky vymezení druhů s použitím softwaru DELINEATE. Bylo nastaveno devět modelů druhových hranic následně a testováno. Hnědé sloupce znázorňují populace, které nebyly přiřazeny do druhu a zůstaly volně k vymezení, a šedé sloupce znázorňují předem definované druhy. Výsledné řešení navržené pomocí DELINEATE je znázorněno červenými rámečky okolo sloupců. Populace jednotlivých druhů byly vymezeny pomocí softwaru BPP a fylogenetický strom byl vypočítán programem starBEAST. Rozdělení jednotlivých kmenů do populací druhů je uvedeno v příloze v Tabulce P4.

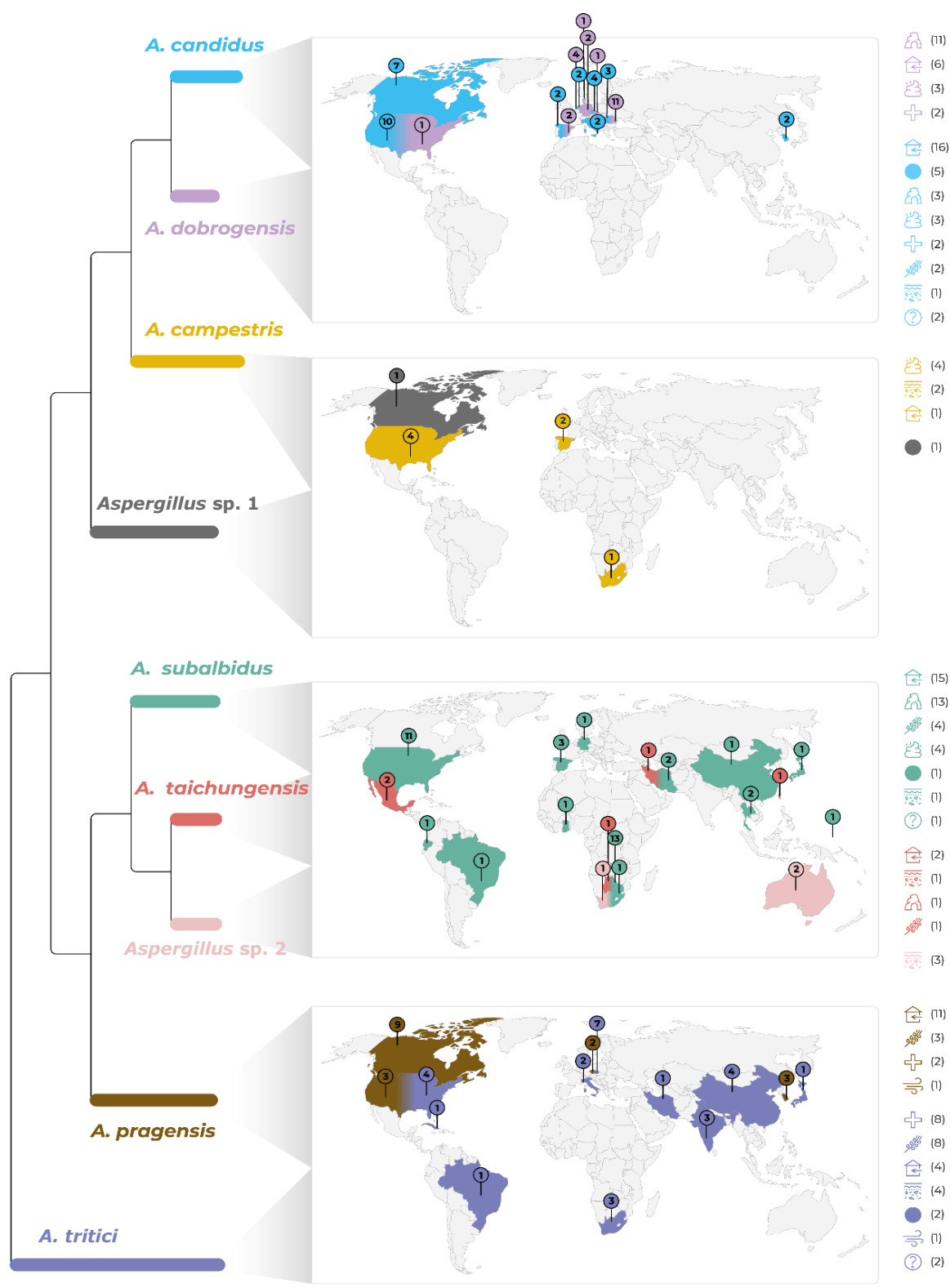
3.7 Ekologie

Geografické rozšíření a substrátové preference zástupců sekce *Candidi* byly zjištěny následujícím způsobem: Z databáze GenBank byly staženy všechny sekvence (a s nimi spojená data) genů *benA*, *CaM* a *RPB2* dostupné k datu 20. 2. 2022, a následně byly analyzovány společně se sekvencemi použitými v této studii (Tabulky P1 a P5 v příloze). Poté byl vytvořen konkatenovaný fylogenetický strom (Obrázek P1 v příloze), určeny druhové hranice, a nakonec byla ekologická data zobrazena ve formě mapy kombinované s fylogenezí (Obrázek 11). Přestože existuje řada dalších záznamů o výskytu členů sekce *Candidi*, tak byly v této studii použity pouze údaje s přesnou identifikací, která byla ověřena sekvenováním alespoň jednoho ze tří výše uvedených DNA variabilních markerů. Všechny tyto geny dovedou devět rozeznávaných druhů spolehlivě identifikovat (Obrázek 2).

Osm z devíti druhů (všechny kromě *Aspergillus* sp. 2) bylo nalezeno v Severní Americe, odkud bylo shromážděno 52 záznamů, následovala Evropa s 51 záznamy reprezentujícími sedm druhů (všechny kromě *Aspergillus* sp. 1 a *Aspergillus* sp. 2). *Aspergillus tritici* a *A. subalbidus* byly geograficky nejrozšířenějšími druhy v našem souboru dat a oba se vyskytovaly na pěti světadílech. Nejvíce zasoupeným a druhově nejrozmanitějším stanovištěm zástupců sekce *Candidi* je vnitřní prostředí budov, kde bylo nalezeno sedm z devíti druhů (55 záznamů) a chyběly pouze druhy *Aspergillus* sp. 1 a *Aspergillus* sp. 2. Čtyři druhy, *A. dobrogensis*, *A. candidus*, *A. subalbidus* a *A. taichungensis*, byly izolovány z jeskynního prostředí (28 záznamů). Mezi druhy pocházející z potravin (19 záznamů) patřily *A. tritici*, *A. candidus*, *A. subalbidus*, *A. pragensis* a *A. taichungensis*. Čtyři druhy jsou známy jako koprofilní (14 záznamů), a sice *A. campestris*, *A. candidus*, *A. dobrogensis* a *A. subalbidus*. Klinické izoláty (14 záznamů) patřily většinou do druhu *A. tritici* ($n = 8$) a zbývající kmeny náležely druhům *A. pragensis*, *A. dobrogensis* a *A. candidus*. V půdě bylo nalezeno šest druhů (12 záznamů), konkrétně *A. candidus*, *A. campestris*, *A. subalbidus*, *A. tritici*, *A. taichungensis* a *Aspergillus* sp. 2. Z venkovního ovzduší byly izolovány pouze dva kmeny náležící druhům *A. tritici* a *A. pragensis*.

Několik kmenů bylo izolováno ze specifických substrátů, jako například vermikompost, chodby kůrovců, kovové potrubí, potěr ryb, stelivo nebo myš. Tyto substráty byly v Obrázku 11 skórovány jako „jiné“.

Na základě počtu kmenů zahrnutých do této studie a počtu sekvencí uložených v databázi GenBank se zdá předpokládat, že *A. candidus* a *A. subalbidus* jsou nejčastěji se vyskytujícími druhy této sekce. Ani jeden z druhů, které byly zastoupeny větším počtem kmenů, se nezdá být substrátově specifický nebo geograficky omezený, nicméně u některých druhů zřejmě existovaly preferované substráty/prostředí výskytu, například trus u *A. campestris*.



Obrázek 11. Geografická distribuce zástupců sekce *Candidi* založená na sekvencích genů *benA*, *CaM* a *RPB2*, které byly použity v této studii a které byly dostupné v databázi GenBank k datu 20. 2. 2022. Přístupová čísla k sekvencím jsou uvedena v příloze v Tabulkách P1 a P5. Čísla v ukazatelích polohy a vedle ikon substrátů odpovídají celkovému počtu spolehlivě identifikovaných kmenů hlášených z konkrétní země/substrátu.

4. Popisy druhů sekce *Candidi*

Aspergillus campestris M. Chr., Mycologia 74: 212. 1982. MycoBank MB110495. Obrázek 12.

Typus: NY ST 2–3–1 (katalogové číslo 00936735). Ex-typová kultura: CBS 348.81 = NRRL 13001 = IBT 13382 = IBT 28561 = IMI 259009 = ATCC 44563 = IFM 50931 = CCF 5596.

Rozměry kolonií, 25 °C, 7 d / 14 d (mm): MEA: 11–17 / 16–28; CYA: 14–20 / 22–36; CZA: 6–14 / 10–20; CY20S: 10–21 / 25–34.

Charakteristika kolonií (po 2 týdnech ve 25 °C): Kolonie na MEA v různých odstínech světle žluté (2A3, 3A5, 2A2), nebo šedo-žluté (4B4) s bledě žlutými okraji (2A3), ploché, granulární nebo flokózní, hojně sporulující, okraje celistvé, bez produkce exsudátu a pigmentu, spodní strana světle žlutá (4A5), žlutá (3A6), nebo šedo-žlutá (4B5). Kolonie na CYA v různých odstínech světle žluté (3A2, 3A3, 3A5) nebo žluto-šedé (4B2) s bledě žlutými okraji (2A3), ploché nebo uprostřed vyvýšené, obvykle radiálně vrásčité, granulární nebo flokózní, hojně sporulující, okraje celistvé nebo jemně zvlněné, spodní strana žluto-hnědá (5D5), šedo-žlutá (4B5), oranžovo-hnědá (5C5) nebo tmavě plavá (5D4), bez produkce exsudátu, u některých kmenů po 4 týdnech produkce tmavě hnědého pigmentu lišícího se intenzitou a místem: 4–5 mm široké koncentrické kruhy okolo kolonií u kmenů CBS 348.81 a CCF 5641; 1–3 mm široké kruhy okolo kolonií u kmenů FMR 15226 a IMI 344489; nebo pigment lokalizovaný v oblasti uprostřed mezi koloniemi u kmene FMR 15224. Kolonie na CZA nažloutlé (3A2), žluté (3A6) nebo světle žluté (2A5), ploché, granulární nebo flokózní, hojně sporulující, okraje celistvé nebo nepravidelné, spodní strana bledě žlutá (3A3), světle žlutá (3A5) nebo šedo-žlutá (3B5), bez produkce exsudátu, u některých kmenů po 4 týdnech produkce pigmentu: tmavě hnědý až černý pigment u kmenů CBS 348.81, FMR 15224 a IMI 344489 (3–5 mm široké kruhy okolo kolonií), tmavě zelený až černý pigment u kmene FMR 15226 (6–7 mm široké kruhy okolo kolonií) a hnědý u kmenů IBT 17867, FMR 15224, IBT 23172 (2 mm široké kruhy okolo kolonií). Kolonie na CY20S v různých odstínech žluté (3A2, 3A3, 3A4) s modro-šedými okraji (23D2), ploché, uprostřed vyvýšené nebo umbonátní, flokózní, granulární nebo chmýřité, hojně sporulující, okraje celistvé, méně často zvlněné nebo nepravidelné, spodní strana olivová (2E5), olivově žlutá (3C8) nebo

žluto-hnědá (5E4) s šedo-žlutými okraji (3B5, 4B4), bez produkce exsudátu, u některých kmenů po 4 týdnech produkce pigmentu: tmavě zelený až černý u kmene CBS 348.81 (3 mm široké koncentrické kruhy okolo kolonií), tmavě hnědý až černý u kmene FMR 15224 (5 mm široké koncentrické kruhy okolo kolonií), a hnědý u kmenů IBT 17867 a CCF 5641 (jen v oblasti styku kolonií).

Teplotní profil růstu (po 2 týdnech na MEA): *Aspergillus campestris* roste při teplotě 10 °C (4–10 mm) a optimální teplota růstu je 25 °C (16–28 mm). Některé kmeny nerostly a nebo jen slabě klíčily při 30 °C (IBT 17867, IBT 23172), zatímco všechny ostatní kmeny při této teplotě rostly dobře (12–22 mm). Jediný kmen schopný růstu při 35 °C byl CBS 348.81 (3–4 mm). Neroste při 37 °C.

Mikromorfologie: Konidiální hlavice radiální, biseriální. Redukované („diminutive“) konidiofory přítomny jen zřídka. Stopky (vyjma redukovaných) hyalinní, hladkostěnné, příležitostně jemně zdrsňené, u kmene CBS 348.81 zvlněné, většinou neseptované, (90–)250–850(–1300) × (4–)5–7,5(–9) μm, měchýřky kulovité nebo oválné, (10,5–)14–22(–31,5) μm široké, metuly cylindrického nebo klínovitého tvaru, (7–)8–14(–17) μm dlouhé, pokrývající tři čtvrtiny až celý povrch měchýřku, fialidy lahvicovitého tvaru, (4,5–)5–7(–9) μm dlouhé. Konidie většinou oválné až kulovité, někdy vejčitého či citronovitého tvaru, (2,8–)3–4,5(–4,8) (3,6 ± 0,4 μm) × (2,6–)2,9–3,8(–4,2) (3,3 ± 0,3 μm), hladkostěnné, zřídka jemně zdrsňené. Kmen IMI 344489 má delší a širší konidie, oválné nebo vejčité, (3,9–)4,3–4,6(–4,9) (4,4 ± 0,3 μm) × (3,5–)4–4,4(–4,9) (4,2 ± 0,3 μm). Rozměry konidií všech kmenů (zahrnujících kmen IMI 344489) jsou (2,8–)3–4,5(–4,9) (3,8 ± 0,5 μm) × (2,6–)2,9–4,4(–4,9) (3,4 ± 0,4 μm). Produkce sklerocií byla omezena na média CZA (IBT 17867, CCF 5641) a CYA (FMR 15224), kde byla po 4 týdnech na povrchu kolonií pozorována tmavě šedá a tmavě hnědá až černá sklerocia. Sklerocia nebyla pozorována na žádném médiu u kmenů CBS 348.81, IBT 23172 a IMI 344489, a taktéž se u žádného ze zkoumaných kmenů netvořila na MEA a CY20S.

Odlišující znaky: *Aspergillus campestris* je nejbližší příbuzný *A. candidus*, *A. dobrogensis* a *Aspergillus* sp. 1. Izoláty *A. campestris* mohou být snadno odlišeny od ostatních zástupců sekce *Candidi* díky jejich jasně žlutým koloniím (Obrázek 5). Konidiofory *Aspergillus* sp. 1 mají delší a širší stopky a širší měchýřky v porovnání s *A. campestris*, zatímco stopky *A. candidus* bývají kratší. V porovnání s *A. dobrogensis* produkují izoláty *A. campestris* tmavý pigment a rostou pomaleji na všech kultivačních médiích. Zbývající

druhy v sekci *Candidi*, jmenovitě *A. tritici*, *A. pragensis*, *A. taichungensis*, *Aspergillus* sp. 2 a *A. subalbidus*, mají kratší stopky než *A. campestris*. Kromě *A. tritici* mají tyto druhy také užší stopky a menší měchýřky (Tabulka 2, Obrázek 6). *Aspergillus campestris* roste na všech médiích pomaleji než *A. taichungensis*, *Aspergillus* sp. 2 a *A. tritici*, ale rychleji než *A. pragensis* (Tabulka 1). V neposlední řadě, většina kmenů *A. subalbidus*, *A. taichungensis*, *Aspergillus* sp. 2 a *A. tritici* roste při 35 °C nebo i při vyšších teplotách (Tabulka 3) na rozdíl od *A. campestris*, u něhož byl jen jediný kmen (CBS 348.81) schopný růstu při 35 °C.

Ekologie (pouze záznamy ověřené DNA sekvenací): Výskyt *Aspergillus campestris* byl zaznamenán na trusu herbivorů, myši a králíků, dále v ovzduší budov a půdě. Druh je znám z Jihoafrické republiky, Španělska a USA (Obrázek 11, Tabulka P1).

Aspergillus candidus Link, Mag. Gesell. Naturf. Freunde, Berlin 3(1-2): 16. 1809. MycoBank MB204868. Obrázek 13.

Typus: CBS H-566.65. Ex-typová kultura: CBS 566.65 = NRRL 303 = IMI 091889 = ATCC 1002 = IBT 28566 = CCF 5594.

Rozměry kolonií, 25 °C, 7 d / 14 d (mm): MEA: 12–17 / 20–27; CYA: 15–21 / 20–32; CZA: 9–15 / 16–25; CY20S: 16–25 / 25–45.

Charakteristika kolonií (po 2 týdnech ve 25 °C): Kolonie na MEA bílé (3A1) až mírně nažloutlé (4A2), ploché, granulární až flokózní, hojně sporulující, okraje celistvé, bez produkce exsudátu a pigmentu, spodní strana v různých odstínech světle žluté (4A4, 4A3). Kolonie na CYA bílé (3A1) až mírně nažloutlé (4A2) nebo oranžovo-bílé (5A2), ploché nebo uprostřed mírně vyvýšené, granulární až flokózní, hojně sporulující, okraje celistvé nebo mírně zvlněné, bez produkce exsudátu, pigment produkovaný do média některými kmeny (viz níže), spodní strana světle žlutá (4A5) nebo hnědo-oranžová (5C3). Kolonie na CZA bílé (3A1) až bledě žluté (1A3, 3A3), ploché, voskovité až granulární, sporulace slabá a nepravidelně lokalizovaná, okraje celistvé nebo nepravidelné, bez produkce exsudátu, pigment produkovaný do média některými kmeny (viz níže), spodní strana v různých odstínech světle žluté (3A3, 4A4). Kolonie na CY20S bílé (3A1), ploché nebo uprostřed mírně vyvýšené, flokózní, granulární nebo sametové, s radiálně nebo

nepravidelně uspořádanými záhyby, hojně sporulující, okraje celistvé až mírně zubaté nebo difuzní, bez produkce exsudátu a pigmentu, spodní strana světle žlutá (4A4, 4A5). Schopnost produkce pigmentu po 4 týdnech byla pozorována u 9 kmenů, z nichž 5 pigment produkovalo (CCF 488, CCF 5172, CCF 6200, CCF 3996, NRRL 58959) a 4 neprodukovaly (CBS 566.65, CCF 4659, CCF 4713, CCF 6195). Produkce tmavě hnědého až černého pigmentu (3–4 mm široké koncentrické kruhy okolo kolonií) byla pozorována na CZA u kmenů CCF 488 a CCF 6200. Hnědý pigment (2–4 mm široké koncentrické kruhy okolo kolonií) byl pozorován na CZA u kmenů CCF 5172 a CCF 3996, a na CYA u kmene CCF 3996. Hnědo-žlutý pigment byl pozorován na CZA u kmene NRRL 58959.

Teplotní profil růstu (po 2 týdnech na MEA): *Aspergillus candidus* roste při 10 °C (8–11 mm), optimální teplota růstu je 25 °C (20–27 mm). Maximální teplota, při které je *A. candidus* schopen růst, je 30 °C (18–25 mm). Neroste při 35 °C.

Mikromorfologie: Konidiální hlavice rádiální, biseriální. Redukované konidiofory přítomny jen zřídka. Stopky (vyjma redukovaných) hyalinní, hladkostěnné, většinou neseptované, příležitostně se septy, (70–)125–400(–520) × (2,5–)3,5–8,5(–9,5) μm, měchýřky převážně kulovité, (8–)10–23(–33) μm široké, metuly cylindrického nebo klínovitého tvaru, (4,5–)5,5–7,5(–8) μm dlouhé, většinou pokrývající celý povrch měchýřku; fialidy lahvicovitého tvaru, (4–)5–6,5(–7) μm dlouhé. Konidie kulovité až oválné, (3,1–)3,3–4,0(–4,3) (3,7 ± 0,2) μm × (3–)3,3–3,7(–4,1) (3,5 ± 0,2 μm), hladkostěnné, zřídka jemně zdrsňené. Schopnost produkce sklerocií po 4 týdnech byla pozorována u 9 kmenů, z nichž 5 sklerocia produkovalo (CCF 488, CCF 5172, CCF 6200, CCF 3996, NRRL 58959) a 4 neprodukovaly (CBS 566.65, CCF 4659, CCF 4713, CCF 6195). Hnědá nebo tmavě šedá sklerocia pokrytá tenkou vrstvou mycelia byla pozorována pouze na médiu CZA u výše zmíněných kmenů, kdežto na médiích MEA, CYA a CY20S produkce sklerocií nebyla pozorována u žádného z testovaných kmenů.

Odlišující znaky: *Aspergillus candidus* je sesterský druh *A. dobrogensis* a jeho dalšími příbuznými druhy jsou *A. campestris* a *Aspergillus* sp. 1. Obecně má *A. candidus* menší měchýřky, kratší a užší stopky a také kratší metuly a fialidy v porovnání s *A. dobrogensis* (Tabulka 2, Obrázek 6). *Aspergillus dobrogensis* také roste rychleji než *A. candidus* na MEA, CYA a CY20S (Tabulka 2). Většinu těchto rozdílů lze však interpretovat jako trend napříč celým druhem a některé izoláty mají identické rozměry určitých znaků jako kmeny

A. dobrogensis (Obrázek 7). Proto může být rozlišení těchto dvou druhů v praxi problematické. *Aspergillus* sp. 1 roste pomaleji a má delší a širší stopky, měchýřky a metuly. *Aspergillus campestris* se liší jasně žlutou barvou kolonií a produkuje stopky, měchýřky a metuly které jsou obecně delší/širší než u *A. candidus*. *Aspergillus pragensis* roste pomaleji na všech médiích, zatímco *A. tritici*, *Aspergillus* sp. 2 a *A. taichungensis* rostou rychleji na MEA, CYA a CY20S. Poslední tři zmiňované druhy jsou schopny růstu při 35 °C nebo dokonce vyšších teplotách (Tabulka 3). *Aspergillus taichungensis* a *Aspergillus* sp. 2 mají kratší stopky a *Aspergillus* sp. 2 má delší metuly a fialidy v porovnání s *A. candidus*.

Ekologie (pouze záznamy ověřené DNA sekvenací): Výskyt *A. candidus* byl zaznamenán ve vnitřním prostředí budov (vzduch, prach, kovové potrubí), jeskynním prostředí, v půdě, klinickém materiálu, na potravinách, trusu. Druh byl dále izolován z chodeb kůrovců, z potměníka hnědého (*Tribolium castaneum*) a z potěru ryby *Arctoscopus japonicus*. Druh je znám z České republiky, Kanady, Itálie, Nizozemí, Rumunska, Severní Koreje, Španělska a z USA (Obrázek 11, Tabulky P1 a P5).

Aspergillus dobrogensis A. Nováková, Jurjević, F. Sklenar, Frisvad, Houbraken & Hubka, Int J Syst Evol Microbiol 68: 1004. 2018. MycoBank MB821313. Obrázek 14.

Typus: PRM 935751. Ex-typová kultura: CCF 4651 = CCF 4655 = CBS 143370 = NRRL 62821 = IBT 32697.

Rozměry kolonií, 25 °C, 7 d / 14 d (mm): MEA: 17–20 / 22–34; CYA: 20–24 / 26–39; CZA: 9–15 / 16–25; CY20S: 18–28 / 32–48.

