

Jihočeská univerzita v Českých Budějovicích

Přírodovědecká fakulta

**Kokcidie rodu *Eimeria* parazitující u myšic
a hrabošovitých hlodavců v oblasti
„kontaktní zóny“**

Diplomová práce

Bc. Klára Charvátová

Školitel: MVDr. Jana Kvičarová, Ph.D.

Školitel specialista: Mgr. Anna Mácová

České Budějovice 2020

Charvátová K., 2020: Kokcidie rodu *Eimeria* parazitující u myšic a hrabošovitéch hlodavců v oblasti „kontaktní zóny“. [Coccidia of the genus *Eimeria* parasitizing *Apodemus* spp. and arvicoline rodents in the area of "contact zone". Mgr. Thesis, in Czech.] - 55 p., Faculty of Science. University of South Bohemia, České Budějovice, Czech Republic.

Annotation:

This thesis examines the spectrum and host specificity of eimerian coccidia parasitizing *Apodemus* and arvicoline rodents sampled in the "contact zone", and investigates their phylogenetic relationships. Sequences were obtained for three different genes (18S rRNA, COI, ORF470). Phylogenetic analyses were based on two approaches (ML, BI). Haplotype networks were also constructed and discussed.

Prohlašuji, že svoji diplomovou práci jsem vypracoval/a samostatně pouze s použitím pramenů literatury uvedených v seznamu citované literatury.

Prohlašuji, že v souladu s §47b zákona č. 111/1998 Sb. v platném znění souhlasím se zveřejněním své diplomové práce, a to v nezkrácené podobě elektronickou cestou ve veřejně přístupné části databáze STAG provozované Jihočeskou univerzitou v Českých Budějovicích na jejích internetových stránkách, a to se zachováním mého autorského práva k odevzdání textu této kvalifikační práce. Souhlasím dále s tím, aby toutéž elektronickou cestou byly v souladu s uvedeným ustanovením zákona č. 111/1998 Sb. zveřejněny posudky školitele a oponentů práce i záznam o průběhu a výsledku obhajoby kvalifikační práce. Rovněž souhlasím s porovnáním textu mé kvalifikační práce s databází kvalifikačních prací Theses.cz provozovanou Národním registrem vysokoškolských kvalifikačních prací a systémem odhalování plagiátů.

V Českých Budějovicích dne 9. 12. 2020

.....

Klára Charvátová

Poděkování

Ráda bych poděkovala své školitelce Janě Kvičarové, která mi byla velkou oporou, jak při práci v laboratoři, tak i při psaní této práce. Děkuji moc za její rady, skvělé vedení práce, a hlavně za její neutuchající ochotu mi vždy pomoci či poradit. Dále bych ráda poděkovala všem mým kolegům, kteří se podíleli na odchycích hlodavců, anebo do vzniku této práce přispěli jiným způsobem. A v neposlední řadě děkuji své rodině a přátelům za jejich podporu a velkou trpělivost.

Obsah

1	ÚVOD.....	6
1.1	Hostitelská specificita parazitů.....	6
1.2	Vztahy mezi hostiteli a parazity, genetická separace morfologicky podobných linií	7
1.3	Systém parazit-hostitel-lokalita v diplomové práci	8
1.3.1	Taxonomie kokcií.....	9
1.3.2	Životní cyklus rodu <i>Eimeria</i>	9
1.3.4	Fylogenetické vztahy a populačně-genetická struktura kokcií čeledi Eimeriidae.....	12
1.3.5	Studování hostitelé.....	14
1.3.6	Kokcidie rodu <i>Eimeria</i> u studovaných hostitelů	15
1.3.7	Ekologické pozadí	16
1.3.8	Historie dvou druhů rodu <i>Apodemus</i>	17
1.3.9	„Kontaktní zóna“ procházející západem Čech.....	18
2	CÍLE PRÁCE.....	20
3	METODIKA	21
3.1	Odchyty hlodavců, odběr vzorků.....	21
3.1.1	Materiál	23
3.1.2	Postup práce	23
3.2	Koprologické vyšetření (flotace).....	23
3.2.1	Materiál	23
3.2.2	Postup práce	24
3.3	Izolace DNA.....	24
3.3.1	Postup práce	24

3.4	PCR.....	25
3.4.1	Chemikálie pro PCR.....	26
3.4.2	Postup práce.....	26
3.5	Elektroforéza.....	27
3.5.1	Materiál.....	27
3.5.2	Postup práce.....	28
3.6	Enzymatické čištění PCR produktů, sekvenování.....	28
3.6.1	Chemikálie.....	28
3.6.2	Postup práce.....	28
3.7	Zpracování získaných sekvencí.....	29
3.8	Fylogenetické analýzy a haplotypové sítě.....	29
4	VÝSLEDKY.....	30
5	DISKUZE.....	41
6	ZÁVĚR.....	47
7	Seznam použitých informačních zdrojů.....	48
	PŘÍLOHY.....	56

1 ÚVOD

Studium vztahů mezi parazitem a hostitelem z hlediska evoluce patří mezi jedny z nejzajímavějších a zároveň složitých témat, protože v tomto vztahu dochází k asociaci jedinečných druhových vlastností dvou či více organismů, a tyto druhové vlastnosti ovlivňují ekologickou a evoluční dynamiku interagujících organismů, a také dynamiku šíření infekce (Mazé-Guilmo *et al.* 2016). Dříve se předpokládalo, že parazit a jeho populační struktura jsou ovlivňovány hostitelem/hostiteli a prostředím, ve kterém se nachází; dnes víme, že jsou to jen dva z mnoha faktorů (Mouliou *et al.* 1991, Mazé-Guilmo *et al.* 2016).

1.1 Hostitelská specificita parazitů

Termín hostitelská specificita lze definovat jako počet a rozmanitost hostitelských druhů, které je parazit schopen infikovat. Jedná se pravděpodobně o jednu z nejdůležitých vlastností parazita, jelikož na ní může záviset schopnost parazita přežít vyhynutí hostitelského druhu, nebo může mít vliv na potenciál osídlit nová stanoviště, což má zásadní význam například v epidemiologii. Parazitologické studie na volně žijících živočiších odhalily široké spektrum strategií v rámci hostitelské specifity od haemosporidií a všenek, kteří jsou spojeni s parazitací nižšího počtu hostitelských druhů, se kterými jsou úzce spjati, až po kryptosporidie, které jsou schopny infikovat široké spektrum hostitelů (Poulin *et al.* 2006, Wells a Clark 2019).