Charakteristika kolonií (po 2 týdnech ve 25 °C): Kolonie na MEA bílé (4A1) až mírně nažloutlé (4A2), ploché nebo uprostřed mírně vyvýšené, flokózní, chmýřité nebo granulární, hojně sporulující, okraje celistvé až mírně zubaté, bez produkce exsudátu a pigmentu, spodní strana světle žlutá (4A3, 4A4). Kolonie na CYA bílé (4A1), někdy mírně nažloutlé (4A2), ploché, uprostřed vyvýšené nebo umbonátní, flokózní, chmýřité nebo granulární, hojně sporulující, okraje celistvé, bez produkce exsudátu a pigmentu, spodní strana světle žlutá (4A4, 4A5). Kolonie na CZA bílé (3A1) až nažloutlé (4A2, 3A2), ploché, voskovité až granulární, sporulace slabá a lokalizovaná jen v malé oblasti

kolonie, okraje celistvé nebo nepravidelné, bez produkce exsudátu a pigmentu, spodní strana v různých odstínech světle žluté (4A2, 3A2, 4A3, 3A3). Kolonie na CY20S bílé (3A1), ploché, uprostřed vyvýšené nebo umbonátní, flokózní, granulární nebo chmýřité, někdy se sametovými okraji, hojně sporulující, okraje celistvé, bez produkce exsudátu a pigmentu, spodní strana světle žlutá (4A4, 4A5).

Teplotní profil růstu (po 2 týdnech na MEA): *Aspergillus dobrogensis* roste při 10 °C (9–13 mm) a optimální teplota růstu je 25 °C (23–32 mm). Maximální teplota, při které je *A. dobrogensis* schopen růst, je 30 °C (17–24 mm). Neroste při 35 °C.

Mikromorfologie: Konidiální hlavice radiátní, biseriátní. Redukované konidiofory přítomny jen zřídka. Stopky (vyjma redukovaných) hyalinní, hladkostěnné, příležitostně velmi jemně zdrsňené, obvykle neseptované, příležitostně se septy, $(100\text{--})150\text{--}1150\text{--}(2000) \times (3,5\text{--})5\text{--}7\text{--}(14) \mu\text{m}$, měchýřky převážně kulovité, někdy oválné nebo protažené, $(9\text{--})10\text{--}30\text{--}(39,5) \mu\text{m}$ široké, metuly cylindrického nebo klínovitého tvaru, $(5\text{--})5,5\text{--}12\text{--}(14) \mu\text{m}$ dlouhé, obvykle pokrývající celý povrch měchýřku; fialidy lahvicovitého tvaru, $(5\text{--})5,5\text{--}7,5\text{--}(8,5) \mu\text{m}$ dlouhé. Konidie kulovité až oválné, $(3,0\text{--})3,4\text{--}4,1\text{--}(4,3) (3,7 \pm 0,3) \mu\text{m} \times (2,8\text{--})3\text{--}4\text{--}(4,2) (3,5 \pm 0,3) \mu\text{m}$, hladkostěnné, výjimečně jemně zdrsňené. Schopnost produkce sklerocií po 4 týdnech kultivace byla sledována u 10 kmenů, z nichž 2 kmeny sklerocia produkovaly (CCF 4651, CCF 5570) a 8 neprodukovalo (CCF 5567, CCF 5568, CCF 4650, CCF 5844, IBT 29476, CCF 5575, CCF 5569 a CCF 5572). Sklerocia byla produkována na povrchu kolonií, v některých případech překrytá vrstvou mycelia (u kmene CCF 4651 na MEA). Kmen CCF 4651 produkoval sklerocia na všech médiích; tmavě hnědá sklerocia na MEA, CZA a CY20S a hnědá sklerocia na CYA. Tmavě hnědá sklerocia vnořená v koloniích byla pozorována na CZA u kmene CCF 5570.

Odlišující znaky: *Aspergillus dobrogensis* je sesterský druh *A. candidus* (podrobnosti o odlišnostech těchto dvou druhů jsou uvedeny u popisu *A. candidus*). Od druhů *A. candidus*, *A. pragensis*, *A. taichungensis*, *Aspergillus* sp. 2 a *A. subalbidus* se liší delšími a širšími stopkami a většími měchýřky (Tabulka 2, Obrázek 6). *Aspergillus campestris* se od *A. dobrogensis* liší žlutými koloniemi. *Aspergillus dobrogensis* roste rychleji než *A. campestris*, *A. candidus*, *A. pragensis*, *Aspergillus* sp. 1 a *A. subalbidus* na MEA, CYA a CY20S, kdežto *A. tritici* a *A. taichungensis* rostou na těchto médiích rychleji (Tabulka 1). *Aspergillus subalbidus*, *A. taichungensis*, *Aspergillus* sp. 2 a *A. tritici* mohou být odlišeny od *A. dobrogensis* díky jejich schopnosti růst při 35 °C.

Ekologie (pouze záznamy ověřené DNA sekvenací): Výskyt *A. dobrogensis* byl zaznamenán v jeskynním prostředí (netopýří trus, guano, vzduch, sediment), vnitřním prostředí budov (vzduch, prach, koberec), na myším a herbivořím trusu a v klinickém materiálu. Druh je znám z České republiky, Dánska, Německa, Nizozemí, Rumunska, Španělska a z USA (Obrázek 11, Tabulka P1).

Aspergillus pragensis Hubka, Frisvad & M. Kolařík, Med. Mycol. 52: 570. 2014. MycoBank MB800371. Obrázek 15.

Typus: PRM 922702. Ex-tygová kultura: CCF 3962 = CBS 135591 = NRRL 62491 = IBT 32274.

Rozměry kolonií, 25 °C, 7 d / 14 d (mm): MEA: 8–10 / 15–18; CYA: 9–14 / 16–22; CZA: 3–6 / 11–15; CY20S: 13–18 / 24–30.

Charakteristika kolonií (po 2 týdnech při 25 °C): Kolonie na MEA bílé (3A1), slabě vyvýšené s centrální prohlubní, radiálně rýhované, sametové až chmýřité, hojně sporulující, okraje celistvé nebo jemně zvlněné, bez produkce exsudátu a pigmentu, spodní strana hnědo-žlutá (5C6) v centrální oblasti kolonie, oranžovo-bílá (5A2) na okrajích. Kolonie na CYA bílé (3A1), uprostřed vyvýšené až umbonátní, flokózní až granulární, hojně sporulující, okraje celistvé nebo jemně zvlněné, bez produkce exsudátu, produkce hnědého pigmentu po 4 týdnech kultivace u kmenů CCF 3962, CCF 4654, CCF 5693, CCF 5847 (4–6 mm široké koncentrické kruhy okolo kolonií nebo v oblasti jejich styku), spodní strana světle hnědá až hnědo-oranžová (5D5–5C4). Kolonie na CZA bílé (3A1) nebo hnědo-šedé (4D2), ploché, voskovité až flokózní, sporulace velmi slabá a lokalizovaná pouze v malé oblasti uprostřed kolonií, okraje nepravidelné nebo zanořené, bez produkce exsudátu, výrazný tmavě zelený až šedo-modrý pigment po 4 týdnech kultivace u všech kmenů (3–6 mm široké koncentrické kruhy okolo kolonií), spodní strana žluto-šedá (3D2). Kolonie na CY20S bílé (3A1) až mírně nažloutlé (3A2), ploché až jemně vyvýšené, chmýřité, flokózní až granulární, hojně sporulující, okraje celistvé, bez produkce exsudátu a pigmentu, spodní strana světle žlutá (4A5).

Teplotní profil růstu (po 2 týdnech na MEA): *Aspergillus pragensis* roste omezeně při 10 °C (5–6 mm, minimálně sporulující voskovité kolonie) a optimální teplota růstu je 25 °C

(15–18 mm). Maximální teplota, při které je *A. pragensis* schopen růst, je 30 °C (3–14 mm). Neroste při 35 °C. *Mikromorfologie*: *Konidiální hlavice* radiální, biseriální. Redukované konidiofory příležitostně přítomny. *Stopky* (vyjma redukovaných) hyalinní, hladkostěnné, zřídka jemně zdrsňené, většinou neseptované, (40–)110–260(–380) × (3–)3,5–5(–6) μm, *měchýřky* převážně kulovité, někdy oválné, (7–)10–17(–23) μm široké, *metuly* cylindrického nebo klínovitého tvaru, (4–)5–6,5(–8) μm dlouhé, pokrývající obvykle tři čtvrtiny až celý povrch měchýřku; *fialidy* lahvicovitého tvaru, (4–)5–6(–6,5) μm dlouhé. *Konidie* oválné až kulovité, (3,1–)3,5–4,0(–4,6) (3,7 ± 0,3 μm) × (3,1–)3,3–3,7(–4,4) (3,5 ± 0,2 μm), hladkostěnné, zřídka jemně zdrsňené. *Sklerocia* byla pozorována po 4 týdnech kultivace u kmenů NRRL 58614 a CCF 5847, chyběla u kmenů CCF 3962, CCF 4654 a CCF 5693. Tmavě hnědá sklerocia pokrytá tenkou vrstvou mycelia byla pozorována na CYA u kmenů NRRL 58614 a CCF 5847 a tmavá sklerocia vnořená do kolonií na MEA u kmene CCF 5847. Produkce sklerocií nebyla pozorována na CZA a CY20S.

Odlišující znaky: *Aspergillus pragensis* se fylogeneticky nachází v bazální pozici vzhledem ke druhům *A. subalbidus*, *Aspergillus* sp. 2 a *A. taichungensis*. Unikátním znakem *A. pragensis* a *Aspergillus* sp. 1 je jejich pomalý růst na všech médiích, obzvláště na CZA (Tabulka 1). Tyto dva druhy od sebe mohou být snadno rozlišeny barvou kolonií a výrazně odlišnými mikromorfologickými znaky (Obrázek 6). *Aspergillus subalbidus*, *A. taichungensis*, *Aspergillus* sp. 2 a *A. tritici* mohou být odlišeny schopností růstu při 35 °C a při vyšších teplotách (Tabulka 3). *Aspergillus pragensis* se liší od *A. dobrogensis*, *Aspergillus* sp. 1 a *A. campestris* svými kratšími a užšími stopkami, kratšími metulami a menšími měchýřky (Tabulka 2).

Ekologie (pouze záznamy ověřené DNA sekvenací): Výskyt *A. pragensis* byl zaznamenán ve vnitřním prostředí budov (vzduch, koberec, prach), na potravinách (rýžové otruby), v klinickém materiálu a ve venkovním ovzduší. Druh je znám z České republiky, Kanady, Jižní Koreje a z USA (Obrázek 11, Tabulky P1 a P5).

Aspergillus subalbidus Visagie, Hirooka & Samson, Stud. Mycol. 78: 101. 2014. MycoBank MB809190. Obrázek 16.

Typus: CBS H-21807. Ex-typová kultura: CBS 567.65 = NRRL 312 = IMI 230752 = ATCC 16871 = CCF 5822.

Rozměry kolonií, 25 °C, 7 d / 14 d (mm): MEA: 11–17 / 18–30; CYA: 14–24 / 24–42; CZA: 8–18 / 16–25; CY20S: 18–27 / 25–45. *Charakteristika kolonií (po 2 týdnech ve 25 °C)*: Kolonie na MEA bílé (4A1) až nažloutlé (2A2, 3A2, 4A2), šedo-žluté (4B3) u kmene CBS 112449 a oranžovo-šedé (5B2) u kmene FMR 15877, ploché nebo jemně vyvýšené, někdy s centrální prohlubní, flokózní až granulární, nebo chmýřité až načechrané, hojně sporulující, okraje celistvé, méně často nepravidelné nebo zubaté, bez produkce exsudátu a pigmentu, spodní strana šedo-žlutá (4B5), světle žlutá (4A5) nebo červeno-oranžová (7B8) v centrální oblasti kolonie, bledě žlutá (4A3) nebo světle oranžová (5A4) na okrajích. Kolonie na CYA bílé (4A1), nažloutlé (2A2, 3A2, 4A2), žluto-šedé (4B2), hnědo-šedé (8C2) nebo šedo-hnědé (8E3) s bílými (8A1) okraji, ploché nebo centrálně vyvýšené, granulární, flokózní nebo sametové až chmýřité, hojně sporulující, okraje celistvé, méně často jemně zvlněné nebo zubaté, spodní strana hnědo-oranžová (5C4, 5C5), šedo-žlutá (4B4, 4B5, 4B6) nebo tmavě plavá (5D4) v centrální oblasti kolonií, světle žlutá (4A4, 4A5) nebo zlato-hnědá (5D7) na okrajích, bez produkce exsudátu, produkce hnědého pigmentu po 4 týdnech kultivace lišícího se intenzitou a umístěním byla pozorována u některých kmenů: u kmenů CBS 567.65, CCF 4913, CBS 112449 a CCF 5697 v oblasti styku kolonií, 3–4 mm široké koncentrické kruhy okolo kolonií u kmenů NRRL 58123 a CCF 5698; 5–6 mm široké koncentrické kruhy okolo kolonií u kmene CCF 5643; jemně pigmentované oblasti v okolí sklerocií u kmene CCF 6199; rezavě hnědý pigment byl pozorován u kmene CCF 6197 (6–7 mm široké koncentrické kruhy okolo kolonií). Kolonie na CZA bílé (4A1), nažloutlé (1A2, 2A2, 3A2), šedo-žluté (4B3) nebo u kmene DTO 196-E4 červeno-šedé (7B2), ploché nebo zanořené, flokózní, voskovité nebo granulární, slabě až hojně sporulující, okraje celistvé, méně často jemně zvlněné nebo zubaté, spodní strana bledě žlutá (3A3, 4A3), šedo-hnědá (5E3, 5F3) nebo šedo-žlutá (4B3), bez produkce exsudátu, produkce pigmentu pozorována u některých kmenů po 4 týdnech kultivace: tmavě zelený až černý pigment roztroušený po celé Petriho misce u kmenů FMR 15736, NRRL 58123 a CCF 5643, v oblasti styku kolonií u kmene CBS 567.65, slabý šedo-zelený pigment u kmene NRRL 5214 v oblasti styku kolonií a

lehce okolo kolonií, tmavě hnědý pigment byl pozorován u kmene DTO 196-E4 ve formě 3 mm širokých koncentrických kruhů okolo kolonií. Kolonie na CY20S bílé (4A1), nažloutlé (2A2, 3A2, 4A2) nebo žluto-šedé (4B2), ploché nebo uprostřed vyvýšené, s nepravidelnými záhyby, flokózní, méně často granulární, chmýřité nebo načechrané, hojně sporulující, okraje celistvé, méně často zubaté nebo zvlňené, bez produkce exsudátu a pigmentu, spodní strana hnědo-oranžová (5C5, 5C6), světle žlutá (4A5), šedo-žlutá (4B4, 4B5, 4B6) nebo načervenalá (4A6) v centrální oblasti kolonií a světle žlutá (4A4, 4A5) na okrajích.

Teplotní profil růstu (po 2 týdnech na MEA): *Aspergillus subalbidus* klíčí nebo roste omezeně při 10 °C (3–9 mm). Optimální teplota růstu je mezi 25 °C (18–30 mm) a 30 °C (9–29 mm). Pouze 8 z 12 testovaných kmenů (CBS 567.65, FMR 15736, NRRL 58123, FMR 15733, CCF 5643, NRRL 4809, CCF 5697, CCF 6197) byly schopny růstu při 35 °C (2–22 mm) a pouze 3 z testovaných 12 kmenů (CCF 5643, CCF 5697 a FMR 15733) byly schopny růstu při 37 °C (3–9 mm). Neroste při 40 °C.

Mikromorfologie: *Konidiální hlavice* radiální, biseriální. Redukované konidiofory příležitostně přítomny. *Stopky* (vyjma redukovaných) hyalinní, hladkostěnné, příležitostně jemně zdrsňené, obvykle neseptované, (20–)50–330(–730) × (2,5–)3–8(–10) μm, *měchýřky* kulovité až oválné, (5–)7–23(–31) μm široké, *metuly* cylindrického nebo klínovitého tvaru, (4–)6–11(–16,5) μm dlouhé, pokrývající obvykle téměř celý povrch měchýřku; *fialidy* lahvicovitého tvaru, (3,5–)4,5–6(–7,5) μm dlouhé. *Konidie* kulovité až oválné, (3–)3,2–4,2(–4,5) (3,7 ± 0,3 μm) × (3–)3,2–3,8(–4,3) (3,5 ± 0,3 μm), hladkostěnné, zřídka jemně zdrsňené. *Sklerocia* byla produkována na povrchu kolonií, méně často překryta tenkou vrstvou mycelia (u kmenů NRRL 4809 a CCF 6199 na CZA). Po čtyřech týdnech kultivace byla sklerocia pozorována u kmenů CBS 567.65, NRRL 4809, FMR 15877, CCF 6197, CCF 6911, NRRL 5214 a CBS 112449, nebyla pozorována u kmenů CCF 5642, CCF 5696, DTO 196-E4, FMR 15733, CCF 4913, CCF 5848, CCF 5697, CCF 6205, CCF 5643, CCF 5698, NRRL 58123 a FMR 15736. Sklerocia produkována na MEA měla vždy tmavě hnědou barvu a byla pozorována u kmenů FMR 15877, CCF 6197 a CCF 6199. Sklerocia na CYA byla vždy hnědá a vyskytovala se u kmenů CBS 567.65, CCF 6197, CCF 6199, NRRL 5214, CBS 112449 a FMR 15877 (u posledně jmenovaného kmene byl sklerocii poset celý povrch kolonií), Tmavě hnědá až černá sklerocia byla pozorována na CZA a CY20S u kmene CCF 6197. Tmavě hnědá

sklerocia na CZA byla pozorována u kmene CBS 112449, na CY20S u kmene FMR 15877 a sklerocia v různých odstínech hnědé byla pozorována na CZA u kmene FMR 15877.

Odlišující znaky: *Aspergillus subalbidus* je nejbližše fylogeneticky příbuzný *A. taichungensis* a *Aspergillus* sp. 2. *Aspergillus taichungensis* se liší od *A. subalbidus* rychlejším růstem na MEA, CYA a CY20S, žlutou barvou kolonií a žlutým pigmentem produkovaným do média. *Aspergillus pragensis* a *Aspergillus* sp. 1 rostou pomaleji než *A. subalbidus* na všech médiích (Tabulka 1). *Aspergillus* sp. 2 má delší fialidy a metuly. *Aspergillus subalbidus* se odlišuje od *A. dobrogensis*, *Aspergillus* sp. 1, *A. tritici*, *A. candidus* a *A. campestris* kratšími a užšími stopkami a menšími měchýřky (Tabulka 2, Obrázek 6). *Aspergillus taichungensis* a *A. tritici* mohou být odlišeny jejich schopností růst při 37 °C a 40 °C (Tabulka 3).

Ekologie (pouze záznamy ověřené DNA sekvenací): Výskyt *A. subalbidus* byl zaznamenán ve vnitřním prostředí budov (vzduch, stěny, prach, koberec), v jeskynním prostředí, na potravinách (čínské koláčky, zeleninové sádlo, zemědělské produkty), na trusu, v půdě, a byl také izolován ze švába argentinského (*Blaptica dubia*). Druh je znám z Botswany, Brazílie, Číny, Federativních států Mikronésie, Ghany, Jihoafrické republiky, Německa, Španělska, Thajska a z USA (Obrázek 11, Tabulky P1 a P5).

Aspergillus taichungensis Yaguchi, Someya & Udagawa, Mycoscience 36: 421. 1995. MycoBank MB434473. Obrázek 17.

Typus: PF1167. Ex-typová kultura: IBT 19404 = PF 1167 = CCF 5597 = DTO 031-C6.

Rozměry kolonií, 25 °C, 7 d / 14 d (mm): MEA: 16–18 / 25–29; CYA: 22–28 / 33–43; CZA: 11–12 / 19–21; CY20S: 28–31 / 36–51.

Charakteristika kolonií (po 2 týdnech ve 25 °C): Kolonie na MEA pastelově žluté (1A4), ploché, flokózní, granulární nebo sametové, hojně sporulující, okraje celistvé, bez produkce exsudátu, produkce žlutého pigmentu po 4 týdnech kultivace po celé Petriho misce (nejvíce v blízkosti kolonií) u kmenů DTO 266-G2 a IBT 19404, spodní strana žlutá (2A8, 3A6) nebo světle žlutá (2A5). Kolonie na CYA v různých odstínech světle

žluté (1A4, 1A3), ploché, granulární, hojně sporulující, okraje celistvé až jemně zvlněné, bez produkce exsudátu, produkce žlutého pigmentu po 4 týdnech kultivace po celé Petriho misce (nejvíce v blízkosti kolonií) u kmenů DTO 266-G2 a IBT 19404, spodní strana v výrazně žlutá (3B8, 3A8, 4B8) nebo žluto-hnědá v centrální části kolonií (5D5) s načervenalými (4A6) okraji. Kolonie na CZA pastelově žluté (1A4), ploché, granulární nebo voskovité, sporulace slabá a v nepravidelných sektorech, okraje nepravidelné, bez produkce exsudátu a pigmentu, spodní strana pastelově žlutá (1A4, 2A4). Kolonie na CY20S bílé (2A1) nebo mírně nažloutlé (2A2), ploché nebo centrálně vyvýšené, granulární, flokózní nebo chmýřité, s nepravidelnými záhyby, hojně sporulující, okraje celistvé nebo mírně zubaté, bez produkce exsudátu a pigmentu, spodní strana světle žlutá (4A5) nebo načervenalá (4A6).

Teplotní profil růstu (po 2 týdnech na MEA): *Aspergillus taichungensis* klíčí nebo roste omezeně při 10 °C (4–7 mm). Optimální teplota růstu je mezi 20 °C (20–32 mm) a 25 °C (25–29 mm). Všechny kmeny *A. taichungensis* byly schopny růst při 37 °C (12–20 mm) a kmeny DTO 270-C9 a DTO 266-G2 i při 40 °C (1–7 mm), kmen IBT 19404 při této teplotě jen klíčil (1–2 mm).

Mikromorfologie: Konidiální hlavičky radiální, biseriální. Redukované konidiofory přítomny. Stopky (vyjma redukovaných) hyalinní, hladkostěnné, příležitostně jemně zdrsňené, obvykle neseptované, příležitostně se septy, (15–)40–90(–215) × (2–)3–4(–5) μm, měchýřky hemisférického tvaru, oválné nebo kulovité, (5–)7–11(–15) μm široké, metuly cylindrického nebo klínovitého tvaru, (4–)5,5–7(–9,5) μm dlouhé, pokrývající většinu povrchu měchýřku; fialidy lahvicovitého tvaru, (3,5–)4,5–5,5(–6,5) μm dlouhé. Konidie kulovité až oválné, (2,8–)3–3,8(–4,1) (3,4 ± 0,3 μm) × (2,8–)2,9–3,6(–3,9) (3,2 ± 0,3 μm), hladkostěnné, zřídka jemně bradavčité. Sklerocia byla produkována na povrchu kolonií, méně často překryta tenkou vrstvou mycelia (u kmene DTO 270-C9 na CY20S). Po 4 týdnech kultivace byla produkce sklerocií pozorována u kmenů DTO 270-C9 a IBT 19404, nebyla u DTO 266-G2. Hnědá sklerocia byla pozorována na CZA u kmene IBT 19404 a tmavě hnědá až černá sklerocia na CY20S u kmene DTO 270-C9. Produkce sklerocií nebyla pozorována na MEA a CYA.

Odlišující znaky: *Aspergillus taichungensis* má nejkratší a nejužší stopky a nejmenší měchýřky ze všech členů sekce *Candidi* (Tabulka 2, Obrázek 6). Jeho mikromorfologické znaky jsou podobné druhům *Aspergillus* sp. 2 a *A. subalbidus*, ale lze jej od nich odlišit

díky jeho pastelově žlutým koloniím a žlutému pigmentu. *Aspergillus taichungensis* navíc roste rychleji na MEA, CYA a CY20S (Tabulka 1). *Aspergillus candidus*, *A. dobrogensis*, *Aspergillus* sp. 1 a *A. pragensis* mohou být odlišeny neschopností růstu při 37 °C. *Aspergillus tritici* roste rychleji než *A. taichungensis* při 37 °C a 40 °C (Tabulka 3).

Ekologie: Výskyt *A. taichungensis* byl zaznamenán v půdě, zemědělských produktech, jeskynním prostředí a v prachu v domácnosti. Druh je znám z Íránu, Mexika a Taiwanu (Obrázek 11, Tabulky P1 a P5).

Aspergillus tritici B.S. Mehrotra & M. Basu, Nova Hedwigia 27 (3-4): 599. 1976. MycoBank MB309248. Neplatně popsán [článek 40.1 a 40.4 (Turland *et al.* 2018)]. Obrázek 18.

Typus: Nebyl určen. Referenční kmen (Varga *et al.* 2007, Houbrahen *et al.* 2020): CBS 266.81 = IBT 21956 = CCF 5842.

Rozměr kolonií, 25 °C, 7 d / 14 d (mm): MEA: 10–25 / 20–47; CYA: 14–28 / 21–50; CZA: 5–19 / 14–39; CY20S: 19–31 / 28–60.

Charakteristika kolonií (po 2 týdnech ve 25 °C): Kolonie na MEA bílé (3A1) až nažloutlé (2A2, 3A2), ploché, flokózní až granulární, méně často sametové (CCF 4914 a IBT 12659), hojně sporulující, okraje celistvé, bez produkce exsudátu a pigmentu, spodní strana světle žlutá (4A4) nebo šedo-žlutá až zlato-žlutá (4B5–5B7). Kolonie na CYA bílé (3A1) až nažloutlé (3A2), ploché nebo uprostřed vyvýšené, obvykle radiálně vrásčité, flokózní, sametové nebo flokózní u kmenů CCF 4914 a IBT 12659, okraje celistvé nebo difuzní, hojně sporulující, obvykle bez produkce exsudátu, malé žluté kapičky exsudátu byly pozorovány na povrchu kolonií u kmene CCF 6202, bez produkce pigmentu, spodní strana šedo-žlutá (4B5), načervenalá (4A6) nebo hnědo-oranžová (5B4) v centrální části kolonií, světle žlutá (4A4) na okrajích. Kolonie na CZA bílé (3A1) až nažloutlé (3A2), ploché nebo uprostřed vyvýšené, granulární, flokózní nebo chmýřité, hojně sporulující, okraje celistvé nebo nepravidelné, obvykle bez produkce exsudátu, malé žluté kapičky exsudátu byly pozorovány na povrchu kolonií u kmene CCF 6202, produkce pigmentu po 4 týdnech kultivace pozorována u některých kmenů: tmavě hnědý pigment (1–2 mm

široké koncentrické kruhy okolo kolonií) u kmenů CCF 4030 a CCF 6397, tmavě zelený pigment (2 mm široké koncentrické kruhy okolo kolonií) u kmene CCF 4653, tmavě žlutý pigment (1–5 mm široké koncentrické kruhy okolo kolonií nebo v oblasti styku kolonií) u kmenů CCF 3853, CCF 3314 a CCF 4914, spodní strana šedo-žlutá až světle oranžová (4B5–5A3). Kolonie na CY20S bílé až nažloutlé (1A1–2A2), ploché nebo uprostřed vyvýšené, u některých kmenů radiálně vrásčité (CBS 266.81, CCF 4914 a IBT 12659), flokózní (nebo chmýřité až sametové u kmenů CCF 4914 a IBT 12659), hojně sporulující, okraje celistvé nebo rozptýlené, bez produkce exsudátu a pigmentu, spodní strana žlutá až načervenalá (3A6–4A6) nebo šedo-žlutá (4C5). U všech testovaných izolátů byla na všech médiích pozorována hojná sporulace kromě kmenů NRRL 4847 (ex-typový kmen *A. albus* var. *thermophilus*) a CCF 1649, které byly sterilní.

Teplotní profil růstu (po 2 týdnech na MEA): *Aspergillus tritici* neroste při 10 °C, minimální teplota růstu je 15 °C (4–13 mm). Optimální teplota růstu *A. tritici* je 30 °C (32–51 mm) a maximální teplota, při které je schopen růst, je 40 °C (4–22 mm). Neroste při 45 °C.

Mikromorfologie: Konidiální hlavice radiální, převážně biseriální, uniseriální u kmenů CCF 4914 a IBT 12659. Redukované konidiofory přítomny zřídka. Stopky (vyjma redukovaných; rozměry pro kmeny CCF 4914 a IBT 12659 jsou vypsány v samostatném odstavci níže) hyalinní, hladkostěnné, méně často jemně zdrsňené, obvykle neseptované, příležitostně se septy, hojně septované u kmene CBS 266.81, $(140\text{--})200\text{--}500\text{--}(700) \times (3,5\text{--})4\text{--}8\text{--}(9) \mu\text{m}$, měchýřky kulovité nebo oválné nebo protáhlé, $(11\text{--})14\text{--}24\text{--}(28) \mu\text{m}$ široké (u kmene CBS 266.81 pouze $(5\text{--})6\text{--}8\text{--}(11) \mu\text{m}$), metuly cylindrického až klínovitého tvaru, $(4\text{--})7\text{--}17\text{--}(21) \mu\text{m}$ dlouhé, u kmene CBS 266.81 pouze $(3,5\text{--})4\text{--}5\text{--}(5,5) \mu\text{m}$ dlouhé, obvykle pokrývající většinu povrchu měchýřku; fialidy lahvicovitého tvaru, $(2,5\text{--})3,5\text{--}6\text{--}(8) \mu\text{m}$ dlouhé. Konidie (i u kmenů CCF 4914 a IBT 12659) kulovité, oválné až elipsoidní, $(2,6\text{--})3\text{--}4,6\text{--}(5,1) (3,5 \pm 0,5) \mu\text{m} \times (2,3\text{--})2,5\text{--}4,2\text{--}(4,6) (3,2 \pm 0,5) \mu\text{m}$, hladkostěnné, zřídka jemně zdrsňené. Sklerocia byla pozorována po 4 týdnech kultivace na povrchu kolonií u kmenů CBS 266.81 a CCF 3314, chyběla u kmenů CCF 4030, CCF 4653, CCF 3853, CCF 4658, CCF 6202, CCF 1649 a CCF 6397. Fialová sklerocia byla pozorována pouze na CZA u obou zmíněných kmenů, žádná sklerocia nebyla produkována na MEA, CYA a CY20S.

Kmeny CCF 4914 a IBT 12659 produkují krátké uniseriální konidiofory o rozměrech $(6-18-45(-85) \times (2-2,5-4(-5) \mu\text{m}$, jejich průměr měchýřku je $(3,5-4-7(-8,5) \mu\text{m}$, a fialidy jsou $(3-3,5-4,5(-6) \mu\text{m}$ dlouhé. Konidie těchto kmenů mají podobné rozměry jako ostatní kmeny, $(3,0-3,5-3,8(-4,3) (3,6 \pm 0,3) \mu\text{m} \times (2,8-3,3-3,6(-3,9) (3,4 \pm 0,3) \mu\text{m}$. U obou kmenů byla po 4 týdnech kultivace pozorována produkce fialových sklerocií, a to pouze na médiu CZA.

Odlišující znaky: *Aspergillus tritici* roste výrazně rychleji než *A. campestris*, *A. candidus*, *Aspergillus* sp. 1 a *A. pragensis* na všech médiích při 25 °C (Tabulka 1). Roste také rychleji než všechny ostatní druhy v teplotě 30–40 °C jeho optimální teplota růstu je 30 °C, zatímco ostatní druhy kromě *A. subalbidus* nejrychleji rostou ve 25 °C (Tabulka 3). Je to jediný druh, který není schopen růst ani klíčit při 10 °C a všechny jeho kmeny konzistentně rostou při teplotě 40 °C. *Aspergillus pragensis*, *A. dobrogensis*, *A. candidus*, *A. campestris* a *Aspergillus* sp. 1 mohou být odlišeny díky jejich neschopnosti růstu při 37 °C. Délka stopky a průměr měchýřku u *A. tritici* (když jsou z porovnávání vyloučeny kmeny s atypickými nebo uniseriálními konidiofory) jsou obecně větší ve srovnání s *A. subalbidus*, *A. pragensis*, *Aspergillus* sp. 2 a *A. taichungensis* (Tabulka 2, Obrázky 6 a 7).

Ekologie (pouze záznamy ověřené DNA sekvenací): *Aspergillus tritici* byl izolován z klinického materiálu, potravin (mouka, kukuřice, sýr, zrna *Triticum sativum*), půdy, vnitřního prostředí budov, z venkovního ovzduší, vermikompostu a podestýlky pro chov prasat. Druh je znám z Brazílie, České republiky, Číny, Kuby, Jihoafrické republiky, Indie, Íránu, Itálie, a z USA (Obrázek 11, Tabulky P1 a P5).

***Aspergillus* sp. 1** (kmen UAMH 1324 = IBT 14560). Obrázek 19.

Rozměry kolonií, 25 °C, 7 d / 14 d (mm): MEA: 12–14 / 20–22; CYA: 12–14 / 16–17; CZA: 4–6 / 11–13; CY20S: 13–15 / 19–21.

Charakteristika kolonií (po 2 týdnech ve 25 °C): Kolonie na MEA v centrální části žluto-šedé až světle žluté (3C2–3A3), na okrajích nažloutlé (3A2), ploché, flokózní, hojně sporulující, okraje celistvé, bez produkce exsudátu a pigmentu, spodní strana světle žlutá (4A4). Kolonie na CYA v centrální části bledě žluté (3A3) a na okrajích žluto-šedé (4B2),

ploché, flokózní, s koncentrickou rýhou na okrajích, hojně sporulující, okraje celistvé, bez produkce exsudátu, produkce tmavě hnědého pigmentu po 4 týdnech kultivace (3 mm široké koncentrické kruhy okolo kolonií), spodní strana šedo-žlutá až tmavě plavá (4B4–5D4). Kolonie na CZA bledě žluté (3A3), ploché, flokózní, hojně sporulující, okraje celistvé, bez produkce exsudátu a pigmentu, spodní strana bledě žlutá (3A3). Kolonie na CY20S bledě žluté (3A3), vyvýšené uprostřed, flokózní, hojně sporulující, okraje celistvé, bez produkce exsudátu a pigmentu, spodní strana šedo-žlutá až tmavě plavá (4B4–5D4).

Teplotní profil růstu (po 2 týdnech na MEA): *Aspergillus* sp. 1 roste při 10 °C (9–10 mm) a optimální teplota růstu je 25 °C (20–22 mm). Maximální teplota, při které je *Aspergillus* sp. 1 schopen růst, je 30 °C (5–7 mm). Neroste při 35 °C.

Mikromorfologie: *Konidiální hlavice* radiální, biseriální, redukované konidiofory zřídka přítomny, obvykle uniseriální. *Stopky* (vyjma redukovaných) hyalinní, hladkostěnné, příležitostně jemně zdrsňené, většinou neseptované, se septy jen zřídka, (540–)810–1150(–1600) × (6–)9–13(–16) μm, *měchýřky* kulovité až oválné, (18–)33–39(–45) μm široké, *metuly* cylindrického nebo klínovitého tvaru, (7,5–)9–14(–17) μm dlouhé, pokrývající celý povrch měchýřku; *fialidy* lahvicovitého tvaru, (4,5–)5,5–7(–8) μm dlouhé. *Konidie* oválné až kulovité, příležitostně elipsoidní, (3,2–)3,4–3,6(–3,8) (3,5 ± 0,2 μm) × (2,8–)3,1–3,3(–3,5) (3,2 ± 0,2 μm), hladkostěnné, příležitostně jemně zdrsňené. *Sklerocia* nebyla pozorována na žádném médiu po 4 týdnech kultivace.

Odlišující znaky: *Aspergillus* sp. 1 se od ostatních druhů sekce *Candidi* liší svými většími měchýřky, delšími a širšími stopkami a delšími metulami (Tabulka 2, Obrázek 6). Některé izoláty *A. dobrogensis* mají podobně dlouhé stopky, ale od *Aspergillus* sp. 1 se liší ostatními znaky a bílou barvou kolonií. *Aspergillus* sp. 1 roste pomaleji než ostatní druhy na všech médiích kromě *A. pragensis*, který roste srovnatelně pomalu (Tabulka 1). *Aspergillus tritici*, *Aspergillus* sp. 2, *A. taichungensis* a *A. subalbidus* mohou být odlišeny díky jejich schopnosti růstu při 35 °C nebo i při vyšších teplotách (Tabulka 3).

Ekologie (pouze záznamy ověřené DNA sekvenací): Výskyt *Aspergillus* sp. 1 byl zaznamenán jen na myši odchycené na koňské farmě v Kanadě (Obrázek 11, Tabulka P1).

Aspergillus sp. 2 (kmeny DTO 337-H7 = CBS 147048, DTO 440-E1 = CBS 147376, DTO 440-E2). Obrázek 20.

Rozměry kolonií, 25 °C, 7 d / 14 d (mm): MEA: 19–21 / 26–33; CYA: 19–23 / 29–34; CZA: 12–14 / 22–24; CY20S: 28–30 / 48–52.

Charakteristika kolonií (po 2 týdnech ve 25 °C): Kolonie na MEA bílé (4A1) až nažloutlé (4A2, 2A2), ploché, flokózní, hojně sporulující, okraje mírně zubaté, bez produkce exsudátu a pigmentu, spodní strana šedo-žlutá (4B4). Kolonie na CYA žluto-bílé (4A2), ploché, jemně radiálně vrásčité, granulární, hojně sporulující, okraje celistvé, bez produkce exsudátu, produkce tmavě hnědého pigmentu (3–6 mm široké koncentrické kruhy okolo kolonií) po 4 týdnech kultivace byla pozorována u všech tří testovaných kmenů, spodní strana světle žlutá (4A5, 4A4) nebo tmavě plavá (5D4). Kolonie na CZA bílé (2A1) až nažloutlé (2A2), ploché, granulární, hojně sporulující, okraje celistvé, bez produkce exsudátu, produkce tmavě hnědého pigmentu (3–5 mm široké koncentrické kruhy okolo kolonií) po 4 týdnech kultivace byla pozorována u všech tří testovaných kmenů, spodní strana bledě žlutá (3A3). Kolonie na CY20S bílé (2A1), ploché, granulární až flokózní, s nepravidelnými záhyby, hojně sporulující, okraje celistvé nebo mírně zubaté, bez produkce exsudátu a pigmentu, spodní strana šedo-žlutá (4C6) s pastelově žlutými (3A4) okraji.

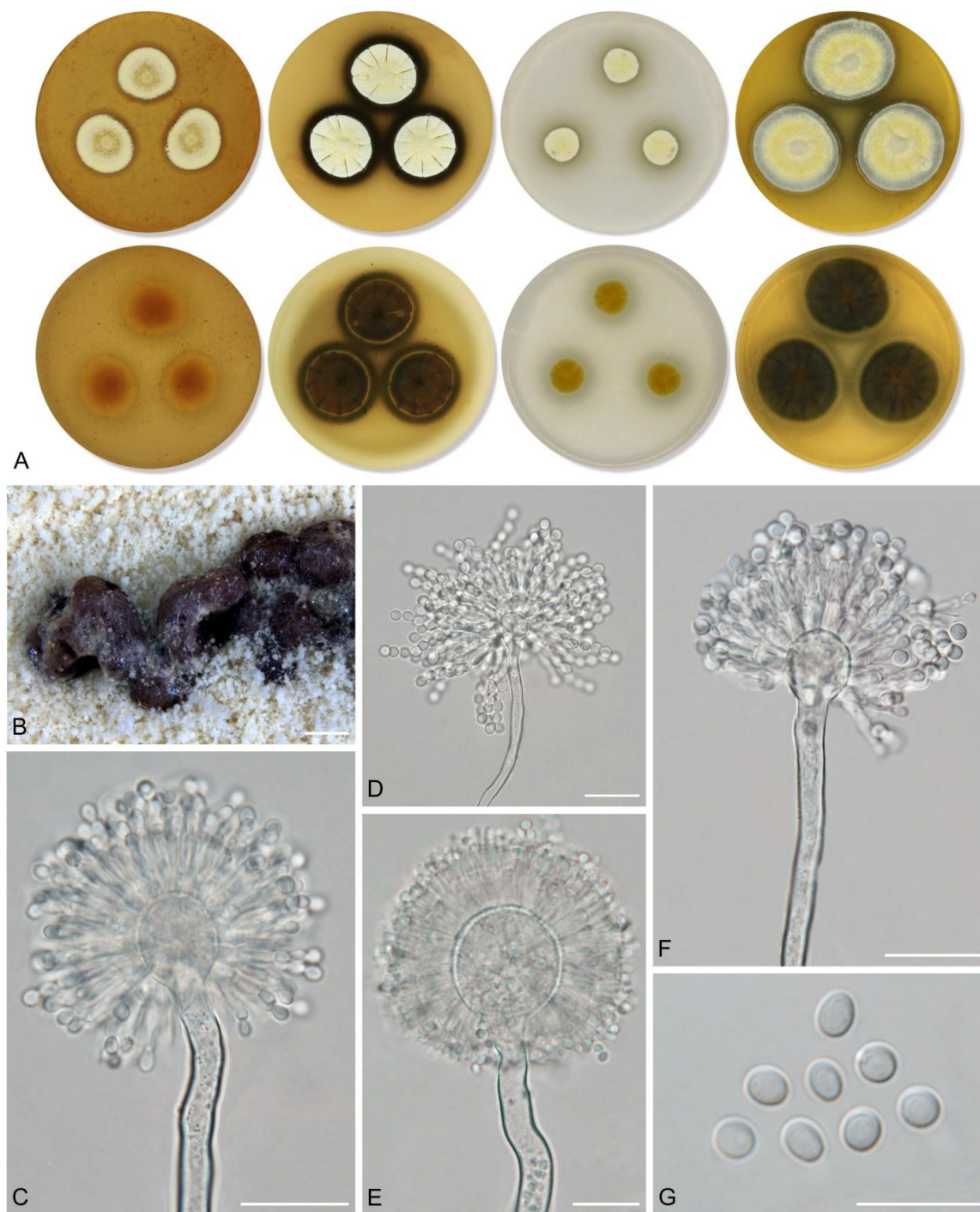
Teplotní profil růstu (po 2 týdnech na MEA): *Aspergillus* sp. 2 roste při 10 °C (9–11 mm). Optimální teplota růstu je 25 °C (26–33 mm). Kmeny DTO 337-H7 a DTO 440-E2 jsou schopny růst při 37 °C (7–12 mm) na rozdíl od DTO 440-E1. Žádný z izolátů neroste při 40 °C.

Mikromorfologie: *Konidiální hlavice* radiální, biseriální. Redukované konidiofory přítomny. *Stopky* (vyjma redukovaných) hyalinní, hladkostěnné, příležitostně jemně zdrsňené, většinou neseptované, příležitostně se septy, (30–)80–140(–310) × (2,5–)3,5–5(–6,5) μm, *měchýřky* oválné až kulovité, (8,5–)11–18(–27) μm široké, *metuly* cylindrického nebo klínovitého tvaru, (7–)8–12(–14) μm dlouhé, pokrývající tři čtvrtiny až celý povrch měchýřku; *fialidy* lahvicovitého tvaru, (5,5–)6–7(–8,5) μm dlouhé. *Konidie* oválné až kulovité, (3,4–)3,6–3,9(–4,3) (3,8 ± 0,2 μm) × (3–)3,3–3,8(–4,3) (3,6 ± 0,2 μm), hladkostěnné, zřídka jemně zdrsňené. *Sklerocia* byla produkována na povrchu kolonií na CZA po 4 týdnech kultivace. Hnědá sklerocia byla pozorována u kmenů DTO

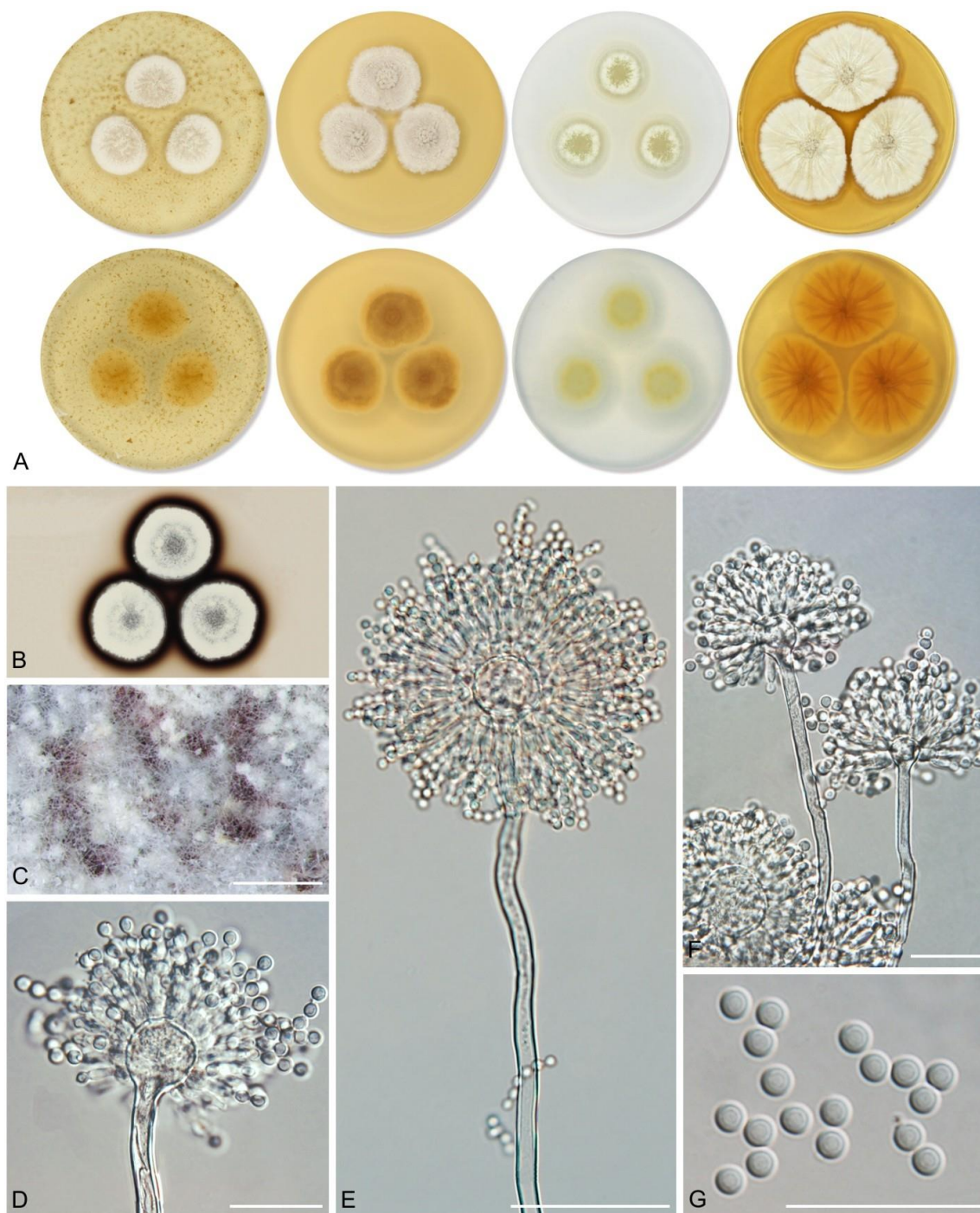
440-E1 a DTO 337-H7[†] a chyběla u kmene DTO 440-E2. Produkce sklerocií nebyla pozorována na MEA, CYA a CY20S.

Odlišující znaky: *Aspergillus* sp. 2 je fylogeneticky příbuzný *A. taichungensis* a *A. subalbidus*. Má větší měchýřky a delší metuly a fialidy než *A. taichungensis*. *Aspergillus* sp. 2 také produkuje po 4 týdnech kultivace tmavě hnědý pigment na CYA a CZA ve srovnání s *A. taichungensis*, který produkuje žlutý pigment na CYA a MEA. Délka fialid *Aspergillus* sp. 2 je srovnatelná s *A. dobrogensis*, *A. campestris* a *Aspergillus* sp. 1 ale delší než u ostatních druhů (Tabulka 2, Obrázek 6). *Aspergillus taichungensis* roste rychleji než *Aspergillus* sp. 2 na CYA a CY20S (Tabulka 1). *Aspergillus candidus*, *A. dobrogensis*, *Aspergillus* sp. 1 a *A. pragensis* mohou být odlišeny svojí neschopností růst při 35–37 °C. *Aspergillus tritici* a *A. taichungensis* rostou rychleji než *Aspergillus* sp. 2 při 37 °C (Tabulka 3).