Ve vztahu hostitel-parazit je důležitý mechanismus přenosu parazita a obecně jeho adaptace k přežití a pomnožení v hostitelském prostředí. Při studiu vzájemných interakcí mezi parazitem a hostitelem je tak často předmětem zájmu jejich koevoluce. Obecně se má za to, že evoluční historie parazita dává základ hostitelské specifitě zaváděním fylogenetických a ekologických bariér pro přeskoky na jiné druhy hostitelů. Tyto hostitelské přeskoky (host switches) totiž vyžadují, aby paraziti přišli do kontaktu s novým hostitelem, který se v určité míře potkává s původním hostitelem (ecological fitting). Jinými slovy pojem ecological fitting („přizpůsobení ekologickým podmínkám“) je proces, kdy organismy kolonizují nová prostředí a přetrvávají v nich, využívají nové zdroje, nebo asociují s jinými druhy organismů (Agosta a Klemens 2008). V novém hostitelském prostředí však nemusí být podmínky pro přežití vždy zcela optimální, a tak jsou hostitelské

přeskoky možné v případě, dojde-li k vytvoření nové genetické informace umožňující přežití v novém habitatu (Araujo *et al.* 2015). Nejen hostitelské přeskoky, ale i ekologické faktory jako jsou například struktura hostitelské populace, změny klimatických podmínek, potravní spektrum hostitele, nebo kompetice s jinými parazitickými jedinci, hrají důležitou roli v ovlivňování hostitelské specifity (Wells a Clark 2019).

1.2 Vztahy mezi hostiteli a parazity, genetická separace morfologicky podobných linií

Vztahy mezi hostiteli a jejich parazity představují zajímavé téma vyvolávající řadu otázek. Rozklíčovat tyto interakce, ať už z ekologického či evolučního hlediska, nebývá vždy snadné. Příkladem je známý lidský parazit *Pediculus humanus* (Phthiraptera: Anoplura: Pediculidae) vyskytující se ve dvou formách (veš dětská, veš šatní), které si jsou sice vzájemně morfologicky podobné, ale mají odlišnou ekologii. Přesto se tento druh vši geneticky nerozděluje podle těchto dvou forem, nýbrž do dvou linií, kdy první linie WW (Worldwide) je rozšířena celosvětově a patří do ní jak veš dětská, tak veš šatní, zatímco druhá linie NW (New World), která se oddělila před 1,18 milionem let, se vyskytuje v zemích Nového světa a zahrnuje pouze veš dětskou (Reed *et al.* 2004).

Nadler *et al.* (1990) publikovali zajímavou studii, která se zabývala přibližně 200 km dlouhou „kontaktní zónou“ hlodavce *Thomomys bottae* (pytlonoš horský), vedoucí podél pohoří Sangre de Cristo (USA). V této zóně se nacházejí čtyři poddruhy daného hostitele, u kterých parazitují všenky – konkrétně *Geomydoecus actuosi* (Phthiraptera: Mallophaga: Trichodectidae). Ukázalo se, že ač se jedná o jeden druh všenky, její populace na jednotlivých poddruzích hostitele vykazují tzv. island-like strukturu (tj. izolovaný vývoj), což znamená, že je ovlivnil bottleneck (efekt hrdla láhve), a tím pádem došlo k poklesu jejich genetické diverzity.

Rod *Apodemus*, použitý v této práci jako modelový hostitel, má pochopitelně také své parazity, a v podobné „kontaktní zóně“ můžeme nalézt zajímavé fenomény: například, že i ve velmi vzájemně si geneticky blízkých liniích parazita může dojít k velkým odlišnostem mezi jejich bionomií a populační strukturou. Štefka a Hypša (2008) sekvenovali populace vši *Polyplax serrata* (Phthiraptera: Anoplura: Polyplacidae) napříč čtyřmi druhy rodu *Apodemus*, a zjistili, že zatímco jedna linie vši (A) parazituje

u *A. flavicollis* i u *A. sylvaticus*, druhá linie (B) se vyskytuje výhradně jen u *A. flavicollis*, a třetí linie (C) se vyskytuje u *A. agrarius* a *A. uralensis* (Štefka a Hypša 2008). Navazující studie odhalily, že členění linií tohoto parazita je ještě komplexnější, než by se na první pohled mohlo zdát. Linie parazitující pouze u *A. flavicollis* se dále rozděluje na dvě podlinie s odlišnou geografickou distribucí. Jinak řečeno, dokonce i mezi velmi blízkými sesterskými liniemi může být odlišná struktura a genetická diverzita populace. Jedním z možných vysvětlení tohoto dělení na dvě odlišné podlinie v rámci linie B specifické pro druh *A. flavicollis* je, že u méně specifické linie A (nacházející se u *A. flavicollis* i *A. sylvaticus*) se nabízí více příležitostí najít vhodného hostitele, tím pádem má i větší tok genů, který může vést ke kombinaci genofondů a snížit tak rozdíl mezi podliniemi, což je viditelné na fylogenetických stromech. Dalším vysvětlením by mohl být průběh speciace vší (vlivem krátké generační doby) během separace v odlišných refugiích před navázáním druhotného kontaktu jejich hostitelů (Martinů *et al.* 2018, Martinů *et al.* 2020). Jiným příkladem je hlístice *Heligmosomoides polygyrus* (Nematoda: Secernentea: Strongylida), která často infikuje *A. sylvaticus*. Hostitel i parazit se zde dělí do tří genetických linií: západoevropská, italská, a sicilská; bylo však prokázáno, že parazit má mnohem komplexnější genetickou strukturu, kdy se tyto tři hlavní linie ještě dále dělí do jakýchsi podlinií (Nieberding *et al.* 2004).

Dalším zajímavým fenoménem je výskyt kryptických druhů (tj. druhy, které není možné morfologicky odlišit od druhů již známých, lze je odlišit jen s pomocí molekulárních metod; Bickford *et al.* 2006). Například u eimerií infikujících hospodářsky chovanou drůbež (7 popsaných druhů – *E. acervulina*, *E. brunetti*, *E. maxima*, *E. mitis*, *E. necatrix*, *E. praecox*, *E. tenella*) byly pomocí analýzy ITS2 (internal transcribed spacer) zjištěny tři kryptické druhy eimerií, které jsou blízce příbuzné (avšak přesto odlišné) druhům *E. brunetti*, *E. maxima* a *E. mitis* (Blake *et al.* 2020).

1.3 Systém parazit-hostitel-lokalita v diplomové práci

Pro účely své diplomové práce jsem jako modelový organismus použila kokcidie rodu *Eimeria*, který je jedním z nejčtenějších a druhově nejbohatších rodů v rámci kmene Apicomplexa (více než 1700 popsaných druhů, z toho zhruba 500 u hlodavců; Zhao a Duszynski 2001a). Je to endoparazit gastrointestinálního traktu; některé druhy mají

i odlišná místa infekce ve stejném orgánu (Hammond a Long 1973, Blake *et al.* 2020). Ve své práci se zaměřuji na zástupce kokcií infikující hlodavce, a to zejména druhy *A. flavicollis*, *A. sylvaticus*, *Clethrionomys glareolus* a *Microtus arvalis*. Tito hlodavci jsou běžně a hojně rozšířeni v celé České republice (Anděra a Horáček 2005), a obvykle mívají poměrně vysokou prevalenci (20-30 %) infekce kokciemi (Pellérdy 1974, Mácová *et al.* 2018).