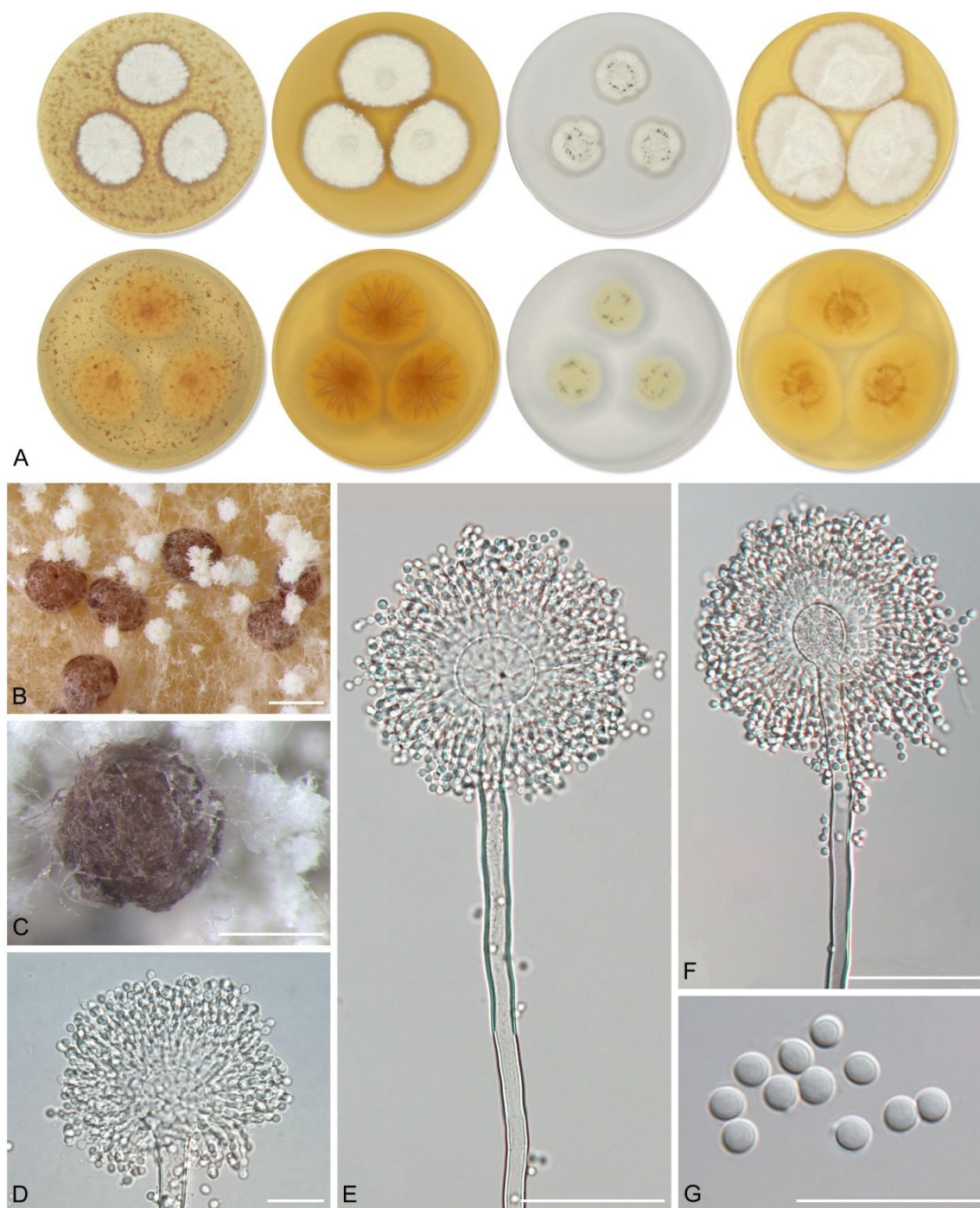
Ekologie: Výskyt *Aspergillus* sp. 2 byl zaznamenán v půdě v Austrálii a Jihoafrické republice (Obrázek 1, Tabulka P1).



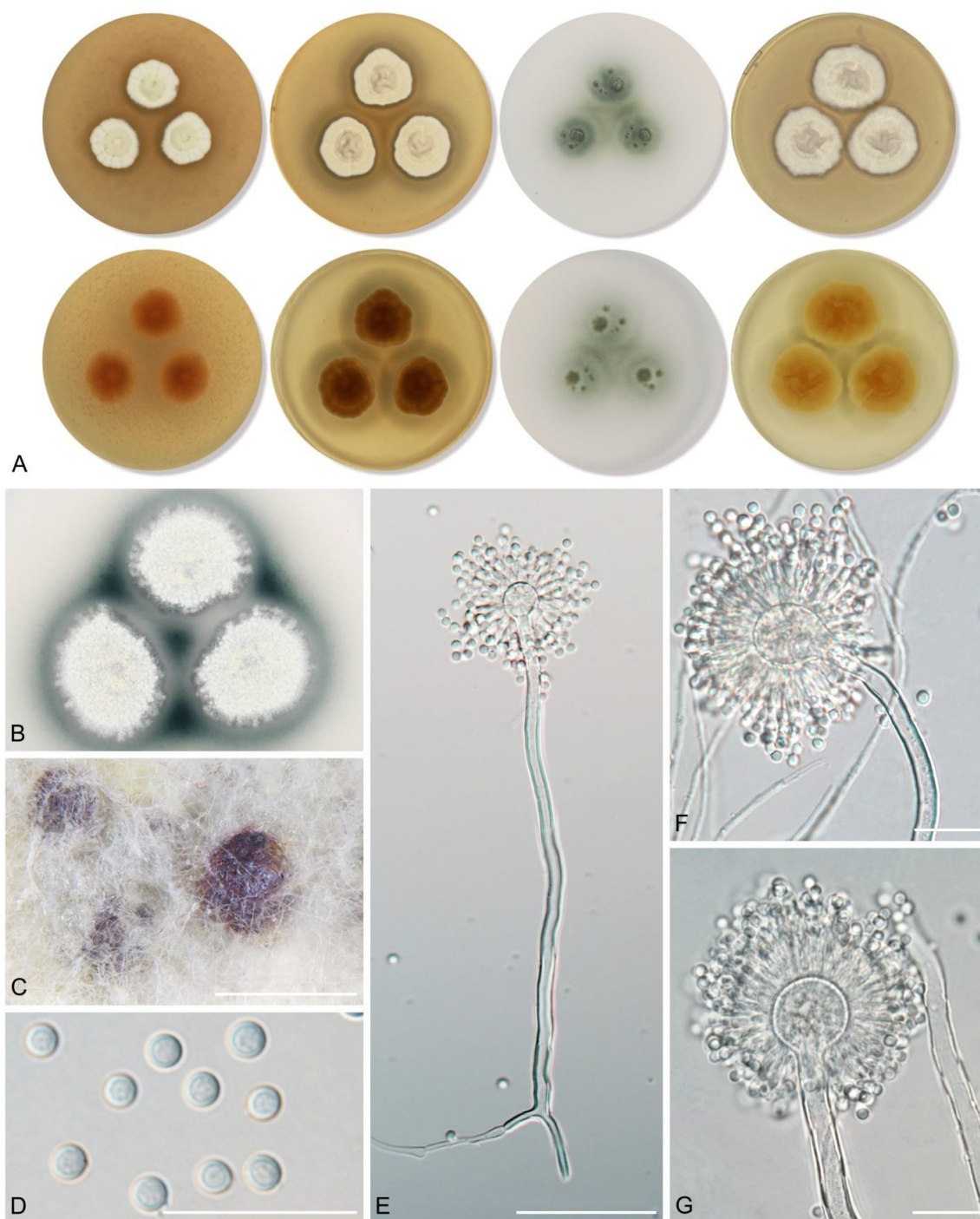
Obrázek 12. Makromorfologie a mikromorfologie *Aspergillus campestris*. A. Kolonie po 14 dnech při 25 °C, zleva doprava: MEA, CYA, CZA, CY20S. B. Sklerocia produkovaná na CYA (vyfotografováno po 28 dnech kultivace). C-F. Konidiofory. G. Konidie. Měřítka: B = 500 μm ; C-F = 20 μm , G = 10 μm .



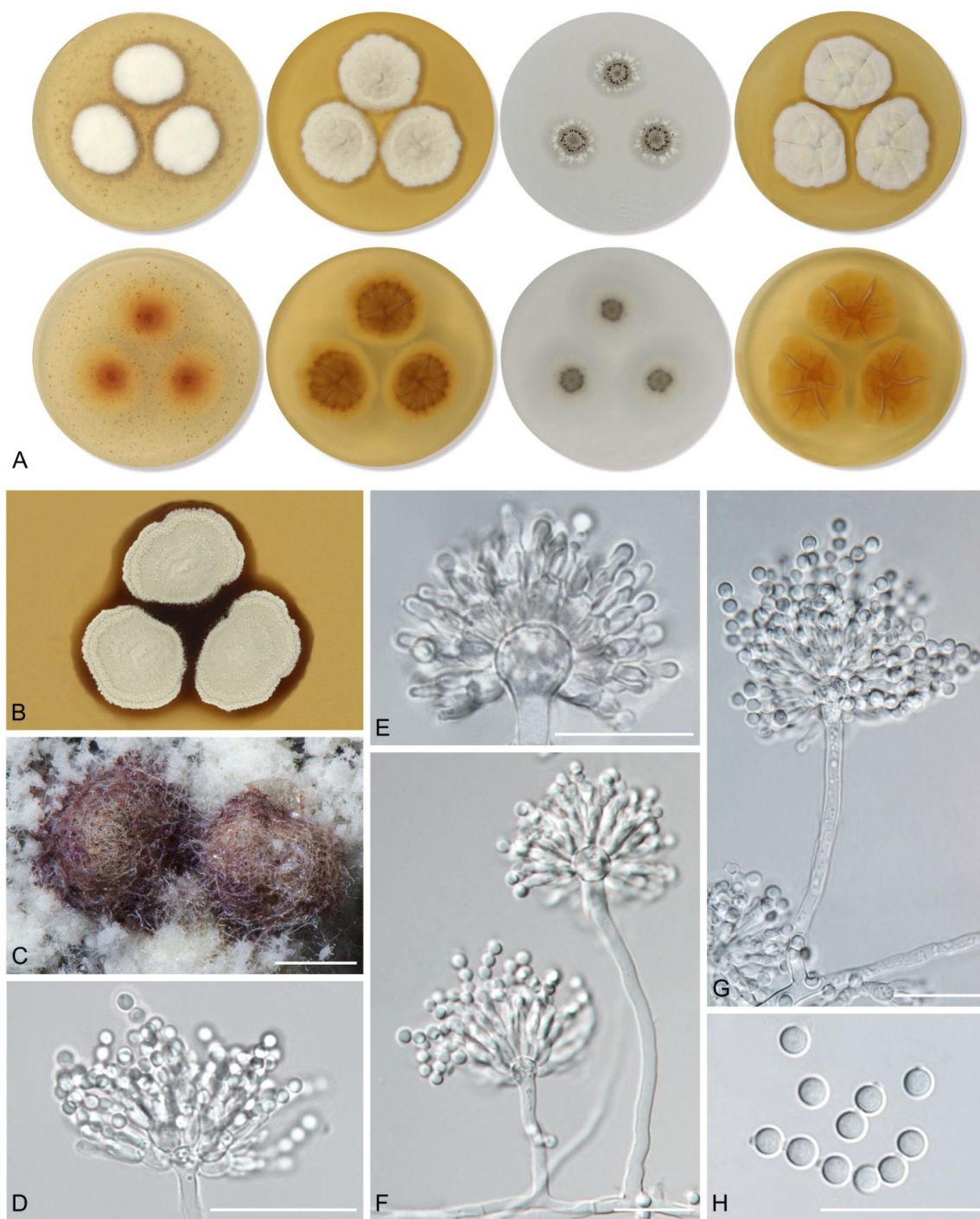
Obrázek 13. Makromorfologie a mikromorfologie *Aspergillus candidus*. A. Kolonie po 14 dnech při 25 °C, zleva doprava: MEA, CYA, CZA, CY20S. B. Pigment produkovaný na CZA (vyfotografováno po 28 dnech kultivace). C. Sklerocia produkovaná na CZA (vyfotografováno po 28 dnech kultivace). D-F. Konidiofory. G. Konidie. Měřítka: C = 1 mm; D, F = 20 µm; E = 50 µm; G = 20 µm.



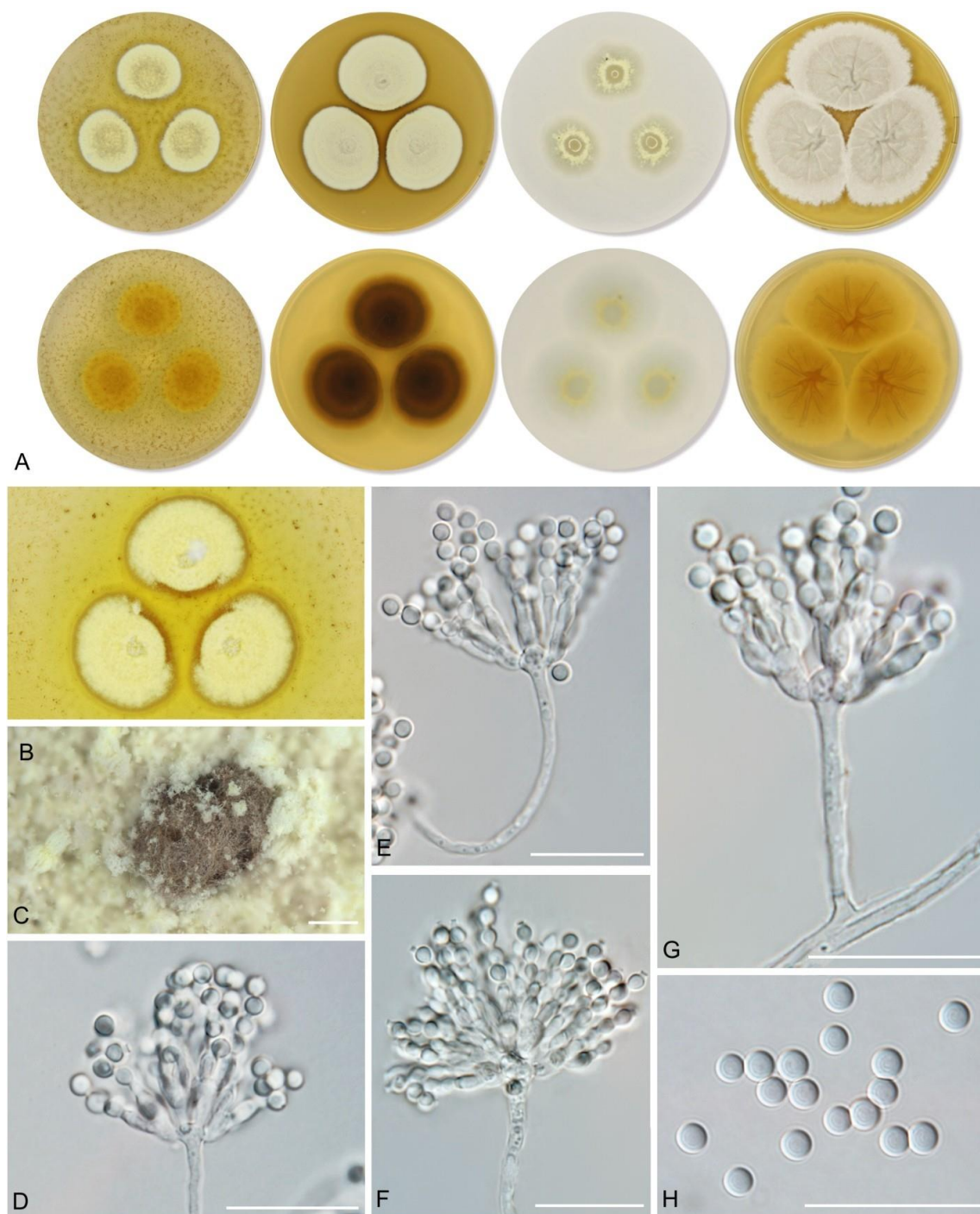
Obrázek 14. Makromorfologie a mikromorfologie *Aspergillus dobrogensis*. A. Kolonie po 14 dnech při 25 °C, zleva doprava: MEA, CYA, CZA, CY20S. B-C. Sklerocia produkovaná na CYA (B) a CZA (C), (vyfotografováno po 28 dnech kultivace). D-F. Konidiofory. G. Konidie. Měřítka: B = 750 μm ; C = 500 μm ; D = 20 μm ; E, F = 50 μm ; G = 20 μm .



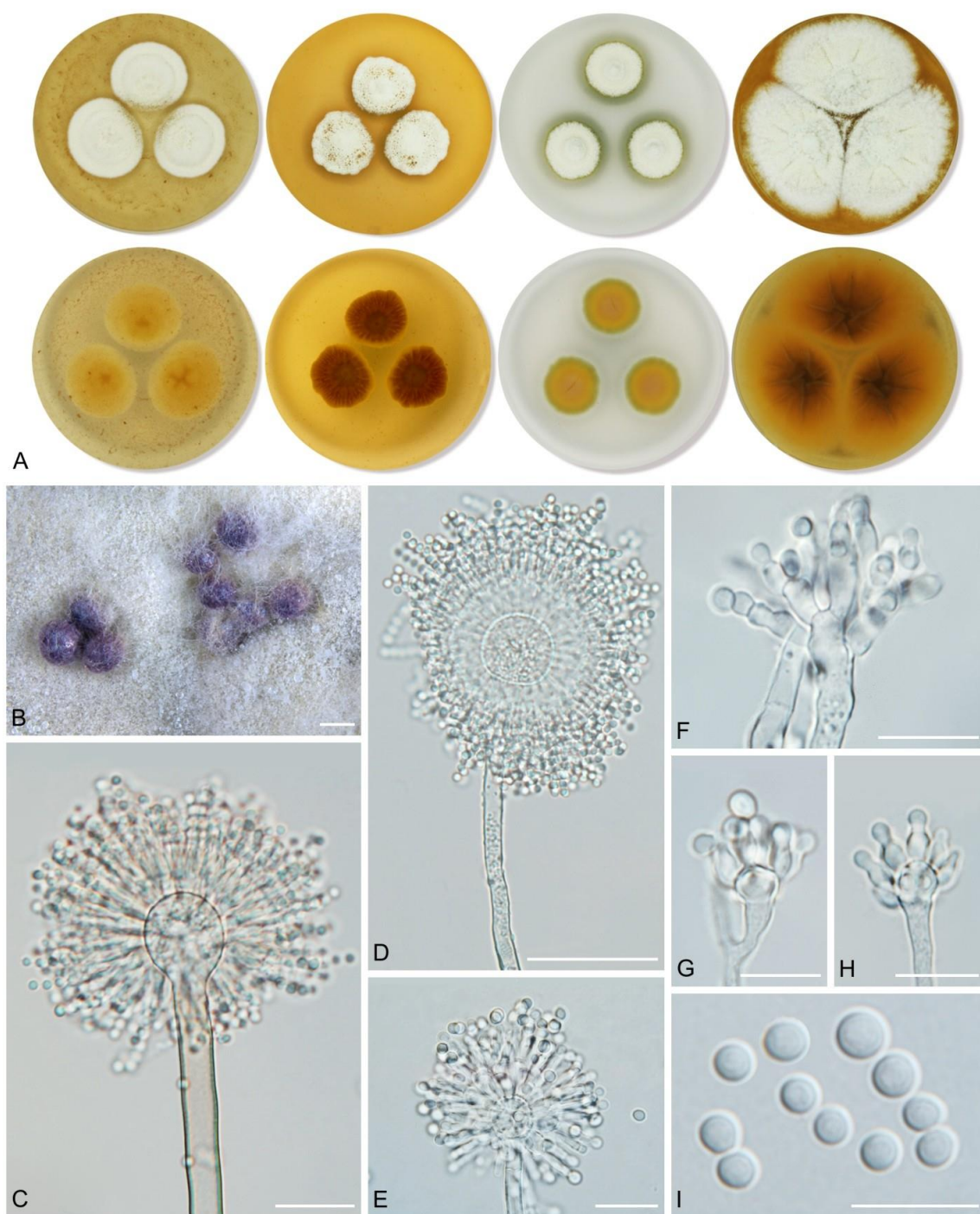
Obrázek 15. Makromorfologie a mikromorfologie *Aspergillus pragensis*. A. Kolonie po 14 dnech při 25 °C, zleva doprava: MEA, CYA, CZA, CY20S. B. Pigment produkováný na CZA (vyfotografováno po 28 dnech kultivace). C. Sklerocia produkována na CYA (vyfotografováno po 28 dnech kultivace). D. Konidie. E-G. Konidiofory. Měřítka: C = 500 µm; D = 20 µm; E = 50 µm; F, G = 20 µm.



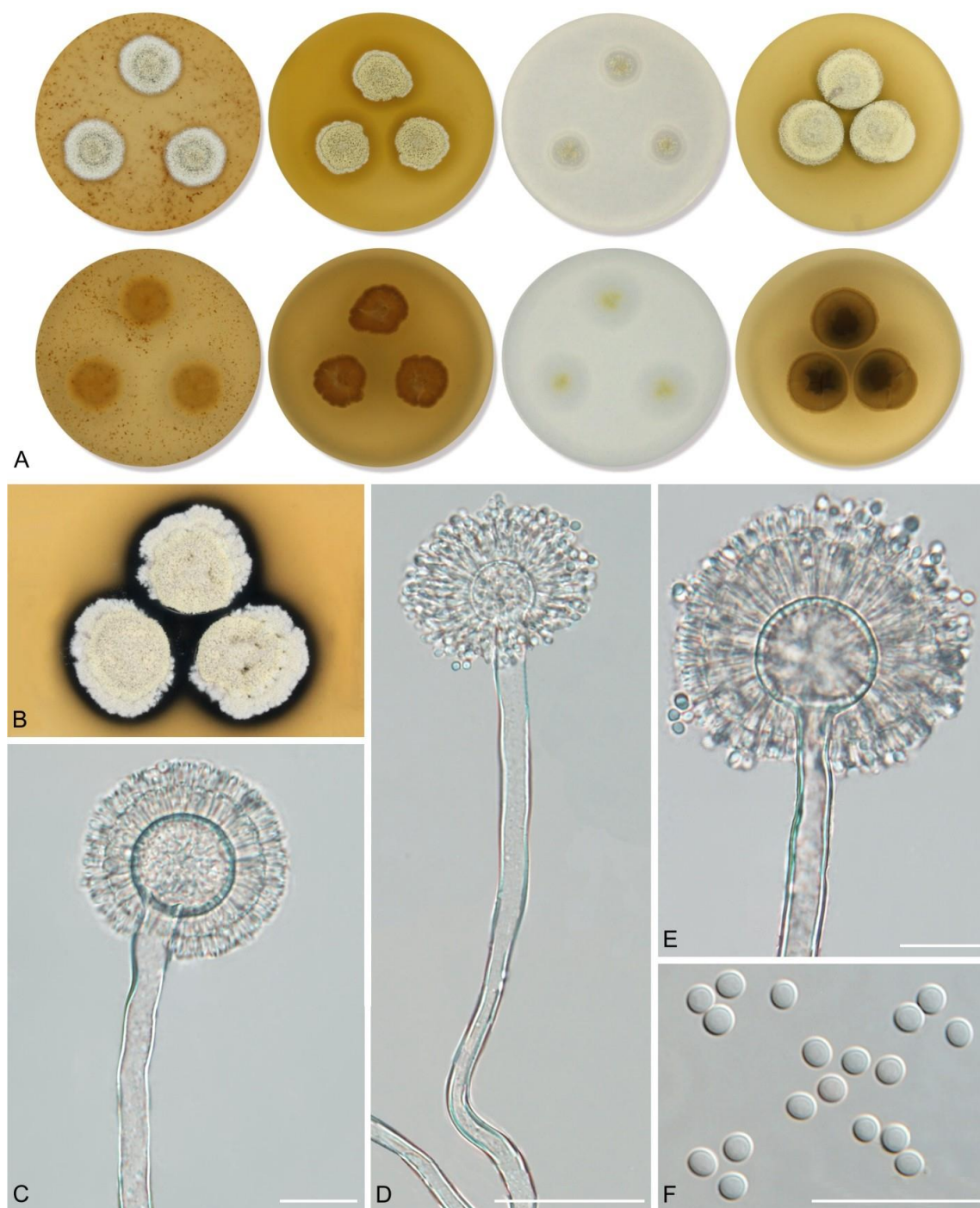
Obrázek 16. Makromorfologie a mikromorfologie *Aspergillus subalbidus*. A. Kolonie po 14 dnech při 25 °C, zleva doprava: MEA, CYA, CZA, CY20S. B. Pigment produkováný na CYA (vyfotografováno po 28 dnech kultivace). C. Sklerocia produkovaná na CZA (vyfotografováno po 28 dnech kultivace). D-G. Konidiofory. H. Konidie. Měřítka: C = 250 μm ; D-G = 20 μm ; H = 20 μm .



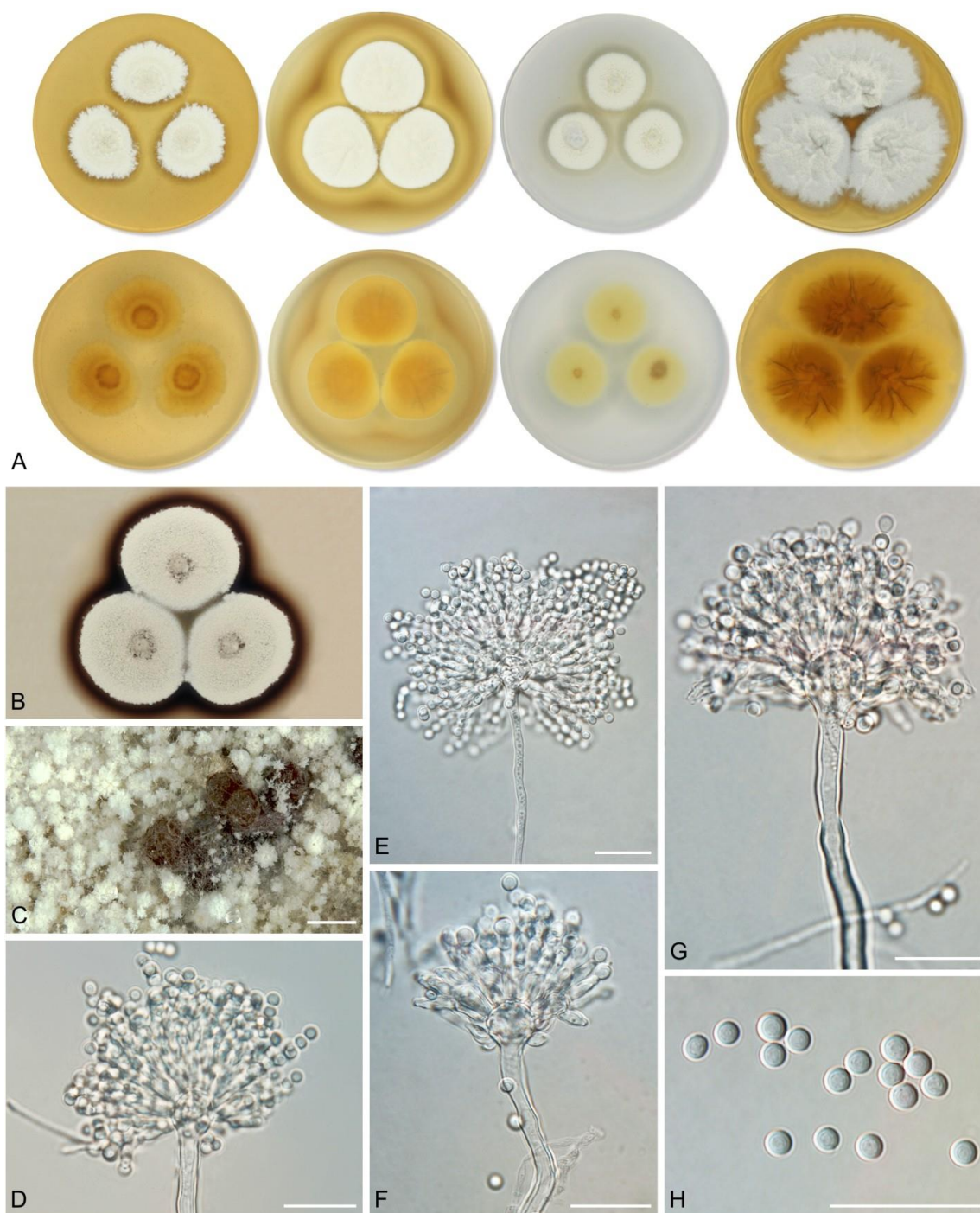
Obrázek 17. Makromorfologie a mikromorfologie *Aspergillus taichungensis*. A. Kolonie po 14 dnech při 25 °C, zleva doprava: MEA, CYA, CZA, CY20S. B. Pigment produkovaný na MEA (vyfotografováno po 28 dnech kultivace). C. Sklerocia produkovaná na CY20S (vyfotografováno po 28 dnech kultivace). D-G. Konidiofory. H. Konidie. Měřítka: C = 1.4 mm; D-G = 20 µm; H = 20 µm.



Obrázek 18. Makromorfologie a mikromorfologie *Aspergillus tritici*. A. Kolonie po 14 dnech při 25 °C, zleva doprava: MEA, CYA, CZA, CY20S. B. Sklerocia produkovaná na CZA (vyfotografováno po 28 dnech kultivace). C-E. Typické biseriální konidiofory. F. Atypické biseriální konidiofory kmene CBS 266.81. G-H. Atypické uniseriální konidiofory kmene CCF 4914 a IBT 12659. I. Konidie. Měřítka: B = 500 µm; C, E, F = 20 µm; D = 50 µm; G, H = 10 µm; I = 10 µm.



Obrázek 19. Makromorfologie a mikromorfologie *Aspergillus* sp. 1. A. Kolonie po 14 dnech při 25 °C, zleva doprava: MEA, CYA, CZA, CY20S. B. Pigment produkováný na CYA (vyfotografováno po 28 dnech kultivace). C-E. Konidiofory. F. Konidie. Měřítka: C, E = 20 μ m; D = 50 μ m; F = 20 μ m.



Obrázek 20. Makromorfologie a mikromorfologie *Aspergillus* sp. 2. A. Kolonie po 14 dnech při 25 °C, zleva doprava: MEA, CYA, CZA, CY20S. B. Pigment produkovaný na CZA (vyfotografováno po 28 dnech kultivace). C. Sklerocia produkovaná na CZA (vyfotografováno po 28 dnech kultivace). D-G. Konidiofory. H. Konidie. Měřítka: C = 1 mm; D-G = 20 μ m; H = 20 μ m.

5. Diskuze

5.1 Vymezení druhových hranic

Pro taxonomickou revizi druhových hranic v sekci *Candidi* byl shromážděn dosud největší dataset izolátů z této sekce ($n = 113$). Definitivní rozhodnutí o druhových hranicích bylo komplikované variabilními a protichůdnými výsledky dílčích analýz. Aby bylo o druhových hranicích rozhodnuto konzistentně napříč všemi druhy, byl použit integrativní přístup sestávající ze čtyř hlavních hodnocených kritérií. Aby byl určitý druh podpořen, musela být splněna tři ze čtyř kritérií (viz kapitola 3.1 a Tabulka 4). Dvě ze čtyř kritérií tohoto přístupu byla věnována metodám MSC. Výsledky metody STACEY, která je založena na více genech, byly do jisté míry považovány za nadřazenější MSC metodám založeným jen na jednom lokusu. Důvodem je to, že zahrnutí více lokusů může lépe zohlednit nekompletní třídění linií (incomplete lineage sorting) a podobné jevy. Proto metoda STACEY měla samostatný bod. V bodě zabývajícím se jednogenovými metodami MSC bylo požadováno, aby většina těchto metod podpořila určitý druh v jeho přesně definované podobě nebo rozdělený na menší celky. Pokud byl druh částečně nebo celý sloučen se sousedními druhy nebo populacemi, bylo to považováno za nepodpoření. Je totiž běžné, že výsledky jednogenových MSC metod se liší mezi jednotlivými lokusy a nastaveními, zejména v rámci geneticky velmi variabilních druhů. Nadhodnocení počtu druhů a rozporuplné výsledky delimitace v rámci určité linie obvykle naznačují genový tok a rekombinaci v rámci této linie, jak bylo dříve pozorováno například u druhů *A. iizukae* (Sklenář *et al.* 2021), *A. restrictus*, *A. penicilliioides* (Sklenář *et al.* 2017) a *A. udagawae* (Hubka *et al.* 2018a). Když tedy jednogenové MSC metody podpoří rozdělení druhu do více menších linií, nemusí to být rozporu s širší definicí druhu. Nicméně vymezení “druhu”, který zahrnuje izoláty/populace ze sousedních druhů, už v jasném rozporu je.

Z existujících druhů byl nejméně podpořen *A. dobrogensis*. Jeho vymezení bylo jasně podpořeno metodou GCPSR a jedním scénářem v metody STACEY, ale podpora jednogenových MSC metod byla nízká (Obrázek 4). Stejně tak jeho vymezení nebylo podpořeno v několika modelech pomocí DELINEATE (Obrázek 10) a morfologická podpora tohoto druhu byla rovněž rozporuplná. Rozměry většiny mikromorfologických znaků byly u *A. dobrogensis* větší než u *A. candidus* (Obrázek 6) a druh také rostl rychleji než *A. candidus* na MEA, CYA a CY20S při 25 °C (Tabulka 1), což se shoduje s dříve publikovanými daty Hubky *et al.* (2018b). Nicméně bylo indentifikováno i několik

izolátů, které se od *A. candidus* v zásadě nelišily (Obrázek 7). Dá se tedy konstatovat, že u *A. dobrogensis* je v rámci celého druhu evidentní trend k rychlejšímu růstu a tvorbě větších konidioforů ve srovnání s *A. candidus*, ale toto pravidlo neplatí pro některé izoláty. Protože ale nebyl zaznamenán žádný rozpor mezi fylogenezemi jednotlivých genů, nebyly tyto dva druhy prozatím synonymizovány. Podobné rozhodnutí bylo nedávno učiněno i u druhů *A. polyporicola* a *A. spelaeus* v sekci *Flavipedes* (Sklenář *et al.* 2021). Tyto dva druhy navrhl Hubka *et al.* (2015) na základě fylogeneze, rozdílů v jejich ekologii a tvorbě konidií produkovaných mikronematózními konidiofory. Po získání dalších kmenů se ale ukázalo, že zmíněné druhy nejsou morfologicky ani ekologicky rozlišitelné, jak se dříve předpokládalo. Zachovány ale byly jako kryptické fylogeneticky definované druhy, podpořené GCPSR, STACEY a některými dalšími MSC metodami.

Předchozí studie, které se zabývaly hranicemi druhů v sekci *Candidi*, obsahovaly ve fylogenetických analýzách pouze jediný kmen *A. campestris*, a sice ex-typový kmen CBS 348.81 (Varga *et al.* 2007, Hubka *et al.* 2014, Visagie *et al.* 2014, Hubka *et al.* 2018b). V této studii bylo získáno celkem sedm kmenů, u kterých byla identifikována poměrně vysoká vnitrodruhová variabilita. Ve fylogenetických stromech se u tohoto druhu vyskytovalo několik menších kladů, nicméně nebyly pozorovány žádné specifické fenotypové znaky, které by podpořily myšlenku, že se mohlo jednat o samostatné druhy. Široký druhový koncept *A. campestris* byl také podpořen metodami STACEY a DELINEATE, v jejichž výsledcích byly všechny izoláty *A. campestris* sloučeny do jednoho druhu. Vzhledem k atypické sekvenci genu *RPB2* u kmene IBT 17867 je zřejmé, že multilokusová metoda STACEY se dokáže lépe vypořádat s nekompletním tříděním linií než klasické fylogenetické metody ML a BI. Tato metoda správně zařadila izolát IBT 17867 do *A. campestris* a vyhodnotila celý druh jako monofyletický (Obrázek 4), kdežto ve stromech ML a BI byl *A. campestris* polyfyletický (Obrázek 1).

U zbývajících druhů byly výsledky delimitace buď jasné a konzistentní (*Aspergillus* sp. 1, *A. tritici* a *A. pragensis*) nebo byly hranice druhů určeny na základě kombinací více přístupů. Nesoulad mezi jednogennými fylogenezemi v podstatě nedával mnoho prostoru pro jiné řešení než pro široký druhový koncept u *A. subalbidus* a *A. taichungensis*. Nejspornější byla pozice bazálního kladu *A. subalbidus* ("pop 6"), který byl metodou STACEY a mnoha jednogennými MSC metodami vymezen jako samostatný druh. Zajímavé je, že když byla tato subpopulace v modelech simulovaných

v DELINEATE považována za součást *A. subalbidus*, tak nikdy nebyl *A. dobrogensis* oddělen od *A. candidus*, a pokud byla tato populace od *A. subalbidus* oddělena, tak DELINEATE rovněž podporoval oddělení kmene DTO 266-G2 (*A. taichungensis* pop 2) od *A. taichungensis*. V těchto případech k definitivnímu rozhodnutí přispěly hlavně výsledky GCPSR a fenotypových studií, které nepodpořily vymezení těchto populací jako samostatných druhů. Opačná situace byla u *A. dobrogensis*.

5.2. Vnitrodruhová variabilita

Studie zaměřené na vnitrodruhovou variabilitu u rodu *Aspergillus* jsou obecně vzácné. Právě v tomto ohledu je předložená práce jedinečná, protože ukazuje variabilitu několika fenotypových znaků u relativně velkého počtu kmenů u několika příbuzných druhů. Ukázalo se, že rozměry mikromorfologických znaků, teplotní profil růstu a morfologie kolonií jsou v rámci některých druhů vysoce variabilní, a že pro zachycení celého spektra variability a identifikaci taxonomicky informativních znaků je třeba shromáždit značný počet kmenů. Zajímavým zjištěním je také to, že atypické kmeny, které se výrazně odchyľují od hodnot charakteristických pro celý druh, jsou poměrně časté. Například *A. tritici* byl popsán na základě jediného kmene vykazujícího mnoho atypických znaků. Takovéto kmeny byly v době před molekulární érou často příčinou chybných taxonomických závěrů a nadbytečných popisů druhů. Existuje mnoho příkladů, kdy byl jediný atypický izolát navržen jako nový druh, například na základě poruchy vývoje plodnic, produkce atypických askospor nebo konidií a dalších znaků. Podobné případy byly velmi časté zejména v sekcích *Aspergillus* (Hubka *et al.* 2013, Chen *et al.* 2017) a *Nidulantes* (Chen *et al.* 2016, Hubka *et al.* 2016) a většina těchto druhů byla v molekulární éře synonymizována. Jména, která byla u daných druhů navržena na základě nesprávných předpokladů o jejich jedinečnosti, poskytla na základě pravidel priority výjimečně i jméno pro celý druh. V takových případech je pak typus morfologicky odlišný od ostatních zástupců téhož druhu (např. *A. proliferans*) (Hubka *et al.* 2013, Chen *et al.* 2017). Podobným případem by byl i *A. tritici*, jehož druhové jméno ale nebylo platně popsáno. Do budoucna by proto bylo vhodné tento druh znovu popsat a vybrat typus a ex-typový kmen, který lépe reprezentují typickou morfologii druhu (viz kapitola 4).

Nejen fenotypová variabilita, ale i vnitrodruhová genetická variabilita některých zástupců sekce *Candidi* je vyšší, než se předpokládalo. Toto zjištění lze ukázat na příkladu *A. subalbidus*, kde nejnižší sekvenční podobnost mezi kmeny byla 92,6 % v genu *benA*, 97,5 % v genu *CaM* a 96,3 % v genu *RPB2*. V tomto extrémním případě bylo v rámci *A.*

subalbidus pozorováno několik více či méně izolovaných populací a je možné, že časem dojde k jejich definitivní speciaci. U tří sekvenčních markerů, které byly v této práci použity, byly však zjištěny významné fylogenetické konflikty a genový tok mezi těmito populacemi. Podobná úroveň variability a strukturovanost do několika subpopulací byla dříve popsána u *A. felis* (sekce *Fumigati*) (Hubka *et al.* 2018a). Je pravděpodobné, že sběr většího počtu kmenů nebo amplifikace většího počtu genů by mohly pomoci lépe pochopit speciální procesy v sekci *Candidi* a určit druhové hranice s větší přesností. Také je možné, že markery, které byly použity v této studii, nejsou pro sekci *Candidi* optimální a že přesně neodráží převažující signál, který by byl zjištěn při analýze více markerů nebo celého genomu. Fylogenetické metody zahrnující celý genom by mohly umožnit systematickou a srovnatelnou míru druhové diferenciace hub. Reciproční monofylie a úroveň shody mezi topologiemi stromů vytvořených na základě mnoha stovek či tisíců markerů z celého genomu (faktory konkordance, z anglického „concordance factors“) by měly ve většině případů umožnit rozlišení procesů jako je rekombinace, nekompletní třídění linií a speciace (Kobmoo *et al.* 2019, Matute & Sepúlveda 2019, Mavengere *et al.* 2020). Tyto procesy je v praxi někdy těžké rozlišit, zejména pokud je k dispozici nízký počet markerů a kmenů daného druhu, jak ukázala tato studie.

5.3. Sekundární metabolity a jejich význam v taxonomii

Pokud jsou výsledky taxonomických studií do jisté míry nejednoznačné, je důležité prozkoumat více fenotypových znaků, které mohou být taxonomicky vypovídající, například údaje o spektru produkovaných sekundárních metabolitů (Frisvad & Larsen 2015). Ačkoli v této práci nebyla analýza sekundárních metabolitů zahrnuta, tak je z předchozích studií známo, že zástupci sekce *Candidi* produkují bohaté spektrum extrolitů, z nichž některé jsou pro tuto sekci unikátní a nevyskytují se u jiných druhů rodu *Aspergillus* (s výjimkou *A. ellipticus* ze sekce *Nigri*) (Rahbæk *et al.* 2000, Samson *et al.* 2007, Frisvad & Larsen 2015). Mezi tyto unikátní sekundární metabolity patří candidusiny, chlorflavoniny a terphenyliny (Mehrotra & Basu 1976, Yen *et al.* 2001, Yen *et al.* 2003b, Varga *et al.* 2007, Hubka *et al.* 2014, Hubka *et al.* 2018b). Chemotaxonomie byla v minulosti nedílnou součástí taxonomie sekce *Candidi* a produkce zmíněných metabolitů vedla před molekulární érou k převedení *A. campestris* a *A. taichungensis* do sekce *Candidi* (Rahbæk *et al.* 2000). Tyto dva druhy byly původně popsány bez jasného zařazení do sekce (Christensen 1982, Yaguchi *et al.* 1995) a jejich příslušnost k sekci *Candidi* byla později potvrzena fylogeneticky na základě DNA dat (Varga *et al.* 2007).

Jednotlivé druhy v této sekci lze také rozlišit podle produkce některých sekundárních metabolitů, např. aspergilazinu A, kyseliny barcelonové C, 3-hydroxyterphenyllinu, sphaeropsidinu A, xantoascinu a dalších (Varga *et al.* 2007, Hubka *et al.* 2014, Hubka *et al.* 2018b).

Jak již bylo zmíněno v kapitole 1.3.1, zástupci sekce *Candidi* produkují mnoho průmyslově důležitých enzymů, které mají biotechnologický potenciál. Produkce většiny těchto sekundárních metabolitů je obvykle připisována druhu *A. candidus*, ale je pravděpodobné, že jejich producent byl v některých případech chybně identifikován a zaměněn s jinými druhy ze sekce *Candidi*. Například produkce 4''-deoxy-2'-methoxyterfenyllinu (derivát p-terphenylu), která je připisována *A. candidus*, je ve skutečnosti produkována *A. subalbidus*, jak dokládají publikované DNA sekvence a umístění kmene Bdf-2 ve fylogenezi (Tabulka P5 a Obrázek P1 v příloze) (Shan *et al.* 2020). Podobné záměny jsou běžné i v klinické mykologii v případě některých infekcí, které jsou často chybně přisuzovány druhu *A. candidus*. Například ve studii od Kaur *et al.* (2021) špatně přisoudili případ vzniklého eumycetomu (infekce kůže či podkoží většinou dolních končetin způsobená houbami) druhu *A. candidus* namísto *A. tritici*. Takovéto reidentifikace jsou však možné pouze v případech, kde jsou buď zkoumané izoláty trvale zachovány ve sbírkách mikroorganismů nebo jsou k dispozici DNA sekvence variabilních genů, což v případě studií o bioaktivních produktech a klinických studiích, není stále všeobecně platným standardem.

6. Závěr

V předložené práci byla provedena taxonomická revize druhových hranic sekce *Candidi* rodu *Aspergillus*. Pro konzistentní určení druhových hranic byl definován takzvaný intergativní přístup spočívající ve skórování čtyř kritérií, mezi které byly zahrnuty výsledky analýzy fylogeneze založené na přístupu GCPSR, jednogenových delimitačních MSC metodách, mnohagenové MSC metodě STACEY a výsledky analýzy fenotypu.

Na základě výsledků integrativního přístupu bylo podpořeno sedm stávajících druhů a dva nové dosud nepopsané druhy. Druhové jméno *A. tritici* je neplatné a druh by měl být znovu popsán. V rámci druhů *A. campestris*, *A. subalbidus* a *A. taichungensis* byla pozorována značná fenotypová i genetická vnitrodruhová variabilita, která přispěla k pochopení šíře druhů v rámci rodu *Aspergillus*. Podpora druhu *A. dobrogensis* a jeho odlišení od *A. candidus* je nejisté a je zapotřebí shromáždit více izolátů a molekulárních dat pro pochopení toho, zda se jedná o částečně morfologicky odlišené populace nebo o samostatné druhy.

7. Seznam použité literatury

- Ahmadi B, Hashemi SJ, Zaini F, *et al.* (2012). A case of onychomycosis caused by *Aspergillus candidus*. *Medical Mycology Case Reports* **1**:45-48.
- Avanzini F, Bigoni A, Nicoletti G (1991). A rare case of isolated aspergilloma of the sphenoid sinus. *Acta Otorhinolaryngologica Italica: Organo Ufficiale Della Societa Italiana di Otorinolaringologia e Chirurgia Cervico-facciale* **11**:483-489.
- Becker A, Sifaoui F, Gagneux M, *et al.* (2015). Drug interactions between voriconazole, darunavir/ritonavir and tenofovir/emtricitabine in an HIV-infected patient treated for *Aspergillus candidus* lung abscess. *International Journal of STD & AIDS* **26**:672-675.
- Beg Q, Kapoor M, Mahajan L, *et al.* (2001). Microbial xylanases and their industrial applications: a review. *Applied Microbiology and Biotechnology* **56**:326-338.
- Bennett SEBJW (2007). An overview of the genus *Aspergillus*. *The Aspergilli* 23-34.
- Bouckaert R, Heled J, Kühnert D, *et al.* (2014). BEAST 2: a software platform for Bayesian evolutionary analysis. *PLOS Computational Biology* **10**:e1003537.
- Carballo GM, Miranda JA, Arechavala A, *et al.* (2020). Onicomycosis en paciente inmunocompetente por *Aspergillus* sección *Candidi*. *Ars Medica* 42-46.
- Chen A, Frisvad JC, Sun B, *et al.* (2016). *Aspergillus* section *Nidulantes* (formerly *Emericella*): Polyphasic taxonomy, chemistry and biology. *Studies in Mycology* **84**:1-118.
- Chen A, Hubka V, Frisvad JC, *et al.* (2017). Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Aspergillus* (formerly *Eurotium*), and its occurrence in indoor environments and food. *Studies in Mycology* **88**:37-135.
- Christensen M (1982). The *Aspergillus ochraceus* group: two new species from western soils and a synoptic key. *Mycologia* **74**:210-225.
- Cole RJ, Hill R, Blankenship P, *et al.* (1986). Color mutants of *Aspergillus flavus* and *Aspergillus parasiticus* in a study of preharvest invasion of peanuts. *Applied and Environmental Microbiology* **52**:1128-1131.
- Darriba D, Taboada GL, Doallo R, *et al.* (2012). jModelTest 2: more models, new heuristics and parallel computing. *Nature Methods* **9**:772-772.
- De Hoog G, Guarro J, Figueras M, *et al.* (2009). *Atlas of clinical fungi. 3rd CD-ROM ed.* Utrecht, the Netherlands, CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre
- Dettman JR, Jacobson DJ, Taylor JW (2003). A multilocus genealogical approach to phylogenetic species recognition in the model eukaryote *Neurospora*. *Evolution* **57**:2703-2720.
- Dettman JR, Jacobson DJ, Taylor JW (2006). Multilocus sequence data reveal extensive phylogenetic species diversity within the *Neurospora discreta* complex. *Mycologia* **98**:436-446.
- Edwards SV (2009). Is a new and general theory of molecular systematics emerging? *Evolution: International Journal of Organic Evolution* **63**:1-19.
- El-Desoky AH, Inada N, Maeyama Y, *et al.* (2021). Taichunins E–T, Isopimarane Diterpenes and a 20-nor-Isopimarane, from *Aspergillus taichungensis* (IBT 19404): Structures and Inhibitory Effects on RANKL-Induced Formation of Multinuclear Osteoclasts. *Journal of Natural Products* **84**:2475-2485.
- Elaasser MM, Abdel-Aziz MM, El-Kassas RA (2011). Antioxidant, antimicrobial, antiviral and antitumor activities of pyranone derivative obtained from *Aspergillus candidus*. *Journal of Microbiology and Biotechnology* **1**:5-17.