1.3.1 Taxonomie kokcií

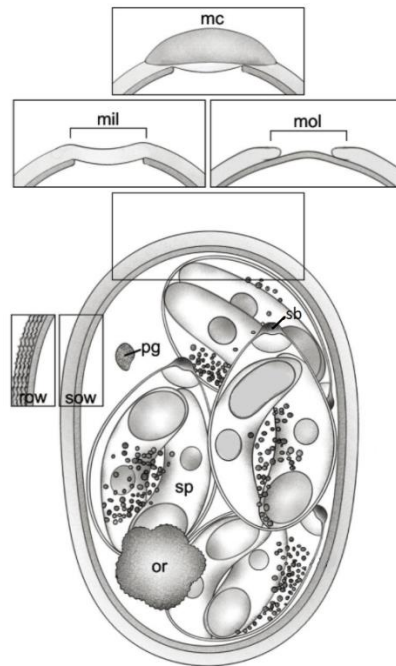
Kokcidie patří do kmene Apicomplexa a spolu s gregarinami tvoří třídu Conoidasida s kompletním apikálním komplexem (včetně konoidu) přítomným minimálně ve všech nepohlavních, pohyblivých stádiích, tzv. zoitech. Kokcidie se dále člení na Adeleorina a Eimeriorina. Adeleorina zahrnuje primitivní kokcidie, jejichž gamonti se spojují a kolem nich se utvoří cysta, ve které rostou (tj. syzygie). Mezi nejznámější rody této skupiny patří *Adelea*, *Adelina*, *Hemolivia*, *Hepatozoon* nebo *Klossia*. Eimeriorina zahrnuje tzv. vyšší kokcidie, u nichž se gamonti vyvíjejí samostatně. Do této skupiny patří například rody *Cyclospora*, *Eimeria*, *Isospora*, *Sarcocystis* nebo *Toxoplasma* (Berto *et al.* 2014, Adl *et al.* 2019).

1.3.2 Životní cyklus rodu *Eimeria*

Eimerie jsou paraziti s monoxenním životním cyklem. Po pozření vysporulované oocysty vhodným hostitelem dochází k excystaci sporozoitů (invazivních stádií), kteří invadují nejčastěji epiteliální buňky střeva, kde dochází k nepohlavnímu (merogonie) a pohlavnímu (gametogonie) rozmnožování. Výsledným produktem gametogonie je nevysporulovaná (tj. neinfekční) oocysta, která je vyloučena výkaly do vnějšího prostředí, kde za vhodných podmínek dochází ke sporulaci (Hammond a Long 1973, Long 1982, Zajac a Conboy 2006). Tento proces začíná jaderným dělením a oddělením polárního granula, poté se cytoplasma zformuje do čtyř sporoblastů, které se zakulatí, protáhnou a vytvoří si povrchovou membránu s jedním koncem ztlustěným, kde později vznikne Stiedovo tělísko. Nakonec uvnitř sporocysty vznikají dva sporozoiti a reziduum. Po dokončení celého tohoto procesu je kokcidie schopna infikovat hostitele alimentární cestou (Hammond a Long 1973).

1.3.3 Morfologie oocyst rodu *Eimeria*

Pro oocystu rodu *Eimeria* je charakteristická přítomnost čtyř sporocyst se dvěma sporozoity uvnitř každé z nich. V pořadí prvním rozlišovacím znakem patří velikost (délka a šířka) a tvar samotné oocysty, dále pak počet vrstev stěny oocysty, která může mít buď hladký, nebo drsný povrch, a může mít i různou tloušťku. Na jednom z pólů oocysty se může (ale nemusí) nacházet mikropyle, místo ve kterém se jedna z vrstev stěny nespojuje a díky tomu je tak excystace snazší. U některých druhů bývá mikropyle chráněno pólovou čepičkou. Mezi další struktury, které jsou důležité pro determinaci druhu eimerie, patří reziduum oocysty a polární granulum. U rezidua je důležitá jeho přítomnost či absence, u obou struktur si pak všímáme velikosti a tvaru. Pro všechny zástupce čeledi Eimeriidae je typická přítomnost Stiedova tělíska na jednom z pólů sporocysty, které slouží k rozevření sporocysty a vypuštění invazivních stádií (sporozoitů). Velikost a tvar Stiedova tělíska jsou klíčovými znaky pro determinaci druhů eimerií (Berto *et al.* 2014; Obr. 1).



Obr. 1: Morfologie vysporulované oocysty rodu *Eimeria*: (mc) micropyle cap-pólová čepička, (mil/mol) mikropyle, (row) rough-drsná/ (sow) smooth-hladká outer wall-vnější stěna oocysty, (pg) polární granulum, (sb) Stieda body-Stiedovo tělísko, (sp) sporozoit, (or) oocyst residuum-reziduum oocysty (převzato z Berto *et al.* 2014).

1.3.4 Fylogenetické vztahy a populačně-genetická struktura kokcií čeledi Eimeriidae

Zatímco kmen Apicomplexa i čeleď Eimeriidae jsou monofyletické, rod *Eimeria* už monofyletický není; klastruje uvnitř něj rod *Cyclospora*, a někteří zástupci rodu *Isospora* (Morrison *et al.* 2004, Ogedengbe *et al.* 2015).

Polyfylie není jen záležitostí rodu *Eimeria*, neboť rod *Isospora* je na tom obdobně (Franzen *et al.* 2000, Kvičerová a Hypša 2013, Blake *et al.* 2020). Původní rod *Isospora* byl rozdělen na dva samostatné rody – rod *Isospora* se Stiedovými tělisky, patřící do čeledi Eimeriidae a napadající ptačí hostitele, a rod *Cystoisospora* bez Stiedových tělísek, patřící mezi Sarcocystidae a napadající savčí hostitele (Box *et al.* 1980, Franzen *et al.* 2000, Ogedengbe *et al.* 2011, Trefancová *et al.* 2019).

Několik studií odhalilo fylogenetickou příbuznost rodů *Eimeria* a *Cyclospora*. Druh *Cyclospora cayetanensis* totiž klastruje mezi druhy eimerií infikující drůbež (Relman *et al.* 1996, Tang *et al.* 2015). Vysporulované oocysty rodu *Eimeria* a rodu *Cyclospora* se však od sebe morfologicky liší. Oocysta eimerií má čtyři sporocysty a uvnitř každé z nich se nacházejí dva sporozoiti. Oocysta cyclospor obsahuje dvě sporocysty se dvěma sporozoity uvnitř každé z nich (Hammond a Long 1973, Pellérdy 1974, Blake *et al.* 2020). Byly však popsány linie *E. maxima*, které vlivem přípravku Lerbek (kokcidiostatikum) tvořily abnormální bisporocystické formy, které pak byly na tento lék rezistentní (Norton a Joyner 1978). Srovnávací analýza genomů těchto dvou rodů naznačuje, že sdílejí podobné metabolické vlastnosti a invazivní mechanismy, nicméně však mají odlišné povrchové antigeny. Funkční podobnosti genomů by mohly znamenat potenciální využití eimerií jako modelových organismů pro studium lidských patogenů, jako je například právě *Cyclospora cayetanensis*, kterou doposud nebylo možné kultivovat *in vitro* nebo *ex vivo* (Blake *et al.* 2020).