- Falser N (1983). Mycotic infection of the ear: a harmless saprophyte or pathognomonic risk factor? *Laryngologie, Rhinologie, Otologie* **62**:140-146.
- Farias CM, De Souza OC, Sousa MA, *et al.* (2015). High-level lipase production by *Aspergillus candidus* URM 5611 under solid state fermentation (SSF) using waste from *Siagrus coronata* (Martius) Becari. *African Journal of Biotechnology* **14**:820-828.
- Frisvad JC, Larsen TO (2015). Chemodiversity in the genus *Aspergillus*. *Applied Microbiology and Biotechnology* **99**:7859-7877.
- Fujisawa T, Barraclough TG (2013). Delimiting species using single-locus data and the Generalized Mixed Yule Coalescent approach: a revised method and evaluation on simulated data sets. *Systematic biology* **62**:707-724.
- Gams W, Christensen M, Onions AH, *et al.* (1986). Infrageneric taxa of *Aspergillus*. In: *Advances in Penicillium and Aspergillus systematics* Springer, 55-62
- Garai D, Kumar V (2013). Response surface optimization for xylanase with high volumetric productivity by indigenous alkali tolerant *Aspergillus candidus* under submerged cultivation. *3 Biotech* **3**:127-136.
- García-Agudo L, Aznar-Marín P, Galán-Sánchez F, *et al.* (2011). Otomycosis due to filamentous fungi. *Mycopathologia* **172**:307-310.
- Glass NL, Donaldson GC (1995). Development of primer sets designed for use with the PCR to amplify conserved genes from filamentous ascomycetes. *Applied and Environmental Microbiology* **61**:1323-1330.
- Grazia L, Romano P, Bagni A, *et al.* (1986). The role of moulds in the ripening process of salami. *Food Microbiology* **3**:19-25.
- Gupta A, Gupta G, Jain H, *et al.* (2016). The prevalence of unsuspected onychomycosis and its causative organisms in a multicentre Canadian sample of 30 000 patients visiting physicians' offices. *Journal of the European Academy of Dermatology and Venereology* **30**:1567-1572.
- Hall T. BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. 1999 p. 95-98.
- Han J, Lu F, Bao L, *et al.* (2020). Terphenyl derivatives and terpenoids from a wheat-born mold *Aspergillus candidus*. *The Journal of Antibiotics* **73**:189-193.
- Heled J, Drummond AJ (2009). Bayesian inference of species trees from multilocus data. *Molecular Biology and Evolution* **27**:570-580.
- Hong S-B, Cho H-S, Shin H-D, *et al.* (2006). Novel *Neosartorya* species isolated from soil in Korea. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **56**:477-486.
- Houbraken J, Kocsubé S, Visagie C, *et al.* (2020). Classification of *Aspergillus*, *Penicillium*, *Talaromyces* and related genera (*Eurotiales*): An overview of families, genera, subgenera, sections, series and species. *Studies in Mycology* **96**:141-153.
- Hubka V, Kolařík M (2012). β -tubulin paralogue *tubC* is frequently misidentified as the *benA* gene in *Aspergillus* section *Nigri* taxonomy: primer specificity testing and taxonomic consequences. *Persoonia* **29**:1-10.
- Hubka V, Kubatova A, Mallatova N, *et al.* (2012). Rare and new etiological agents revealed among 178 clinical *Aspergillus* strains obtained from Czech patients and characterized by molecular sequencing. *Medical Mycology* **50**:601-610.
- Hubka V, Kolařík M, Kubátová A, *et al.* (2013). Taxonomic revision of *Eurotium* and transfer of species to *Aspergillus*. *Mycologia* **105**:912-937.

- Hubka V, Lyskova P, Frisvad JC, *et al.* (2014). *Aspergillus pragensis* sp. nov. discovered during molecular reidentification of clinical isolates belonging to *Aspergillus* section *Candidi*. *Sabouraudia* **52**:565-576.
- Hubka V, Nováková A, Kolařík M, *et al.* (2015). Revision of *Aspergillus* section *Flavipedes*: seven new species and proposal of section *Jani* sect. nov. *Mycologia* **107**:169-208.
- Hubka V, Nováková A, Peterson SW, *et al.* (2016). A reappraisal of *Aspergillus* section *Nidulantes* with descriptions of two new sterigmatocystin-producing species. *Plant Systematics and Evolution* **302**:1267-1299.
- Hubka V, Barrs V, Dudová Z, *et al.* (2018a). Unravelling species boundaries in the *Aspergillus viridinutans* complex (section *Fumigati*): opportunistic human and animal pathogens capable of interspecific hybridization. *Persoonia* **41**:142-174.
- Hubka V, Nováková A, Jurjević Ž, *et al.* (2018b). Polyphasic data support the splitting of *Aspergillus candidus* into two species; proposal of *Aspergillus dobrogensis* sp. nov. *International Journal of Systematic and Evolutionary Microbiology* **68**:995-1011.
- Iwasaki K, Tategami T, Sakamoto Y, *et al.* (1991). An operated case report of pulmonary aspergillosis by saprophytic infection of *Aspergillus candidus* in congenital bronchial cyst of right lower lobe. *Kyobu Geka. The Japanese Journal of Thoracic Surgery* **44**:429-432.
- Jackson JC, Higgins LA, Lin X (2009). Conidiation color mutants of *Aspergillus fumigatus* are highly pathogenic to the heterologous insect host *Galleria mellonella*. *PLOS one* **4**:1-14.
- Jones G, Aydin Z, Oxelman B (2015). DISSECT: an assignment-free Bayesian discovery method for species delimitation under the multispecies coalescent. *Bioinformatics* **31**:991-998.
- Jones G (2017). Algorithmic improvements to species delimitation and phylogeny estimation under the multispecies coalescent. *Journal of Mathematical Biology* **74**:447-467.
- Jurjević Ž, Kubátová A, Kolařík M, *et al.* (2015). Taxonomy of *Aspergillus* section *Petersonii* sect. nov. encompassing indoor and soil-borne species with predominant tropical distribution. *Plant Systematics and Evolution* **301**:2441-2462.
- Kaben U (1962). *Aspergillus candidus* Link as the cause of onychomycosis. *Zeitschrift für Haut-und Geschlechtskrankheiten* **32**:50-53.
- Katoh K, Rozewicki J, Yamada KD (2019). MAFFT online service: multiple sequence alignment, interactive sequence choice and visualization. *Briefings in Bioinformatics* **20**:1160-1166.
- Kaur M, Singla N, Bhalla M, *et al.* (2021). *Aspergillus candidus* eumycetoma with review of literature. *Journal of Medical Mycology* **31**:101135.
- Kingman J. On the genealogy of large populations. *Stoch.* 1982 p. 235-248.
- Klich MA (2002). Biogeography of *Aspergillus* species in soil and litter. *Mycologia* **94**:21-27.
- Kobayashi A, Takemura A, Koshimizu K, *et al.* (1982). Candidusin A and B: new p-terphenyls with cytotoxic effects on sea urchin embryos. *Agricultural and Biological Chemistry* **46**:585-589.
- Kobmoo N, Mongkolsamrit S, Arnarnart N, *et al.* (2019). Population genomics revealed cryptic species within host-specific zombie-ant fungi (*Ophiocordyceps unilateralis*). *Molecular Phylogenetics and Evolution* **140**:106580.

- Kochhar A, Gupta AK, Kaur N (1999). Purification and immobilisation of inulinase from *Aspergillus candidus* for producing fructose. *Journal of the Science of Food and Agriculture* **79**:549-554.
- Kornerup A, Wanscher JH (1967). Methuen handbook of colour. *Methuen handbook of colour*.
- Kubatko LS, Degnan JH (2007). Inconsistency of phylogenetic estimates from concatenated data under coalescence. *Systematic Biology* **56**:17-24.
- Lanfear R, Frandsen PB, Wright AM, *et al.* (2017). PartitionFinder 2: new methods for selecting partitioned models of evolution for molecular and morphological phylogenetic analyses. *Molecular Biology and Evolution* **34**:772-773.
- Letunic I, Bork P (2021). Interactive Tree Of Life (iTOL) v5: an online tool for phylogenetic tree display and annotation. *Nucleic Acids Research* **49**:W293-W296.
- Li W, Jiao F-W, Wang J-Q, *et al.* (2020). Unguisin G, a new kynurenine-containing cyclic heptapeptide from the sponge-associated fungus *Aspergillus candidus* NF2412. *Tetrahedron Letters* **61**:152322.
- Lin Y-K, Xie C-L, Xing C-P, *et al.* (2021). Cytotoxic p-terphenyls from the deep-sea-derived *Aspergillus candidus*. *Natural Product Research* **35**:1627-1631.
- Linares G, McGarry PA, Baker RD (1971). Solid solitary aspergillotic granuloma of the brain: report of a case due to *Aspergillus candidus* and review of the literature. *Neurology* **21**:177-177.
- Liu YJ, Whelen S, Hall BD (1999). Phylogenetic relationships among ascomycetes: evidence from an RNA polymerase II subunit. *Molecular Biology and Evolution* **16**:1799-1808.
- Malhão F, Ramos AA, Buttachon S, *et al.* (2019). Cytotoxic and antiproliferative effects of Preussin, a hydroxypyrrolidine derivative from the marine sponge-associated Fungus *Aspergillus candidus* KUFA 0062, in a panel of breast cancer cell lines and using 2D and 3D cultures. *Marine Drugs* **17**:1-27.
- Marchelli R, Vining L (1973). The biosynthetic origin of chlorflavonin, a flavonoid antibiotic from *Aspergillus candidus*. *Canadian Journal of Biochemistry* **51**:1624-1629.
- Matute DR, Sepúlveda VE (2019). Fungal species boundaries in the genomics era. *Fungal Genetics and Biology* **131**:103249.
- Mavengere H, Mattox K, Teixeira MM, *et al.* (2020). *Paracoccidioides* genomes reflect high levels of species divergence and little interspecific gene flow. *MBio* **11**:e01999-01920.
- Mehrotra B, Basu M (1976). Some interesting new isolates of *Aspergillus* from stored wheat and flour. *Nova Hedwigia* **27**:597-607.
- Milala M, Shehu B, Zanna H, *et al.* (2009). Degradation of agro-waste by cellulase from *Aspergillus candidus*. *Asian Journal of Biotechnology* **1**:51-56.
- Moling O, Lass-Floerl C, Verweij P, *et al.* (2002). Chronic and acute *Aspergillus* meningitis. *Mycoses* **45**:504-511.
- Munden J, Butterworth D, Hanscomb G, *et al.* (1970). Production of chlorflavonin, an antifungal metabolite of *Aspergillus candidus*. *Applied Microbiology* **19**:718-720.
- Nguyen L-T, Schmidt HA, Von Haeseler A, *et al.* (2015). IQ-TREE: a fast and effective stochastic algorithm for estimating maximum-likelihood phylogenies. *Molecular Biology and Evolution* **32**:268-274.
- O'donnell K (1993). *Fusarium* and its near relatives. In: *The fungal holomorph: mitotic, meiotic and pleomorphic speciation in fungal systematic*. CAB International, Wallingford, UK: 225-233

- O'donnell K, Cigelnik E (1997). Two divergent intragenomic rDNA ITS2 types within a monophyletic lineage of the fungus *Fusarium* are nonorthologous. *Molecular Phylogenetics and Evolution* **7**:103-116.
- Papavizas G, Christensen C (1960). Grain storage studies. XXIX. Effect of invasion by individual species and mixtures of species of *Aspergillus* upon germination and development of discolored germs in wheat. *Cereal Chemistry* **37**:197-203.
- Paradis E, Claude J, Strimmer K (2004). APE: analyses of phylogenetics and evolution in R language. *Bioinformatics* **20**:289-290.
- Paradis E (2010). pegas: an R package for population genetics with an integrated-modular approach. *Bioinformatics* **26**:419-420.
- Peterson SW (2008). Phylogenetic analysis of *Aspergillus* species using DNA sequences from four loci. *Mycologia* **100**:205-226.
- Pitt JI, Hocking AD (1997). *Aspergillus* and related teleomorphs. In: *Fungi and Food Spoilage* (Pitt JI, Hocking AD, eds). Springer, London: 339-416
- R Core Team (2021). R: A language and environment for statistical computing. *R Foundation for Statistical Computing*, Vienna, Austria.
- Rahbæk L, Frisvad JC, Christophersen C (2000). An amendment of *Aspergillus* section *Candidi* based on chemotaxonomical evidence. *Phytochemistry* **53**:581-586.
- Rahim M, Saxena R, Gupta R, *et al.* (2003). A novel and quick plate assay for acetamidase producers and process optimization for its production by *Aspergillus candidus*. *Process Biochemistry* **38**:861-866.
- Rambaut A, Drummond AJ, Xie D, *et al.* (2018). Posterior summarization in Bayesian phylogenetics using Tracer 1.7. *Systematic Biology* **67**:901-904.
- Raper KB, Fennell DI (1965). *The genus Aspergillus*. Baltimore, Williams & Wilkins.
- Reid NM, Carstens BC (2012). Phylogenetic estimation error can decrease the accuracy of species delimitation: a Bayesian implementation of the general mixed Yule-coalescent model. *BMC Evolutionary Biology* **12**:1-11.
- Ronquist F, Teslenko M, Van Der Mark P, *et al.* (2012). MrBayes 3.2: efficient Bayesian phylogenetic inference and model choice across a large model space. *Systematic Biology* **61**:539-542.
- Rosenberg NA (2013). Discordance of species trees with their most likely gene trees: a unifying principle. *Molecular Biology and Evolution* **30**:2709-2713.
- Samson RA, Noonim P, Meijer M, *et al.* (2007). Diagnostic tools to identify black aspergilli. *Studies in Mycology* **59**:129-145.
- Samson RA, Varga J, Witiak S, *et al.* (2012). The species concept in *Aspergillus*: recommendations of an international panel. *Studies in Mycology* **72**:1-401.
- Samson RA, Visagie CM, Houbraken J, *et al.* (2014). Phylogeny, identification and nomenclature of the genus *Aspergillus*. *Studies in Mycology* **78**:141-173.
- Shan T, Wang Y, Wang S, *et al.* (2020). A new p-terphenyl derivative from the insect-derived fungus *Aspergillus candidus* Bdf-2 and the synergistic effects of terphenyllin. *PeerJ* **8**:e8221.
- Sklenář F, Jurjević Ž, Zalar P, *et al.* (2017). Phylogeny of xerophilic aspergilli (subgenus *Aspergillus*) and taxonomic revision of section *Restricti*. *Studies in Mycology* **88**:161-236.
- Sklenář F, Jurjević Ž, Houbraken J, *et al.* (2021). Re-examination of species limits in *Aspergillus* section *Flavipedes* using advanced species delimitation methods and description of four new species. *Studies in Mycology* **99**:100120.
- Sukumaran J, Holder MT, Knowles LL (2021). Incorporating the speciation process into species delimitation. *PLOS Computational Biology* **17**:e1008924.

- Sunesen L, Stahnke L (2003). Mould starter cultures for dry sausages-selection, application and effects. *Meat Science* **65**:935-948.
- Taylor JW, Jacobson DJ, Kroken S, *et al.* (2000). Phylogenetic species recognition and species concepts in fungi. *Fungal Genetics and Biology* **31**:21-32.
- Thom C, Raper K (1945). *A Manual of the Aspergilli* Baltimore, Williams & Wilkins.
- Turland NJ, Wiersema JH, Barrie FR, *et al.* (2018). *International Code of Nomenclature for algae, fungi, and plants (Shenzhen Code) adopted by the Nineteenth International Botanical Congress Shenzhen, China, July 2017*. Koeltz Botanical Books.
- Van Rossum G, Drake F (2019). Python language reference, version 3. *Python Software Foundation*
- Varga J, Frisvad JC, Samson RA (2007). Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Candidi* based on molecular, morphological and physiological data. *Studies in Mycology* **59**:75-88.
- Vennewald I, Schönlebe J, Klemm E (2002). Histologische Untersuchungen bei Otomykosen* Histological studies in otomycosis. *Mycoses* **45**:47-52.
- Visagie CM, Hirooka Y, Tanney JB, *et al.* (2014). *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* isolated from house dust samples collected around the world. *Studies in Mycology* **78**:63-139.
- Visagie CM, Yilmaz N, Renaud JB, *et al.* (2017). A survey of xerophilic *Aspergillus* from indoor environment, including descriptions of two new section *Aspergillus* species producing eurotium-like sexual states. *MycKeys* **19**:1.
- Wang D, Qu P, Zhou J, *et al.* (2020). p-Terphenyl alcohols from a marine sponge-derived fungus, *Aspergillus candidus* OUCMDZ-1051. *Marine Life Science & Technology* **2**:262-267.
- Wei H, Inada H, Hayashi A, *et al.* (2007). Prenylterphenyllin and its dehydroxyl analogs, new cytotoxic substances from a marine-derived fungus *Aspergillus candidus* IF10. *The Journal of Antibiotics* **60**:586-590.
- Weidenböcker M, Kunz B (1994). Contamination of different muesli components by fungi. *Mycological Research* **98**:583-586.
- White TJ, Bruns T, Lee S, *et al.* (1990). Amplification and direct sequencing of fungal ribosomal RNA genes for phylogenetics. *PCR Protocols: a Guide to Methods and Applications* **18**:315-322.
- Wickham H (2016). *ggplot2: elegant graphics for data analysis*. Verlag, New York, Springer.
- Yaguchi T, Someya A, Udagawa S-I (1995). *Aspergillus taichungensis*, a new species from Taiwan. *Mycoscience* **36**:421-424.
- Yang Z (2015). The BPP program for species tree estimation and species delimitation. *Current Zoology* **61**:854-865.
- Yen G-C, Chang Y-C, Sheu F, *et al.* (2001). Isolation and characterization of antioxidant compounds from *Aspergillus candidus* broth filtrate. *Journal of Agricultural and Food Chemistry* **49**:1426-1431.
- Yen G-C, Chang Y-C, Su S-W (2003a). Antioxidant activity and active compounds of rice koji fermented with *Aspergillus candidus*. *Food Chemistry* **83**:49-54.
- Yen G-C, Chiang H-C, Wu C-H, *et al.* (2003b). The protective effects of *Aspergillus candidus* metabolites against hydrogen peroxide-induced oxidative damage to Int 407 cells. *Food and Chemical Toxicology* **41**:1561-1567.
- Zaror L, Moreno M (1980). Onicomycosis por *Aspergillus candidus* Link. *Revista Argentina de Micologia* **3**:13-15.

- Zhang J, Kapli P, Pavlidis P, *et al.* (2013). A general species delimitation method with applications to phylogenetic placements. *Bioinformatics* **29**:2869-2876.
- Zhou G, Sun C, Hou X, *et al.* (2021). Ascandinines A–D, indole diterpenoids, from the sponge-derived fungus *Aspergillus candidus* HDN15-152. *The Journal of Organic Chemistry* **86**:2431-2436.

8. Přílohy

Tabulka P1. Kmeny *Aspergillus* ze sekce *Candidi* použité v této studii.

Druh	Číslo kmene ^a	Substrát, lokalita, rok izolace	Přístupová čísla do GenBank/EMBL			
			ITS	benA	caM	RPB2
<i>A. campestris</i>	CBS 348.81 ¹ = IMI 259099 ² = NRRL 13001 ³ = IBT 13382 ⁴ = IBT 28561 ⁵ = ATCC 44563 ⁶ = IFM 50931 ⁷ = CCF 5596 ⁸	USA, Severní Dakota, poblíž Zap. zásobní hromada omnice přemístěná z původní smíšené prerie (<i>Agropyron</i> spp., <i>Bouteloua gracilis</i>), 1979, R.M. Miller & S.M. Phippen	EF669577	EU014091	EF669535	EF669619
	IBT 17867 = CCF 5700	USA, Wyoming, Pillot Hill Road, Medicine Bow National Forest, blízko Laramie, půda, 1994, J.C. Frisvad	ON156368	ON164544	ON164594	ON164491
	CCF 5641 = IFM 66789 = EMSL 1816	USA, Wyoming, Gillette, vzduch v obývacím pokoji, 2012, Ž. Jurjevič	ON156369	ON164567	ON164616	ON164514
	FMR 15224 = CBS 142984 = CCF 6075 = IFM 66790	Španělsko, Castile a Leon, Palencia, Monte el Viejo, Deer Reserve Park, herbivoři trus, 2016, J. Gené & J. Z. Siqueira	LT798902	LT798915	LT798916	LT798917
	FMR 15226 = CBS 142985 = CCF 6053	Španělsko, Castile a Leon, Palencia, Monte el Viejo, Deer Reserve Park, herbivoři trus, 2016, J. Gené & J. Z. Siqueira	LT798903	LT798918	LT798919	LT798920
	IBT 23172 = IMI 073462 = CCF 5699 = IFM 66791	USA, Kalifornie, králíci (<i>Oryctolagus cuniculus</i>) trus, 1958, S. Stribling	ON156370	ON164568	ON164617	ON164515
	IMI 344489	Jihoafrická republika, Pretoria, myši trus, uloženo do sbírky IMI v roce 1991, R. Y. Anelich	ON156371	ON164569	ON164618	ON164516
	CBS 566.65 ¹ = IMI 091889 ² = NRRL 303 ³ = IBT 28566 ⁴ = ATCC 1002 ⁵ = CCF 5594 ⁶	neznámé, obdrženo od Rapera a Fennella v roce 1909 od prof. Westerdijka	EF669592	EU014089	EF669550	EF669634
	CCF 488 = IBT 32273	Česká republika, chodby kůrovců, 1960, E. Sychrová	FR733811	LT626977	LT626978	LT626979
	CCF 4029 = CMF ISB 1730 = IBT 32272	Rumunsko, jeskyně Meziad, netopýří trus, 2009, A. Nováková	FR733813	LT626980	FR751424	LT626981
	CCF 3996 = CBS 134394	Česká republika, Praha, vnější zvukovod, otitis externa (muž, 53 let), 2010, P. Lysková	FR727137	FR775325	HE716843	LT626982
	CCF 5577	Rumunsko, jeskyně Ungurului, staré netopýří guano, 2010, A. Nováková	LT626946	LT626983	LT626984	LT626985
<i>A. candidus</i>	NRRL 58579 = CCF 5843 = IBT 33371 = EMSL 914	USA, New York, vzduch uvnitř domu, 2008, Ž. Jurjevič	LT626947	LT626986	LT626987	LT626988
	NRRL 58959 = CCF 5845 = EMSL 1252	USA, Pensylvánie, vzduch uvnitř domu, 2009, Ž. Jurjevič	LT626948	LT626989	LT626990	LT626991
	CCF 4912 = EMSL 2295	USA, New Jersey, Cranbury, výter kovového potrubí v průlezném prostoru (crawl space), 2014, Ž. Jurjevič	LT626949	LT626992	LT626993	LT626994

CCF 5172	Česká republika, Praha, myší trus v zásobníku semen, 2000, J. Hubert	LT626953	LT627005	LT627006	LT627007
CCF 4713	Rumunsko, jeskyně Ungurului, netopýří guano, 2010, A. Nováková	LT626950	LT626995	LT626996	LT626997
CCF 4659	Česká republika, Hustopeče, nehty na nohou (žena, 52 let), 2012, S. Dobiášová	HG915889	HG916672	HG916681	LT626998
CCF 4915 = EMSL 1285	USA, Rhode Island, vzduch v obývacím pokoji, 2009, Ž. Jurjević	LT626951	LT626999	LT627000	LT627001
NRRL 4646 = IMI 359076 = DTO 213-G2 = CBS 133061	USA, stelivo ve stodole, D. Fennell	EF669605	EU014090	EF669563	EF669647
CCF 5675 = EMSL 2403	USA, Pensylvánie, Feasterville, vzduch v suterénu domu, 2014, Ž. Jurjević	LT626952	LT627002	LT627003	LT627004
CCF 5576 = EMSL 2421	USA, New York, Binghamton, vzduch v ložnici, 2014, Ž. Jurjević	LT626954	LT627008	LT627009	LT627010
DTO 223-E5	Nizozemsko, půda, 2012, M. Meijer	LT626955	LT627011	LT627012	LT627013
CCF 6195 = EMSL 2721	USA, Minnesota, Minneapolis, prach v učebně, 2015, Ž. Jurjević	ON156372	ON164545	ON164634	ON164492
CCF 6198 = EMSL 2863	USA, Ohio, Westerville, vzduch v suterénu (kultivační misky), 2015, Ž. Jurjević	ON156373	ON164546	ON164595	ON164493
CCF 6200 = EMSL 2895	USA, Massachusetts, Cohasset, vzduch v koupelně, 2015, Ž. Jurjević	ON156374	ON164547	ON164596	ON164494
CN138F7 = KAS 5864	Kanada, Nova Scotia, Wolfville, prach v domě, 2017, izoloval Cobus M. Visagie, sbíral Allison Walker	—	ON164548	ON164597	ON164495
CN138F8 = KAS 6297	Kanada, Nova Scotia, Wolfville, prach v domě, 2017, izoloval Cobus M. Visagie, sbíral Allison Walker	—	ON164549	ON164598	ON164496
CN138F9 = KAS 6134	Kanada, Nova Scotia, Wolfville, prach v domě, 2017, izoloval Cobus M. Visagie, sbíral Allison Walker	—	ON164550	ON164599	ON164497
CN138G1 = KAS 6135	Kanada, Nova Scotia, Wolfville, prach v domě, 2017, izoloval Cobus M. Visagie, sbíral Allison Walker	—	ON164551	ON164600	ON164498
CCF 4651 ^r = CCF 4655 ^r = NRRL 6282 1 ^r = IBT 32697 ^r = CBS 143370 ^r	Rumunsko, jeskyně Movile, jskynní sediment, 2012, A. Nováková	LT626959	LT627027	LT558722	LT627028
IBT 29476 = CCF 5823	Dánsko, Have Stra, myší trus, 2007, J.C. Frisvad	LT907964	LT907967	LT907966	LT907969
CCF 5567	Rumunsko, jeskyně Meziad, netopýří trus, 2009, A. Nováková	LT626960	LT627029	LT627030	LT627031
CCF 5568	Rumunsko, jeskyně Lilecilor de la Guru Dobrogei, Galeria Fossile, netopýří guano, 2010, A. Nováková	LT626961	LT627032	LT627033	LT627034

**A.
dobrogeensis**

CCF 4650 = CCF 4657 = NRRL 62820 = IBT 32699 CCF 4649 = IBT 32700	Rumunsko, jeskyně Meziad, jeskynní sediment, 2010, A. Nováková	LT626962	LT627035	LT627036	LT627037
CCF 5569	Rumunsko, jeskyně Liliecilor de la Guru Dobrogei, Galeria Fossile, netopýří guano, 2010, A. Nováková	LT626963	LT627038	LT627039	LT627040
CCF 5570	Rumunsko, jeskyně Liliecilor de la Guru Dobrogei, Galeria Fossile, bat guano, 2010, A. Nováková	LT626964	LT627041	LT627042	LT627043
CCF 5573	Rumunsko, jeskyně Liliecilor de la Guru Dobrogei, Galeria Fossile, netopýří trus, 2010, A. Nováková	LT626965	LT627044	LT627045	LT627046
CCF 5571	Rumunsko, jeskyně Liliecilor de la Guru Dobrogei, cave air, 2011, A. Nováková	LT626966	LT627047	LT627048	LT627049
CCF 5572	Rumunsko, jeskyně Meziad, netopýří guano v horním patře, 2010, A. Nováková	LT626967	LT627050	LT627051	LT627052
CCF 5574	Rumunsko, jeskyně Liliecilor de la Guru Dobrogei, vzduch v jeskyni, 2013, A. Nováková	LT626968	LT627053	LT627054	LT627055
CCF 5575	Rumunsko, jeskyně Liliecilor de la Guru Dobrogei, Galeria Fossile, netopýří trus, 2014, A. Nováková	LT626969	LT627056	LT627057	LT627058
CBS 225.80 = DTO 031-E6 DTO 025-II DTO 013-C4 = IBT 28582	Česká republika, nehty (žena, 31 let), 2014, P. Lysková Nizozemsko, lidský nehet (kontaminant), 1980, CBS Německo, koberec, 2006	LT626970 LT626971 LT626972	LT627059 LT627062 LT627077	LT627060 LT627063 LT627078	LT627061 LT627064 LT627079
DT0 001-F9 = IBT 28576 DT0 029-H2 DT0 031-D9 = CBS 116945 = IBT 116945 = IBT 28573 CCF 5844 = EMSL No. 2810	Nizozemsko, Maastricht, vzduch uvnitř budovy, 2006, J. Houbraken Nizozemsko, povrch muzejní plošky, 2004, J. Houbraken Německo, koberec, 2006 Nizozemsko, Tiel, prach v muzeu, 2004, J. Houbraken	LT626973 LT626974 LT626975 LT626976	LT627065 LT627068 LT627071 LT627074	LT627066 LT627069 LT627072 LT627075	LT627067 LT627070 LT627073 LT627076
FMR 15444 = CBS 142752 = CCF 6119 FMR 15601 = CCF 5846	USA, New York, Lockport, vzduch v suterénu (kultivační misky), 2015, Ž. Jurjević Španělsko, Galicie, Lugo, Ribeira Sacra, herbivoří trus, 2016, J. Guarro & M. Guevara-Suarez	LT907963 LT798904	ON164552 LT798921	LT907965 LT798922	LT907968 LT798923
CCF 3853 ^r = IBT 32725 ^r	Španělsko, Galicie, Orense, Cortegada, herbivoří trus, 2016, J. Guarro & M. Guevara-Suarez Česká republika, Praha, nehty na nohou (muž, 62 let), 2008, M. Skotěpová	ON156375 FR727136	LT962396 FR775327	ON164601 HE661598	ON164499 LT627021
CBS 266.81 = IBT 21956 = CCF 5842 CCF 4030 = CMF ISB 1300 = IBT 32729 CCF 4653	Indie, zrna <i>Triticum aestivum</i> , < 1976, B.S. Mehrotra Česká republika, Frýdek-Místek, vernikompost, 2001, A. Nováková Česká republika, Praha, nehty na nohou (žena, 58 let), 2012, P. Lysková	LT626958 FR733814 HG915890	EU076293 LT627018 HG916674	HG916678 FR751425 HG916677	LT627017 LT627019 LT627020

**A.
triticci**

CCF 3314	Česká republika, Praha, venkovní vzduch, 1996, A. Kubátová	FR733812	LT627022	FR751426	LT627023
CCF 1649	Česká republika, Praha, mouka, 1979, J. Svrčková	FR733810	LT627024	FR751427	LT627025
NRRL 4847 = IMI 359077 =	Japonsko (?), neznámé, obdrženo od Rapera a Fennella z CBS jako	ON156395	ON164587	ON164628	ON164537
DTO 213-G3 = CBS 133055 =	kmen <i>A. albus</i> var. <i>thermophilus</i> z Nakazawa				
CCF 4809					
CCF 4658	Česká republika, Praha, nehty na nohou (žena, 69 let), 2008, M. Skotěpová	HG915891	HG916675	HG916676	LT627026
DTO 201-D3 = CBS 129260 =	USA, Nebraska, 1 míle severně od Milleru, sprašová půda, 6 stop	ON156397	ON164591	ON164632	ON164541
RMF 7641	hluboká, půdní profil, 1984	ON156398	ON164592	ON164633	ON164542
DTO 201-G7 = RMF TC 215 =	neznámá lokalita, půda	ON156396	ON164588	ON164629	ON164538
CBS 129307		ON156394	ON164589	ON164630	ON164539
CCF 6202 = EMSL 3152	USA, Florida, Key West, kultivační misky v ložnici, 2015, Ž. Jurjević	—	ON164590	ON164631	ON164540
CCF 6397	Česká republika, Havlíčkův Brod, břišní dutina muže (62 let)	ON156393	ON164557	ON164606	ON164504
	s diseminovanou mykózou (pravděpodobně způsobené <i>Rhizopus</i> sp. a <i>Trichosporon asahii</i>), 2020, D. Lžičarová	ON156392	ON164556	ON164605	ON164503
CN117B9	Jihoafrická republika, Free State, Viljoenskroon, kukuřice, 2020, izolátor a kolektor Cobus M. Visagie	FR727138	HE661604	FR751452	LN849445
IBT 12659	USA, Nové Mexiko, Národní přírodní rezervace Sevilleta, Socorro County, půda v noře tarbíkomysí, 1989, L. Hawkins	HG915888	HG916673	HG916680	LT627014
CCF 4914 = IFM 66793 =	USA, Arizona, Tucson, vzduch v nemocnici, 2013, Ž. Jurjević	LT908112	LT908040	LT908041	LT908042
EMSL 2182		LT908111	LT908037	LT908038	LT908039
CCF 3962 ^r = CBS 135591 ^r =	Česká republika, Praha, nehty na nohou (muž, 58 let), 2007, M. Skotěpová	LT908113	LT908043	LT908044	LT908045
IBT 32274 ^r = NRRL 62491 ^r	Česká republika, Praha, nehty na nohou (muž, 59 let), 2013, P. Lysková	—	ON164553	ON164602	ON164500
CCF 4654 = IBT 32701	USA, Pensylvánie, Feasterville, koberec v ložnici, 2013, Ž. Jurjević	—	ON164554	ON164603	ON164501
CCF 5847 = EMSL 2216	USA, Pensylvánie, vzduch uvnitř domu, 2008, Ž. Jurjević	—	ON164555	ON164604	ON164502
NRRL 58614 = CCF 4911 =					
EMSL 1057					
CCF 5693 EMSL 2397	USA, Maryla, Cohasset, venkovní vzduch, 2014, Ž. Jurjević				
CN138F5 = KAS 6296	Kanada, Nova Scotia, Little Leveau, prach v domě, 2017, izoloval Cobus M Visagie, sbíral Allison Walker				
CN138G6 = KAS 6138	Kanada, Nova Scotia, Little Leveau, prach v domě, 2017, izoloval Cobus M Visagie, sbíral Allison Walker				
CN138G8 = KAS 6299	Kanada, Nova Scotia, Little Leveau, prach v domě, 2017, izoloval Cobus M Visagie, sbíral Allison Walker				
CBS 567.65 ^r = NRRL 312 ^r =	Brazílie, obdrženo od Rapera a Fennella v roce 1939 od J. Reis (Instituto Biologica)	EF669593	KP987050	EF669551	EF669635
ATCC 16871 ^r = IMI 230752 ^r =					
CCF 5822 ^r					

CBS 112449 = DTO 031-E3 = DTO 039-E7	Německo, vnitřní prostředí budovy	LT626956	EU076294	EU076307	LT627015
NRRL 5214 = ATCC 26930 = IMI 16046 = CCF 4860	Ghana, zeleninové sádlo, Mezinárodní mykologický institut, Egham, Anglie, 1933, H.A.	LT908114	LT908034	LT908035	LT908036
CCF 5696 = EMSL 2674	USA, Georgia, Canton, kulturní misky v obývacím pokoji, 2015, Ž. Jurjević	ON156388	ON164571	ON164620	ON164518
CCF 6199 = EMSL 2894	USA, Florida, Bradenton, vzduch v koupelně (kulturní misky), 2015, Ž. Jurjević	ON156386	ON164572	ON164621	ON164519
DN12=CN162C8	Botswana, pánev Okavango, jeskyně Gwihaba, půda kontaminovaná netopýřím guanem, 2019, izoloval G. Modise a D. Nkwe, sbíral D. Nkwe a R. Mazebedi	—	ON164573	MW480718	ON164520
DN13=CN162C9	Botswana, pánev Okavango, jeskyně Gwihaba, půda kontaminovaná netopýřím guanem, 2019, izoloval G. Modise a D. Nkwe, sbíral D. Nkwe a R. Mazebedi	—	ON164574	MW480719	ON164521
DN62=CN162D1	Botswana, pánev Okavango, jeskyně Gwihaba, půda kontaminovaná netopýřím guanem, 2019, izoloval G. Modise a D. Nkwe, sbíral D. Nkwe a R. Mazebedi	—	ON164575	MW480764	ON164522
DN67=CN162D2	Botswana, pánev Okavango, jeskyně Gwihaba, půda kontaminovaná netopýřím guanem, 2019, izoloval G. Modise a D. Nkwe, sbíral D. Nkwe a R. Mazebedi	—	ON164576	MW480769	ON164523
DN68=CN162D3	Botswana, pánev Okavango, jeskyně Gwihaba, půda kontaminovaná netopýřím guanem, 2019, izoloval G. Modise a D. Nkwe, sbíral D. Nkwe a R. Mazebedi	—	ON164577	MW480770	ON164524
DN69=CN162D4	Botswana, pánev Okavango, jeskyně Gwihaba, půda kontaminovaná netopýřím guanem, 2019, izoloval G. Modise a D. Nkwe, sbíral D. Nkwe a R. Mazebedi	—	ON164578	MW480771	ON164525
DN75=CN162D5	Botswana, pánev Okavango, jeskyně Gwihaba, půda kontaminovaná netopýřím guanem, 2019, izoloval G. Modise a D. Nkwe, sbíral D. Nkwe a R. Mazebedi	—	ON164579	MW480777	ON164526
DN80=CN162D6	Botswana, pánev Okavango, jeskyně Gwihaba, půda kontaminovaná netopýřím guanem, 2019, izoloval G. Modise a D. Nkwe, sbíral D. Nkwe a R. Mazebedi	—	ON164580	MW480781	ON164527
DN82=CN162D7	Botswana, pánev Okavango, jeskyně Gwihaba, půda kontaminovaná netopýřím guanem, 2019, izoloval G. Modise a D. Nkwe, sbíral D. Nkwe a R. Mazebedi	—	ON164581	MW480783	ON164528
DN85=CN162D8	Botswana, pánev Okavango, jeskyně Gwihaba, půda kontaminovaná netopýřím guanem, 2019, izoloval G. Modise a D. Nkwe, sbíral D. Nkwe a R. Mazebedi	—	ON164582	MW480785	ON164529
CCF 5642 = IFM 66794 = EMSL 410	USA, Connecticut, stěna v domě, 2008, Ž. Jurjević	ON156377	ON164558	ON164607	ON164505

A. taichungensis	CCF 6197 = IFM 66795 = EMSL 2731	USA, Illinois, Mokena, kultivační misky v průlezném prostoru („crawl space“), 2015, Ž. Jurjević	ON156378	ON164559	ON164608	ON164506
	CCF 5643 = EMSL 2181		ON156380	ON164561	ON164610	ON164508
Aspergillus sp. 1	NRRL 4809 = ATCC 11380 = IFO 4310 = DTO 213-F7 = CBS 133057 = CCF 5595	Japonsko (?), neznámá lokalita, čínský koláček, obdrženo od Rapera a Fennella z Institutu pro fermentaci, Osaka, Japonsko (No. 4319) jako "A. albus var. 1", M. Yamazaki, 1946	EF669609	EU014092	EF669567	EF669651
	NRRL 58123 = CCF 6193 = IFM 66796 = EMSL 465	USA, Kalifornie, stěna v domě, 2008, Ž. Jurjević	ON156382	ON164565	ON164614	ON164512
	CCF 5697 = IFM 66797 = EMSL 2180	USA, New Jersey, Mont Clair, vzduch vnitřních prostor, 2013, Ž. Jurjević	ON156381	ON164562	ON164611	ON164509
	CCF 4913 = EMSL 2297	USA, Maryland, Baltimore, prach v obývacím pokoji, 2014, Ž. Jurjević	ON156379	ON164560	ON164609	ON164507
	CCF 5698 = EMSL 2369	USA, Maryland, Baltimore, prach v obývacím pokoji, 2014, Ž. Jurjević	ON156385	ON164563	ON164612	ON164510
	CCF 5848 = EMSL 2646	USA, Kalifornie, Rancho Mirage, kultivační misky v obývacím pokoji, 2014, Ž. Jurjević	ON156387	ON164564	ON164613	ON164511
	CCF 6205 = EMSL 3325	USA, Texas, Harker Heights, vzduch v suterénu (kultivační misky), 2015, Ž. Jurjević	ON156383	ON164566	ON164615	ON164513
	FMR 15733 = CBS 142983 = CCF 6052 = IFM 66798	Španělsko, Kanárské ostrovy, Gran Canaria, Santa Brigida, herbivoří trus, 2016, J. Gené & J. Z. Siqueira	LT798905	LT798924	LT798925	LT798926
	FMR 15736 = CBS 142983 = CCF 6074	Španělsko, Kanárské ostrovy, Gran Canaria, Teror, herbivoří trus, 2016, J. Gené & J. Z. Siqueira	LT798906	LT798927	LT798928	LT798929
	FMR 15877 = CBS 142667 = CCF 6058	Španělsko, Kanárské ostrovy, Gran Canaria, severní pobřeží, herbivoří trus, 2016, J. Gené & J. Z. Siqueira	LT798907	LT798930	LT798931	LT798932
A. taichungensis	DTO 196-E4 = CBS 126836	Ekvádor, souostroví Galapágy, půda, 1965, D.P. Mahoney	ON156384	ON164583	ON164622	ON164530
	IBT 19404T = CCF 5597T = DTO 031-C6T	Taiwan, město Taichung, půda, 1994, T. Yaguchi	LT626957	EU076297	HG916679	LT627016
Aspergillus sp. 1	DN07=CN162D9	Botswana, pánev Okavango, jeskyně Gwihaba, půda kontaminovaná netopýřím guanem, 2019, izoloval G. Modise a D. Nkwe, sbíral D. Nkwe a R. Mazebedi	—	—	MW480714	ON164531
	DTO 266-G2 = CCF 5827 = IFM 66799	Mexiko, prach v domě, 2013, C. M. Visagie	KJ775572	KJ866980	ON164627	ON164536
	DTO 270-C9 = CCF 5826	Mexiko, prach v domě, 2013, C. M. Visagie	KJ775573	KJ866981	ON164626	ON164535
	UAMH 1324T = IBT 14560T = CCF 6606T	Kanada, Alberta, Edmonton, myš odchycená na koňské farmě, 1962, J.W. Carmichael	ON156376	ON164570	ON164619	ON164517

***Aspergillus* sp. 2**

DTO 337-H7=CBS 147048	Jihoafrická republika, ostrov Robben, půda	ON156389	ON164584	ON164623	ON164532
DTO 440-E1=CBS 147376	Austrálie, Queensland, půda	ON156390	ON164585	ON164624	ON164533
DTO 440-E2	Austrálie, Queensland, půda	ON156391	ON164586	ON164625	ON164534
DTO 244-F1	Nový Zéland, vnitřní prostředí budovy, izoloval Ed Whitfield & Kalime Mwange, sbíral Tony Atkinson	ON156399	ON164543	ON164593	ON164490

***Aspergillus* sp. 3**

^a Zkratky sbírek kultur v abecedním pořadí: ATCC, American Type Culture Collection, Manassas, Virginia; CBS, Westerdijk Fungal Biodiversity Institute (dříve Centraalbureau voor Schimmelcultures), Utrecht, The Netherlands; CCF, Culture Collection of Fungi (Sbirka kultur hub), Katedra botaniky, Univerzita Karlova, Praha, Česká republika; CMF ISB, Collection of Microscopic Fungi of the Institute of Soil Biology (Sbirka mikroskopických hub Ústavu půdní biologie), Akademie věd České republiky, České Budějovice, Česká republika; CN, working collection housed at FABI (Forestry a Agricultural Biotechnology Institute, University of Pretoria, South Africa; DN, working collection of David Nkwe, housed at the Department of Biological Sciences and Biotechnology, Botswana International University of Science and Technology, Botswana; DTO, Internal Culture Collection of The Department Applied a Industrial Mycology of the CBS-KNAW Fungal Biodiversity Centre, Utrecht, The Netherlands; EMSL, EMSL Analytical Inc., New Jersey, USA; FMR, Facultat de Medicina i Cie`ncies de la Salut, Reus, Spain; FRR, Food Fungal Culture Collection, North Ride, Australia; IBT, Culture Collection at Department of Biotechnology a Biomedicine, Lyngby, Denmark; IFM, Collection at the Medical Mycology Research Center, Chiba University, Japan; IFO, Institute for Fermentation, Osaka, Japan; IHEM (BCCM/IHEM), Belgian Coordinated Collections of Micro-organisms, Fungi Collection: Human a Animal Health, Sciensano, Brussels, Belgium; IMI, CABI's collection of fungi a bacteria, Egham, UK; KAS, fungal collection of Keith A. Seifert, internal working culture collection at DAOMC (Culture collection of the National Mycological Collections, Agriculture & Agri-Food Canada), Ottawa, Canada; NRRL, Agricultural Research Service Culture Collection, Peoria, Illinois, USA; RMF, Rocky Mountain Fungi, Dept. of Botany, University of Wyoming, Laramie; UAMH, University of Alberta Microfungus a Herbarium (UAMH) culture collection, Edmonton, Alberta, Canada.