Fylogenetické vztahy kokcií rodu *Eimeria* jsou ovlivněny hostitelskou specifikou jednotlivých druhů. Fylogenetické analýzy prokázaly tendenci eimerií klastrovat podle hostitelů, tj. například na kokcidie parazitující u drůbeže, kokcidie parazitující u skotu, kokcidie parazitující u králíků, kokcidie parazitující u hlodavců apod. (Morrison *et al.* 2004, Matsubayashi *et al.* 2005, Kvičerová a Hypša 2013).

Jedním ze zajímavých faktorů ovlivňujících fylogenetické vztahy některých skupin eimerií (např. králíčích nebo hlodavčích) je reziduum oocysty (Zhao a Duszynski 2001a, Kvičerová *et al.* 2008, Kvičerová a Hypša 2013). Pokud se zaměříme na druhy eimerií infikujících hlodavce, zjistíme, že mají tendenci dělit se do dvou linií v závislosti na přítomnosti (OR+) či absenci (OR-) rezidua oocysty (Kvičerová *et al.* 2011, Kvičerová a Hypša 2013, Mácová *et al.* 2018). Výjimku tvoří druh *E. myoxi* (OR-), který se neřadí ani do jedné z uvedených skupin (Kvičerová *et al.* 2011, Kvičerová a Hypša 2013). Jako příklady OR+ lze uvést *E. callospermophili*, *E. onychomysis*, nebo *E. peromysci*, jako OR- například druhy *E. falciformis*, *E. nieschulzi* a *E. papillata* (Kvičerová a Hypša 2013). Dosud není jasné, z jakého důvodu k tomuto klastrování dochází. Funkce rezidua oocysty také dosud nebyla spolehlivě objasněna, předpokládá se, že obsahuje zásobní látky (Pellérdy 1974).

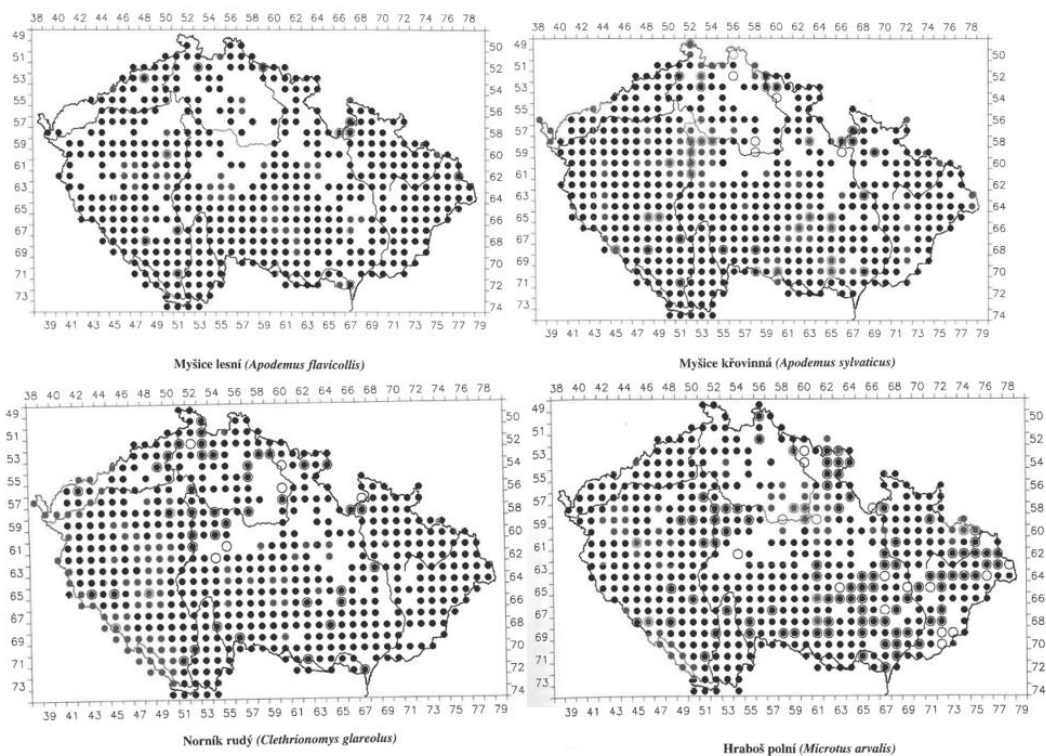
Populačně-genetická struktura kokcidií nebyla zatím dostatečně prostudována. Jedním z důvodů je omezená možnost získání dostatečného množství vzorků/konkrétního druhu eimerie z jednoho konkrétního druhu či několika blízce si příbuzných druhů hostitele a z velkého množství lokalit. Dalším důvodem je omezené množství dostupných genů vhodných pro analýzy vnitrodruhové variability. Pilotní studií zabývajících se populačně-genetickou strukturou eimerií hlodavců rodu *Apodemus* je publikace Mácová *et al.* (2018), která poukázala na fakt, že mezi jednotlivými hostitelskými druhy dochází k častým hostitelským přeskokům. Jarquín-Díaz *et al.* (2020) studovali, zda lze druhy kokcidií odlišit pomocí aktuálně používaných molekulárních markerů, a to na příkladu druhů eimerií parazitujících u myši domácí a příbuzných hlodavců. Zjistili, že běžně používané fylogenetické markery (malá ribozomální podjednotka 18S rRNA a mitochondriální COI) nejsou dostatečně variabilní pro rozlišení sekvencí parazitů, které by ve fylogenetických analýzách měly klastrovat jako samostatné druhy s ohledem na jejich odlišnou hostitelskou specifitu.

1.3.5 Studování hostitelé

Hlodavci jsou nejpočetnějším řádem (více než 2000 popsanych druhů) v rámci savců s výskytem na všech kontinentech kromě Antarktidy, a obývají mnoho různých biotopů od tundry po aridní oblasti (Wolff a Sherman 2007).

Rod *Apodemus* (Rodentia: Murinae) zahrnuje 21 druhů, z nichž 7 se vyskytuje v Evropě, kde se jejich areály rozšíření někdy více a někdy méně překrývají (Sozio *et al.* 2018). Mnoho druhů je předmětem ekologických i epidemiologických studií, při kterých vyvstává nesnadný úkol v podobě druhové determinace. Například rozlišení *A. flavicollis* a *A. sylvaticus*, které mají podobné morfologické znaky (velikost těla, barva kožichu, délka ocasu), geografické rozšíření (viz Obr. 3), a často i habitaty (krajina s lesním porostem, remízky, břehy vodních toků), představuje mnohdy výzvu. Mláďata a juvenilní jedince obou těchto druhů není možné rozlišit vůbec. V takových případech je nutná jejich druhová determinace pomocí metod molekulární biologie (diagnostická PCR se specifickými primery) (Sozio *et al.* 2018).

Microtus arvalis a *Clethrionomys glareolus* (Rodentia: Arvicolinae) patří také mezi hojně se vyskytující hlodavce v Evropě a areály jejich výskytu v rámci České republiky se z velké části překrývají s areály výskytu myšic (rod *Apodemus*; Obr. 2). Na rozdíl od hostitelů rodu *Apodemus* není tak obtížné od sebe tyto dva druhy odlišit, například podle rozdílné barvy srsti nebo preference různých habitatů – *M. arvalis* obývá spíše kulturní stepi, případně řídké lesy, a *C. glareolus* se vyskytuje spíše v lesích (Dungel 1993, Jacob *et al.* 2014).



Obr. 2: Areály rozšíření studovaných hostitelů v rámci České republiky; černé body-výskyt potvrzený po roce 1950, bílé body-nálezy do roku 1950 (převzato z Anděra a Beneš 2001, 2002).

1.3.6 Kocidie rodu *Eimeria* u studovaných hostitelů

U rodu *Apodemus* bylo dosud popsáno až 21 druhů eimerií (Lewis a Ball 1983, Higgs a Nowell 1991, Hůrková *et al.* 2005), u rodu *Microtus* až 37, a u rodu *Clethrionomys* 9 druhů (Levine a Ivens 1990). U některých druhů jsou bohužel morfologické popisy velmi jednoduché a neúplné, někdy chybí i fotodokumentace nebo perokresba, a proto je platnost těchto druhů přinejmenším diskutabilní (Pellérdy 1974); z tohoto důvodu uvádím počet druhů příslovcí „až“.

Hůrková *et al.* (2005) zrevidovali všechny druhy eimerií popsané u myšic, a uvádějí detailní výčet validních druhů včetně jejich morfologických charakteristik. Publikace Mácová *et al.* (2018) se zabývala eimeriemi u myšic a hrabošovitých hlodavců napříč Evropou. Nejčastěji se vyskytujícími druhy byly u těchto hlodavců *E. alorani*, *E. apionodes*, *E. jerfinica*, *E. kaunensis* a *E. uptoni*. Jejich oocysty se vzájemně liší velikostí, tvarem (hruškovitý, oválný, vejčitý, kulatý) a povrchem stěny (drsň

u *E. jerfinica* a hladký u ostatních) (Hůrková *et al.* 2005). S výjimkou druhu *E. kaunensis* neobsahují reziduum oocysty.

Mezi výše uvedenými druhy existují rozdíly i v rámci hostitelské specifity. *E. alorani* byla v Evropě zjištěna pouze u druhu *A. agrarius*, v Asii navíc ještě u *A. mystacinus*; *E. apionodes* infikuje druhy *A. agrarius*, *A. flavicollis*, *A. sylvaticus* a čeleď Arvicolinae; *E. jerfinica* nalezneme u druhů *A. agrarius*, *A. flavicollis*, *A. sylvaticus*; *E. kaunensis* infikuje druhy *A. flavicollis*, *A. sylvaticus* a čeleď Arvicolinae; *E. uptoni* se vyskytuje u druhů *A. agrarius*, *A. flavicollis* a *A. sylvaticus* (Pellérdy 1974, Levine a Ivens 1990, Hůrková *et al.* 2005, Mácová *et al.* 2018).

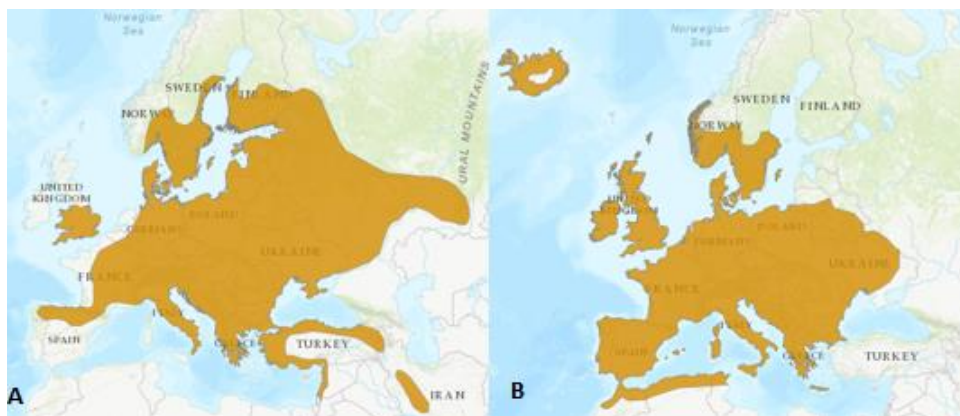
1.3.7 Ekologické pozadí

Jak jsem již uvedla výše, eimerie jsou častými parazity hlodavců. K tomu, aby mohla infekce proběhnout efektivně, je však zapotřebí optimálních podmínek pro sporulaci oocyst. Sporulace může trvat dny až týdny (Hammond a Long 1973, Venkateswara *et al.* 2015), a nejdůležitějšími faktory ovlivňujícími její rychlost jsou teplota, vlhkost, a přítomnost vzdušného kyslíku (Venkateswara *et al.* 2015, Blake *et al.* 2020). Doba sporulace se samozřejmě liší v závislosti na druhu eimerie. Některé druhy mají silnější stěnu oocysty (například *E. confusa*, *E. cynomysis*, *E. larimerensis*; Pellérdy 1974), a tudíž potřebují více času na dokončení celého procesu (viz kapitola 1.3.2). Obecně se má za to, že oocysty potřebují optimálně suché počasí a vlhkou půdu/stelivo. Naopak vlhké podnebí dobu sporulace prodlužuje (Venkateswara *et al.* 2015). Tyto faktory by měly být brány v potaz i v laboratorních podmínkách; podle Duszynski a Wilber (1997) by vzorky měly být sporulovány při pokojové teplotě (20-23 °C) a ve zkumavkách, které nejsou naplněny až po okraj (z důvodu přístupu kyslíku).

Právě tyto podmínky mohou souviset s častým výskytem kokcií rodu *Eimeria* u zde studovaných druhů *A. flavicollis* a *A. sylvaticus*. Oba druhy se pohybují v prostředí lesních porostů, polních remízků a na březích vodních toků (Dungel 1993, Anděra a Horáček 2005). Tato prostředí za vhodného počasí poskytují suché podmínky s vlhkou půdou.