Tabulka P2. Charakteristika alignmentů, jejich rozdělení na segmenty (partitions) a substituční modely použité pro každý segment vybrané pomocí bayesovského informačního kritéria

Alignment	Délka (počet bází)	Variabilní pozice	Parsimonně informativní pozice	Fylogenetická metoda ¹	Rozdělení na segmenty (substituční modell)
<i>benA</i> + <i>CaM</i> + <i>RPB2</i>	2069	455	353	ML	Pět segmentů: 1. pozice kodónů <i>benA</i> , <i>CaM</i> & <i>RPB2</i> & 2. pozice kodónů <i>CaM</i> (TrN+I); 2. pozice kodónů <i>benA</i> & <i>RPB2</i> (JC); 3. pozice kodónů <i>benA</i> & <i>CaM</i> (HKY+G); 3. pozice kodónů <i>RPB2</i> (K81uf+G); introny <i>benA</i> & <i>CaM</i> (K80+G)
<i>benA</i> + <i>CaM</i> + <i>RPB2</i>	2069	455	353	BI	Pět segmentů: 1. pozice kodónů <i>benA</i> , <i>CaM</i> & <i>RPB2</i> (HKY+I); 2. pozice kodónů <i>benA</i> , <i>CaM</i> & <i>RPB2</i> (F81+I); 3. pozice kodónů <i>benA</i> & <i>CaM</i> (HKY+G); 3. pozice kodónů <i>RPB2</i> (HKY+G); introny <i>benA</i> & <i>CaM</i> (K80+G)
<i>benA</i>	479	133	106	ML	Tři segmenty: 1. a 2. pozice kodónů (JC); 3. pozice kodónů (HKY+G); introny (K80+G)
<i>CaM</i>	576	120	88	ML	Tři segmenty: 1. a 2. pozice kodónů (TrN+I); 3. pozice kodónů (HKY+G); introny (K80+G)
<i>RPB2</i>	1014	202	159	ML	Tři segmenty: 1. pozice kodónů (HKY+I); 2. pozice kodónů (JC); 3. pozice kodónů (K81uf+G)

¹ML = metoda maximální věrohodnosti (maximum likelihood); BI = metoda bayesovské inference (Bayesian inference)

Tabulka P3 . Srovnání mikromorfologických znaků mezi druhy <i>Aspergillus</i> sekce <i>Candidi</i> a statistická významnost									
KONIDIE-DĚLKA	<i>A. candidus</i>	<i>A. dobrogensis</i>	<i>A. campestris</i>	<i>Aspergillus</i> sp. 1	<i>A. subalbidus</i>	<i>A. taichungensis</i>	<i>Aspergillus</i> sp. 2	<i>A. pragensis</i>	<i>A. tritici</i>
<i>A. candidus</i>									
<i>A. dobrogensis</i>	0.893								
<i>A. campestris</i>	0.334	0.9821							
<i>Aspergillus</i> sp. 1	0.0285	0.0029	< 0.001						
<i>A. subalbidus</i>	0.4192	0.0029	< 0.001	0.2242					
<i>A. taichungensis</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.8463	< 0.001				
<i>Aspergillus</i> sp. 2	0.1473	0.7149	0.9914	< 0.001	< 0.001	< 0.001			
<i>A. pragensis</i>	1.000	0.9625	0.5652	0.0411	0.7014	< 0.001	0.2544		
<i>A. tritici</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.9996	< 0.001	0.0109	< 0.001	< 0.001	
KONIDIE-ŠÍŘKA	<i>A. candidus</i>	<i>A. dobrogensis</i>	<i>A. campestris</i>	<i>Aspergillus</i> sp. 1	<i>A. subalbidus</i>	<i>A. taichungensis</i>	<i>Aspergillus</i> sp. 2	<i>A. pragensis</i>	<i>A. tritici</i>
<i>A. candidus</i>									
<i>A. dobrogensis</i>	1.000								
<i>A. campestris</i>	< 0.001	< 0.001							
<i>Aspergillus</i> sp. 1	< 0.001	< 0.001	< 0.001						
<i>A. subalbidus</i>	0.2262	0.2404	0.0989	< 0.001					
<i>A. taichungensis</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.9982	< 0.001				
<i>Aspergillus</i> sp. 2	0.6737	0.6092	< 0.001	< 0.001	0.0105	< 0.001			
<i>A. pragensis</i>	0.9923	0.9954	0.0628	< 0.001	0.9851	< 0.001	0.3111		
<i>A. tritici</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.9699	< 0.001	0.9999	< 0.001	< 0.001	

STOPKA-DĚLKA									
<i>A. candidus</i>	<i>A. candidus</i>		<i>A. dobrogensis</i>	<i>A. campestris</i>	<i>Aspergillus</i> sp. 1	<i>A. subalbidus</i>	<i>A. taichungensis</i>	<i>Aspergillus</i> sp. 2	<i>A. pragensis</i>
<i>A. dobrogensis</i>	< 0.001								
<i>A. campestris</i>	< 0.001	< 0.001							
<i>Aspergillus</i> sp. 1	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001				
<i>A. subalbidus</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.0015			
<i>A. taichungensis</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.9604	0.3967		
<i>Aspergillus</i> sp. 2	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.1902	< 0.001	0.119	
<i>A. pragensis</i>	0.0024	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001
<i>A. tritici</i>	0.3228	< 0.001							
FIALIDY-DĚLKA									
<i>A. candidus</i>	<i>A. candidus</i>		<i>A. dobrogensis</i>	<i>A. campestris</i>	<i>Aspergillus</i> sp. 1	<i>A. subalbidus</i>	<i>A. taichungensis</i>	<i>Aspergillus</i> sp. 2	<i>A. pragensis</i>
<i>A. dobrogensis</i>	< 0.001								
<i>A. campestris</i>	< 0.001	< 0.001							
<i>Aspergillus</i> sp. 1	< 0.001	0.3614	0.3955						
<i>A. subalbidus</i>	0.0174	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001				
<i>A. taichungensis</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001			
<i>Aspergillus</i> sp. 2	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001		
<i>A. pragensis</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.1532	0.032	< 0.001	
<i>A. tritici</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001

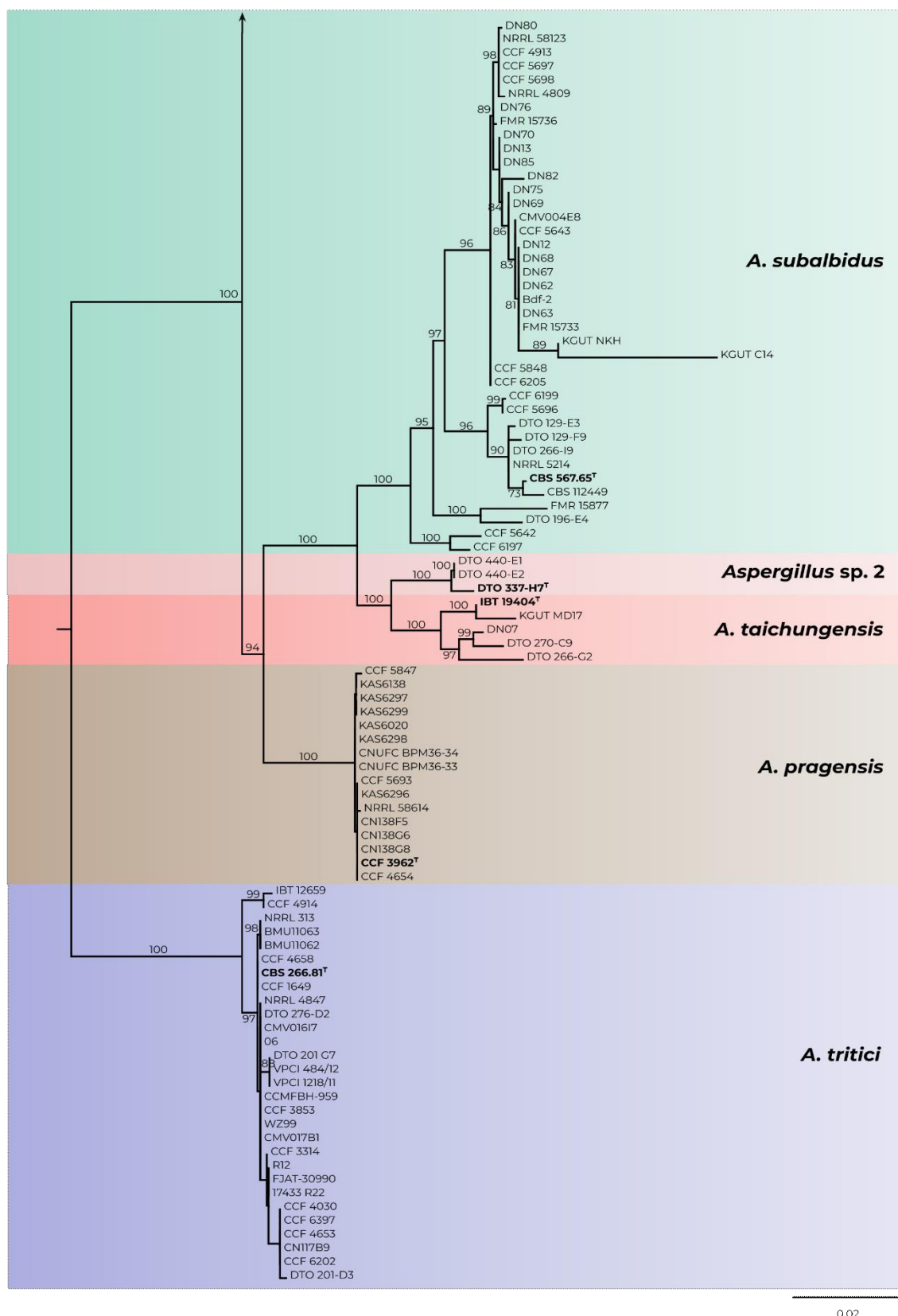
STOPKA-ŠÍŘKA	<i>A. candidus</i>	<i>A. dobrogensis</i>	<i>A. campestris</i>	<i>Aspergillus</i> sp. 1	<i>A. subalbidus</i>	<i>A. taichungensis</i>	<i>Aspergillus</i> sp. 2	<i>A. pragensis</i>	<i>A. tritici</i>
<i>A. candidus</i>									
<i>A. dobrogensis</i>	< 0.001								
<i>A. campestris</i>	< 0.001	0.0192							
<i>Aspergillus</i> sp. 1	< 0.001	< 0.001	< 0.001						
<i>A. subalbidus</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001					
<i>A. taichungensis</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001				
<i>Aspergillus</i> sp. 2	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	1.000	< 0.001			
<i>A. pragensis</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.9911	< 0.001	0.9992		
<i>A. tritici</i>	0.1141	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	
MĚCHÝŘEK-PRŮMĚR	<i>A. candidus</i>	<i>A. dobrogensis</i>	<i>A. campestris</i>	<i>Aspergillus</i> sp. 1	<i>A. subalbidus</i>	<i>A. taichungensis</i>	<i>Aspergillus</i> sp. 2	<i>A. pragensis</i>	<i>A. tritici</i>
<i>A. candidus</i>									
<i>A. dobrogensis</i>	< 0.001								
<i>A. campestris</i>	< 0.001	< 0.001							
<i>Aspergillus</i> sp. 1	< 0.001	< 0.001	< 0.001						
<i>A. subalbidus</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001					
<i>A. taichungensis</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001				
<i>Aspergillus</i> sp. 2	0.9978	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001			
<i>A. pragensis</i>	0.2366	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.0015	< 0.001	0.9554		
<i>A. tritici</i>	0.954	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	1.000	0.871	

METULY-DÉLKA	<i>A. candidus</i>	<i>A. dobrogensis</i>	<i>A. campestris</i>	<i>Aspergillus</i> sp. 1	<i>A. subalbidus</i>	<i>A. taichungensis</i>	<i>Aspergillus</i> sp. 2	<i>A. pragensis</i>	<i>A. tritici</i>
<i>A. candidus</i>									
<i>A. dobrogensis</i>	< 0.001								
<i>A. campestris</i>	< 0.001	< 0.001							
<i>Aspergillus</i> sp. 1	< 0.001	< 0.001	< 0.001						
<i>A. subalbidus</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001					
<i>A. taichungensis</i>	0.9997	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001				
<i>Aspergillus</i> sp. 2	< 0.001	< 0.001	0.9861	< 0.001	< 0.001	< 0.001			
<i>A. pragensis</i>	0.4365	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.4196	< 0.001		
<i>A. tritici</i>	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	< 0.001	0.0111	< 0.001	
p hodnota									
>0.05									
0.01-0.05									
0.001-0.01									
< 0.001									

Tabulka P4. Rozdělení izolátů do populací pomocí programu BPP 4.3 v analýze DELINEATE

Označení populace	Izoláty patřící do populace
<i>A. candidus</i> populace 1	NRRL 4646, CCF 3996, CCF 488, CCF 5172, CCF 5576, CCF 5577, CBS 566.65, CCF 6195, CCF 6198, NRRL 58579, NRRL 58959, DTO 223-E5
<i>A. candidus</i> populace 2	CCF 4659, CN138F7, CN138F8, CN138F9, CN138G1
<i>A. candidus</i> populace 3	CCF 5675, CCF 6200
<i>A. candidus</i> populace 4	CCF 4029
<i>A. dobrogensis</i> populace 1	CCF 4649, CCF 4651, CCF 5569, CCF 5570, CCF 5572, CCF 5574
<i>A. dobrogensis</i> populace 2	CBS 225.80, CCF 4651, CCF 5575, IBT 29476, CCF 5844, FMR 15601, DTO 025-II
<i>A. dobrogensis</i> populace 3	FMR 15444
<i>Aspergillus</i> sp. 3	DTO 244-F1
<i>A. campestris</i> populace 1	CBS 348.81, IBT 17867
<i>A. campestris</i> populace 2	IMI 344489, IBT 23172
<i>A. campestris</i> populace 3	CCF 5641, FMR 15224, FMR 15226
<i>Aspergillus</i> sp. 1	UAMH 1324
<i>A. subalbidus</i> populace 1	DTO 196-E4
<i>A. subalbidus</i> populace 2	FMR 15877
<i>A. subalbidus</i> populace 3	DN12, DN13, DN62, DN67, DN69, DN75, DN80, DN82, DN85, CCF 6205, NRRL 58123, FMR 15733, FMR 15736, CCF 5848, CCF 5698, CCF 5697, CCF 5643, NRRL 4809, CCF 4913
<i>A. subalbidus</i> populace 4	CCF 5696, CCF 6199
<i>A. subalbidus</i> populace 5	CBS 567.65, CBS 112449, NRRL 5214
<i>A. subalbidus</i> populace 6	CCF 5642, CCF 6197
<i>A. taichungensis</i> populace 1	IBT 19404, DN07, DTO 270-C9
<i>A. taichungensis</i> populace 2	DTO 266-G2
<i>Aspergillus</i> sp. 2	DTO 337-H7, DTO 440-E1
<i>A. pragensis</i> populace 1	CCF 3962, NRRL 58614, CCF 5693, CCF 5847, CN138F5, CN138G6, CN138G8
<i>A. tritici</i> populace 1	CCF 4914, IBT 12659
<i>A. tritici</i> populace 2	CCF 3853, CCF 4030, CCF 3314, CCF 6202, CCF 1649, CN117B9, DTO 201-D3, DTO 201-G7, NRRL 4847





Obrázek P1. Mnohogenová fylogeneze zástupců sekce *Candidi* založená na genech *benA*, *CaM* a *RPB2*. V analýze bylo zahrnuto 113 izolátů, které byly doplněny 45 izoláty získanými z GenBanku (Tabulky P1 a P5 v příloze). Na obrázku je znázorněn strom vytvořený metodou maximální věrohodnosti (ML) v programu IQ-TREE 1.4.4, který získal nejvyšší skóre log likelihood. Bootstrapové podpory přesahující 70 % jsou připojeny k jednotlivým uzlům; nižší hodnoty uvedeny nejsou. Ex-typové kmeny jsou označeny tučným písmem a horním indexem “T”. Měřítko odpovídá počtu substitucí na jednu pozici v alignmentu (substitutions per site).

Tabulka P5. Izoláty *Aspergillus* ze sekce *Candidi* použité v analýze ekologie spolu s kmeny uvedenými v Tabulce P1.

Druh	Číslo izolátu	Země	Substrát / Prostředí	Přístupová čísla sekvencí do GenBanku			Citace
				<i>benA</i>	<i>CaM</i>	<i>RPB2</i>	
<i>A. candidus</i>	KAS6136	Kanada	prach v budově		KX894589		Visagie <i>et al.</i> 2017
<i>A. candidus</i>	KAS6134	Kanada	prach v budově		KX894588		Visagie <i>et al.</i> 2017
<i>A. candidus</i>	KAS6022	Kanada	prach v budově		KX894580		Visagie <i>et al.</i> 2017
<i>A. candidus</i>	17436 R44	Itálie	sýr	LS423476			Anelli <i>et al.</i> 2019
<i>A. candidus</i>	R441	Itálie	sýr		LS423534		Anelli <i>et al.</i> 2019
<i>A. candidus</i>	SFC102207	Jižní Korea	rybí potěr, <i>Arctoscopus japonicus</i>		MF185902		Park <i>et al.</i> 2018
<i>A. candidus</i>	JN-YG-3-2	Jižní Korea	<i>Tribolium castaneum</i>	MH444456	MH424009		Yun <i>et al.</i> 2018
<i>A. candidus</i>	FMR 15218	Španělsko	trus	LT798960			Siqueira <i>et al.</i> nepublikováno
<i>A. candidus</i>	FMR 15172	Španělsko	trus	LT798959			Siqueira <i>et al.</i> nepublikováno
<i>A. candidus</i>	CBS 17C2	Nizozemsko	vnitřní prostředí budovy	EU076299			Varga <i>et al.</i> 2007
<i>A. candidus</i>	CBS 120.38	neznámé	neznámé	EU076292			Varga <i>et al.</i> 2007
<i>A. tritici</i>	O6	Brazílie	ovesná mouka	MW079288			Vogel <i>et al.</i> 2021
<i>A. tritici</i>	BMU11062	Čína	klinický materiál	MZ062546			Li <i>et al.</i> nepublikováno
<i>A. tritici</i>	BMU11063	Čína	klinický materiál	MZ062547			Li <i>et al.</i> nepublikováno
<i>A. tritici</i>	FJAT-30990	Čína	podestýlka pro chov prasat	KU737553			Xiao <i>et al.</i> nepublikováno
<i>A. tritici</i>	WZ99	Čína	půda	KX495180	KX495181		Xian & Feng 2018
<i>A. tritici</i>	CCMFBH-959	Kuba	vnitřní prostředí budovy	MT410468			Espinosa <i>et al.</i> 2021
<i>A. tritici</i>	VPCI 1218/11	Indie	klinický materiál	KX455763	KX455805		Masih <i>et al.</i> 2016
<i>A. tritici</i>	VPCI 484/12	Indie	klinický materiál	KX455764	KX455806		Masih <i>et al.</i> 2016
<i>A. tritici</i>	DTO 276-D2	Írán	vnitřní prostory hematologického oddělení		MZ027899		Najafzadeh <i>et al.</i> 2021
<i>A. tritici</i>	17433 R22	Itálie	sýr	LS423474			Anelli <i>et al.</i> 2019
<i>A. tritici</i>	R12	Itálie	sýr	LS423533			Anelli <i>et al.</i> 2019
<i>A. tritici</i>	CMV016I7	Jihoafrická republika	čirokový slad		MK951916		Visagie <i>et al.</i> 2020
<i>A. tritici</i>	CMV017B1	Jihoafrická republika	kukuřice		MK951927		Visagie <i>et al.</i> 2020

<i>A. tritici</i>	NRRL 313	neznámé	neznámé	EU014093	EF669552	EF669636	Peterson 2008
<i>A. pragensis</i>	KAS6138	Kanada	prach v budově		KX894590		Visagie <i>et al.</i> 2017
<i>A. pragensis</i>	KAS6297	Kanada	prach v budově		KX894604		Visagie <i>et al.</i> 2017
<i>A. pragensis</i>	KAS6299	Kanada	prach v budově		KX894606		Visagie <i>et al.</i> 2017
<i>A. pragensis</i>	KAS6296	Kanada	prach v budově		KX894603		Visagie <i>et al.</i> 2017
<i>A. pragensis</i>	KAS6298	Kanada	prach v budově		KX894605		Visagie <i>et al.</i> 2017
<i>A. pragensis</i>	KAS6020	Kanada	prach v budově		KX894579		Visagie <i>et al.</i> 2017
<i>A. pragensis</i>	CNUFC BPM36-34	Jižní Korea	rýžové otruby		MN337611		Nguyen <i>et al.</i> 2020
<i>A. pragensis</i>	CNUFC BPM36-33	Jižní Korea	rýžové otruby	MN337604	MN337610		Nguyen <i>et al.</i> 2020
<i>A. subalbidus</i>	DN76	Botswana	jeskynní prostředí		MW480778		Visagie <i>et al.</i> 2021
<i>A. subalbidus</i>	DN70	Botswana	jeskynní prostředí		MW480772		Visagie <i>et al.</i> 2021
<i>A. subalbidus</i>	DN63	Botswana	jeskynní prostředí		MW480765		Visagie <i>et al.</i> 2021
<i>A. subalbidus</i>	Bdf-2	Čína	<i>Blaptica dubia</i>	MN533958		MN533959	Shan <i>et al.</i> 2020
<i>A. subalbidus</i>	DTO 266-19	Mikronésie	prach v budově	KJ775081	KJ775251		Visagie <i>et al.</i> 2014
<i>A. subalbidus</i>	KGUT NKH	Írán	zemědělské produkty		MN986428		Habibi & Afzali 2021
<i>A. subalbidus</i>	KGUT C14	Írán	zemědělské produkty		MN986426		Habibi & Afzali 2021
<i>A. subalbidus</i>	CMV004E8	Jihoafrická republika	trus	MK451000	MK451330		Visagie <i>et al.</i> 2020
<i>A. subalbidus</i>	DTO 129-E3	Thajsko	prach v budově	KJ775068	KJ775249		Visagie <i>et al.</i> 2014
<i>A. subalbidus</i>	DTO 129-F9	Thajsko	prach v budově	KJ775069	KJ775250		Visagie <i>et al.</i> 2014
<i>A. taichungensis</i>	KGUT MD17	Írán	zemědělské produkty	MN986427			Habibi & Afzali 2021

Seznam literatury použité v Tabulce P5

- Ahmadi B, Hashemi SJ, Zaini F, *et al.* (2012). A case of onychomycosis caused by *Aspergillus candidus*. *Medical Mycology Case Reports* **1**:45-48.
- Anelli P, Haidukowski M, Epifani F, *et al.* (2019). Fungal mycobiota and mycotoxin risk for traditional artisan Italian cave cheese. *Food Microbiology* **78**:62-72.
- Espinosa KCS, Chávez MA, Duarte-Escalante E, *et al.* (2021). Phylogenetic Identification, Diversity, and Richness of *Aspergillus* from Homes in Havana, Cuba. *Microorganisms* **9**:
- Habibi A, Afzali D (2021). *Aspergillus* Section *Flavi* from four agricultural products and association of mycotoxin and sclerotia production with isolation source. *Current Microbiology* **78**:3674-3685.
- Masih A, Singh PK, Kathuria S, *et al.* (2016). Clinically significant rare *Aspergillus* species in a referral chest hospital, Delhi, India: molecular and MALDI TOF identification and their antifungal susceptibility profiles. *Journal of Clinical Microbiology*
- Najafzadeh MJ, Dolatabadi S, Zarrinfar H, *et al.* (2021). Molecular Diversity of Aspergilli in Two Iranian Hospitals. *Mycopathologia* **186**:519-533.
- Nguyen TT, Pangging M, Bangash NK, *et al.* (2020). Five New Records of the Family *Aspergillaceae* in Korea, *Aspergillus europaeus*, *A. pragensis*, *A. tennesseensis*, *Penicillium fluviserpens*, and *P. scabrosum*. *Mycobiology* **48**:81-94.
- Park MS, Oh S-Y, Lee S, *et al.* (2018). Fungal diversity and enzyme activity associated with sailfin sandfish egg masses in Korea. *Fungal Ecology* **34**:1-9.
- Peterson SW (2008). Phylogenetic analysis of *Aspergillus* species using DNA sequences from four loci. *Mycologia* **100**:205-226.
- Shan T, Wang Y, Wang S, *et al.* (2020). A new p-terphenyl derivative from the insect-derived fungus *Aspergillus candidus* Bdf-2 and the synergistic effects of terphenyllin. *PeerJ* **8**:e8221.
- Varga J, Frisvad JC, Samson RA (2007). Polyphasic taxonomy of *Aspergillus* section *Candidi* based on molecular, morphological and physiological data. *Studies in Mycology* **59**:75-88.
- Visagie CM, Hirooka Y, Tanney JB, *et al.* (2014). *Aspergillus*, *Penicillium* and *Talaromyces* isolated from house dust samples collected around the world. *Studies in Mycology* **78**:63-139.
- Visagie CM, Yilmaz N, Renaud JB, *et al.* (2017). A survey of xerophilic *Aspergillus* from indoor environment, including descriptions of two new section *Aspergillus* species producing eurotium-like sexual states. *MycoKeys* **19**:1.
- Visagie CM, Houbraken J (2020). Updating the taxonomy of *Aspergillus* in South Africa. *Studies in Mycology* **95**:293-380.
- Vogel P, Da Silva GL, Esswein IZ, *et al.* (2021). Effects of infestations of the storage mite *Tyrophagus putrescentiae* (Acaridae) on the presence of fungal species and mycotoxin production in stored products. *Journal of Stored Products Research* **94**:101883.
- Xian L, Feng J-X (2018). Purification and biochemical characterization of a novel mesophilic glucoamylase from *Aspergillus tritici* WZ99. *International Journal of Biological Macromolecules* **107**:1122-1130.
- Yun T-S, Park S-Y, Yu J, *et al.* (2018). Isolation and identification of fungal species from the insect pest *Tribolium castaneum* in rice processing complexes in Korea. *The Plant Pathology Journal* **34**:356.