1.3.8 Historie dvou druhů rodu *Apodemus*

Myšice (rod *Apodemus*; Rodentia: Muridae: Murinae), zahrnují více než 20 popsanych druhů hojně rozšířených v Palearktu a často žijících v sympatrii či v syntopii (Filippucci *et al.* 2002, Štefka a Hypša 2008, Mácová *et al.* 2018). V námi studované „kontaktní zóně“ se potkávají dva konkrétní druhy, a to myšice lesní (*Apodemus flavicollis*) a myšice křovinná (*Apodemus sylvaticus*).



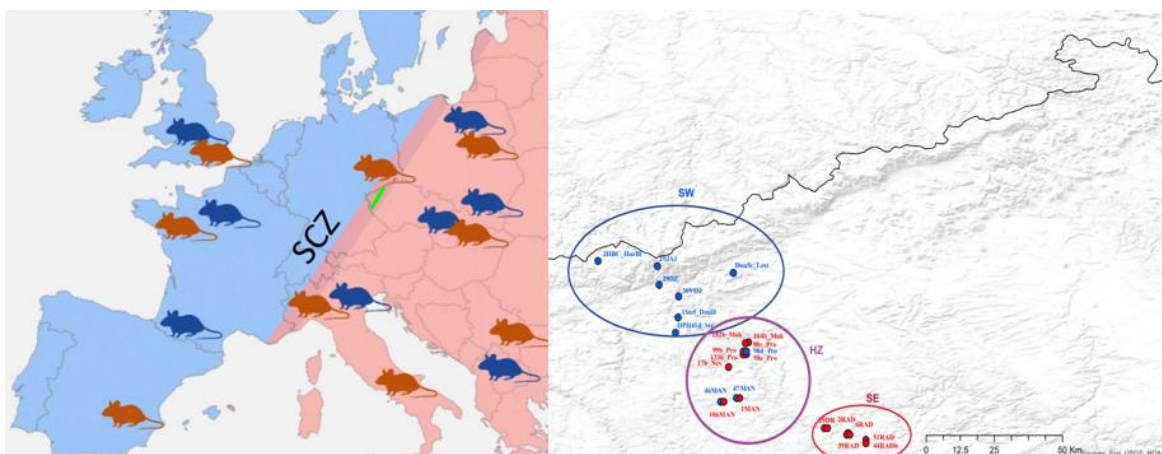
Obr. 3: Geografické rozšíření *A. flavicollis* (A) a *A. sylvaticus* (B) (převzato z Amori *et al.* 2016 a Schlitter *et al.* 2017).

Přestože jsou si tyto dva druhy geneticky blízce příbuzné, a mají podobnou morfologii i geografické rozšíření (Obr. 3), jejich strategie při přežití čtvrtohorního glaciálu se značně liší. Populace *A. flavicollis* se štěpí do tří geneticky odlišných linií, které rekolonizovaly Evropu z refugií na Balkáně asi před 10 000 lety, a jejichž areál výskytu se místy překrývá. Populace *A. sylvaticus* se v Evropě dělí do dvou genetických linií, jejichž areál výskytu se nepřekrývá. První linie je rozšířena od Španělska po Švédsko a na východě Ukrajiny, druhá linie se vyskytuje v Itálii a na Balkáně. Toto rozšíření je možné vysvětlit separací dvou skupin během glaciálu ve čtvrtohorách ve dvou různých refugiích – na Pyrenejském poloostrově a na území Itálie a Balkánu. Z předchozích dat víme, že *A. flavicollis* nepřežil poslední období glaciálu na Pyrenejském poloostrově, zatímco *A. sylvaticus* v tomto refugiu přežil a rekolonizoval odtud téměř celou Evropu. A naopak, refugium odkud rekolonizoval Evropu *A. flavicollis* během holocénu se zdá být shodné s oblastí na Balkáně, kde prodělal druh *A. sylvaticus* genetický bottleneck. Jak již bylo zmíněno výše, tyto dva druhy mohou žít v sympatrii i v syntopii, a tudíž zde mohla hrát roli mezidruhová kompetice. Přestože jsou mezidruhové interakce slabé a ani jeden

druh není schopen druhý vytlačit, v případě střetu dominuje *A. flavicollis* (Michaux *et al.* 2005). Tento fakt by však vysvětloval pouze možný důvod nízké genetické variability druhu *A. sylvaticus* v italsko-balkánské oblasti, ne však vymizení *A. flavicollis* z pyrenejské oblasti. Jedno z vysvětlení je, že předci *A. sylvaticus* se izolovali ve Španělsku a jižní Francii, zatímco předci *A. flavicollis* žili spíše ve Střední Evropě a na Balkáně, a oba druhy jsou tak více adaptované na podmínky, kde žili jejich předci, a mají tudíž větší šanci přežít tam. Rovněž se uvádí, že *A. sylvaticus* je více přizpůsobivý prostředí než *A. flavicollis*, který se zdržuje spíše jen v lesních habitatech a během posledního zalednění došlo k rozpadu lesních oblastí na Pyrenejském poloostrově, což mohlo hrát roli při vymizení tohoto druhu právě v dané oblasti. Navíc se uvádí, že *A. sylvaticus* lépe přečkává zimní období než *A. flavicollis*, a tak je pravděpodobné, že snadněji přežil tvrdé podmínky v této oblasti (Michaux *et al.* 1998, 2001, 2004, 2005).

1.3.9 „Kontaktní zóna“ procházející západem Čech

Takzvaná „kontaktní zóna“ procházející západní částí České republiky (Obr. 4) je modelovou oblastí pro studium evolučních vztahů na různých úrovních (studium hostitelů rodu *Apodemus*, jejich ektoparazitů – vší, a symbiotických bakterií vší). U vši druhu *Polyplax serrata* dochází v této zóně k rozdělení na dvě striktně geneticky odlišné linie (západní a východní), na rozdíl od jejího hostitele *Apodemus flavicollis*, který zde tvoří panmiktickou populaci (Obr. 4). Možným vysvětlením tohoto rozdělení do linií je původ z odlišných refugií. Tato zóna by na základě oblastí vyznačených ve studii Martinů *et al.* (2020) mohla na území Čech dosahovat délky až okolo 160 km, avšak pro její upřesnění je zapotřebí další studium.



Obr. 4: „Kontaktní“ zóna vší *P. serrata* (převzato z Martinů *et al.* 2020).

SCZ, secondary contact zone - zóna druhotného kontaktu; SW, specific western lineage - západní linie; HZ - hybridní zóna; SE, specific eastern lineage - východní linie; (zeleně - zóna na území ČR).

2 CÍLE PRÁCE

Jelikož je známo, že v „kontaktních zónách“ dochází k zajímavým interakcím mezi hostiteli a parazity, rozhodla jsem se svou práci zaměřit právě na takovou zónu, ve které bylo již dříve zjištěno, že se tam „něco děje“. Na základě studií Štefka a Hypša (2008) a Martinů *et al.* (2018) byla navržena „kontaktní zóna“ v západní části naší republiky, kde bylo cílem prostudovat populačně-genetickou strukturu vší *P. serrata*, parazitujících u myšic; existovaly totiž indicie, že touto oblastí prochází hranice mezi odlišnými genetickými liniemi *P. serrata*, které se vzájemně nemísí. Po několik let zde proto probíhaly intenzivní odchvy hlodavců, prováděné členy naší laboratoře (v průběhu mého magisterského studia i mnou), během kterých byly ze studovaných zvířat kromě vší odebírány i vzorky trusu. Měla jsem tak k dispozici velké množství materiálu pocházejícího z této zóny.

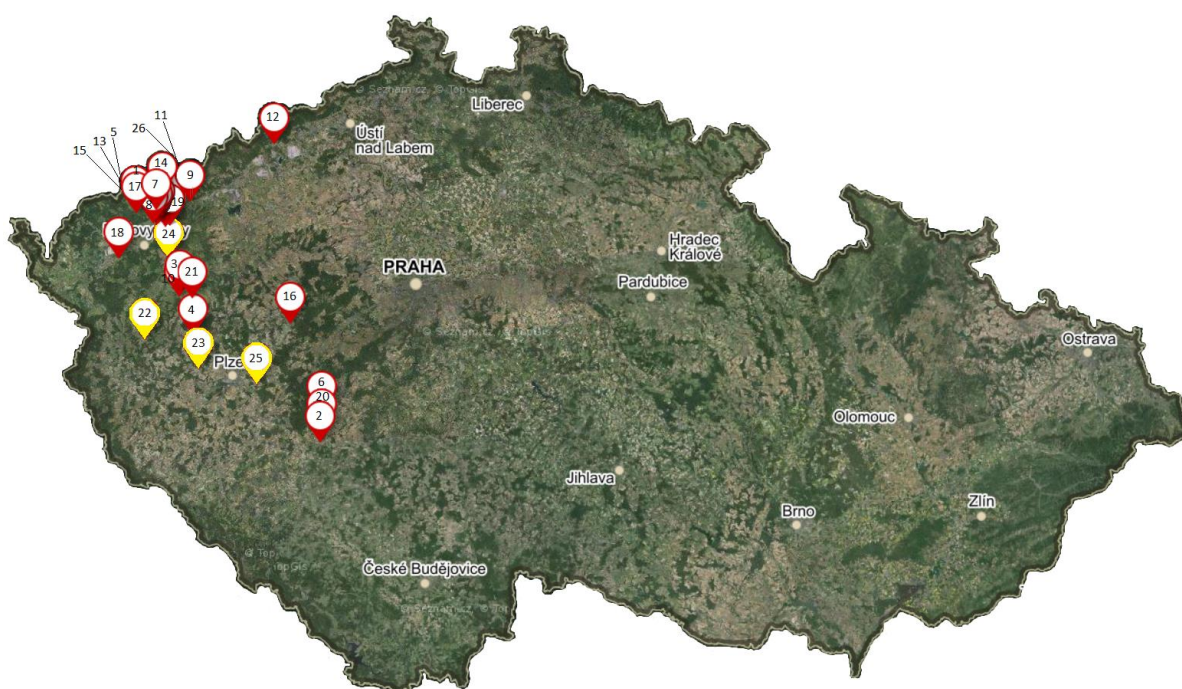
Dílčí cíle mé práce tak byly:

- Zjistit druhové spektrum kokcidií rodu *Eimeria*, které parazitují u myšic a hrabošovitých hlodavců v oblasti „kontaktní zóny“.
- Rekonstruovat fylogenetické vztahy kokcidií rodu *Eimeria* parazitujících u hlodavců odchycených na lokalitách v „kontaktní zóně“.
- Zjistit hostitelskou specifitu jednotlivých druhů kokcidií rodu *Eimeria* infikujících hlodavce v oblasti „kontaktní zóny“.
- Porovnat zjištěné fylogenetické vztahy s výsledky dosud dostupných prací týkajících se kokcidií daných hlodavců (zejména publikace Mácová *et al.* 2018, Trefancová *et al.* 2020 submitted).
- Zjistit, zda se v populačně-genetické struktuře eimerií u hlodavců odchycených v oblasti „kontaktní zóny“ vyskytuje pattern, který by mohl souviset s průběhem této zóny.

3 METODIKA

3.1 Odchyty hlodavců, odběr vzorků

Materiál pro diplomovou práci jsem získala z 21 lokalit v České republice (Obr. 5, Tab. I), které byly vybrány jakožto součást „kontaktní zóny“ vší *P. serrata*. Sběry prováděli spolu se mnou členové Katedry parazitologie PřF JU (laboratoř profesora Hypši) a studenti ČZU během let 2018 a 2019. Celkem bylo odchyceno 387 hlodavců. Jednalo se o následující druhy: *A. flavicollis* (myšice lesní), *A. sylvaticus* (myšice křovinná), *C. glareolus* (norník rudý) a *M. arvalis* (hraboš polní).



Obr. 5: Lokality odchyty hlodavců (červeně-lokality mých vzorků, žlutě-lokality vzorků vyšetřených v rámci přechozích sběrů).

Tab. I: Lokality odchyty hlodavců (čísla lokalit odpovídají číslům na Obr. 5).

Číslo lokality	Název lokality
1	Abertamy, okr. Karlovy Vary
2	Bělčice, okr. Strakonice

3	Brložec, okr. Karlovy Vary
4	Císařský Mlýn, okr. Plzeň-sever
5	Dolní Žďár, okr. Karlovy Vary
6	Hoděmyšl, okr. Příbram
7	Jáchymov, okr. Karlovy Vary
8	Kfely, okr. Karlovy Vary
9	Klášterecká Jeseň, okr. Chomutov
10	Komárov, okr. Karlovy Vary
11	Krásný Les, okr. Karlovy Vary
12	Litvínov, okr. Most
13	Mořičov, okr. Karlovy Vary
14	Oberwiesenthal, Německo
15	Ostrov, okr. Karlovy Vary
16	Podmokly, okr. Plzeň-sever
17	Pstruží, okr. Karlovy Vary
18	Staré Sedlo, okr. Sokolov
19	Vojkovice, okr. Karlovy Vary
20	Volenice, okr. Příbram
21	Zbraslav, okr. Karlovy Vary
22	Lestkov, okr. Tachov
23	Plešnice, okr. Plzeň-sever
24	Stružná, okr. Karlovy Vary
25	Tymákov, okr. Plzeň-město

(žlutě označené lokality odpovídají žlutým lokalitám v mapě na Obr. 5)

3.1.1 Materiál

- Dřevěné sklapovací pasti s vnařidlem
- Papírové sáčky
- Souprava na pitvání (pinzety, nůžky)
- 96% ethanol
- 2,5% roztok dichromanu draselného ($K_2Cr_2O_7$)

3.1.2 Postup práce

Na vybraná místa (dle biotopu hostitelů) byly do linií položeny navnazené sklapovací pasti ve vzdálenosti minimálně sedm metrů od sebe. Jako návnada byl nejčastěji použit olej z konzervy sardinek nebo knot napuštěný sádlem. Pasti byly na lokality kladeny večer a ponechány přes noc. Následující den byly zkontrolovány a odchycení hlodavci byli vloženi jednotlivě do papírových sáčků. Před vlastní pitvou byli hlodavci určeni do rodu a druhu; pokud determinace na místě nebyla možná (např. u některých jedinců rodu *Apodemus*, viz kapitola 1.3.5), byl zvířeti odebrán kus tkáně (nejčastěji prst nebo kousek ušního boltce) do 96% ethanolu pro následnou molekulární determinaci. Poté byla provedena pitva zvířete, při níž byl odebrán kus střeva a tračník se zformovaným trusem do 2,5% roztoku $K_2Cr_2O_7$.

3.2 Koprologické vyšetření (flotace)

3.2.1 Materiál

- Flotační aparatura (stojan, kruhový držák, trychtýř, sítko)
- Pinzeta
- Zkumavky, kádinka s vodou
- Sheatherův cukerný roztok o hustotě $1,30 \text{ g/cm}^3$
- Vybavení pro světelnou mikroskopii (podložní a krycí skla, mikrobiologická klička, mikroskop)

3.2.2 Postup práce

Vzorky trusu jsem vyšetřila flotačně-koncentrační metodou s použitím modifikovaného Sheatherova cukerného roztoku o hustotě $1,30 \text{ g/cm}^3$ (Zajac a Conboy 2006, Modrý *et al.* 2015). Vzorky trusu byly nejprve zhomogenizovány pomocí pinzety a následného důkladného protřepání. Část vzorku byla přecezena přes sítko do prázdné zkumavky, a tato zkumavka byla dolita cca 1 cm pod okraj vodou z kohoutku. Zkumavky byly vloženy do centrifugy a odstředěny 10 minut při otáčkách 3680 rpm. Ze zkumavky byl následně odlit supernatant. K sedimentu byl přidán flotační cukerný roztok zhruba do čtvrtiny výšky zkumavky, pomocí třepání byl sediment rozpuštěn v roztoku, a zkumavka byla poté dolita cukerným roztokem cca 1 cm pod okraj. Takto připravené zkumavky byly vloženy do centrifugy a odstředěny 10 minut při otáčkách 3680 rpm. Poté byla ze zkumavky na podložní sklo pomocí mikrobiologické kličky odebrána povrchová blanka, přikryta krycím sklem, a takto vzniklý preparát byl vyšetřen pod světelným mikroskopem Olympus CX31 (Olympus, Japonsko) při zvětšení 10×20 . Při pozitivním nálezů oocyst kokcií jsem intenzitu infekce zhodnotila semikvantitativně podle počtu oocyst v zorném poli mikroskopu při zvětšení 10×10 (0-10 velmi slabá; 10-30 slabá; 30-100 středně silná, >100 silná).

3.3 Izolace DNA

Ze vzorků mikroskopicky pozitivních na přítomnost oocyst kokcií jsem izolovala DNA. K izolaci genomové DNA byl použit FastDNA[®] SPIN Kit for Soil (MP Biomedicals, LLC, USA) dle návodu uvedeného výrobcem.

3.3.1 Postup práce

Nejprve bylo zapotřebí vzorek „promýt“, tj. zbavit ho dichromanu draselného (který je zbarven oranžově), který může inhibovat PCR reakci: Do 1,5 ml mikrozkušavky bylo napipetováno 250 μl vzorku a odstředěno 5 minut při otáčkách 13000 rpm. Vzniklý supernatant byl odstraněn pomocí mikropipety. K sedimentu bylo napipetováno 250 μl kohoutkové vody, vzniklá směs byla promíchána, a opět centrifugována 5 minut při otáčkách 13000 rpm. Tento postup byl opakován tak dlouho, dokud nebyl supernatant bezbarvý (většinou $5-7\times$).

200 µl takto promytého vzorku bylo přidáno do Lysing Matrix E Tube. Ke vzorku bylo následně přidáno 978 µl Sodium Phosphate Buffer a 122 µl MT Buffer. Zkumavky byly vloženy do homogenizátoru (FastPrep®-24; MP Biomedicals, LLC, USA) na 1 minutu při rychlosti 6,0 a následně centrifugovány 13 minut při otáčkách 12300 rpm. Supernatant byl přenesen do čisté mikrozukavky, a bylo k němu přidáno 250 µl PPS for Soil Kit. Vzorky byly 15× ručně promíchány a následně ponechány 10 minut stát při pokojové teplotě, poté byly odstředěny 5 minut při otáčkách 12300 rpm. Supernatant byl přenesen do 5 ml zkumavek, a byl k němu přidán 1 ml Binding Matrix. Zkumavky byly vloženy na 7 minut do rotátoru (Biosan; BioTech a.s., Česká republika) a následně byly ponechány 5 minut stát při pokojové teplotě. Z povrchu zkumavky bylo opatrně odsáto 500 µl supernatantu, který byl vyhozen. Zbytek byl promíchán mikropipetou a postupně po 650 µl přenesen na kolonku SPIN Filter a odstředěn 5 minut při otáčkách 12300 rpm. Přefiltrovaný supernatant byl vylit. Ke vzorku bylo přidáno 500 µl SEWS-M a vloženo do centrifugy na 5 minut při otáčkách 12300 rpm. Přefiltrovaný supernatant byl vylit a zkumavka byla znovu vložena do centrifugy na 5 minut při otáčkách 12300 rpm pro vysušení, a následně byla ponechána 5 minut stát při pokojové teplotě. Na kolonku bylo napipetováno 40 µl ultračisté vody (DES, DNase/Pyrogen-Free Water) a následně centrifugováno 2 minuty při otáčkách 12300 rpm. Poté bylo na kolonku napipetováno dalších 30 µl DES a následně centrifugováno 2 minuty při otáčkách 12300 rpm. Výsledných 70 µl takto vyizolované DNA bylo uchováváno při -18 °C.

3.4 PCR

Vyizolovanou DNA jsem amplifikovala pomocí polymerázové řetězové reakce (PCR, Polymerase Chain Reaction). Pro tuto reakci byly zvoleny primery specifické pro kokcidie čeledi Eimeriidae amplifikující jaderný gen pro malou ribozomální podjednotku (18S rRNA), mitochondriální gen pro cytochromoxidázu c podjednotku I (COI), a plastidový gen pro ORF470 (viz Tab. II). Sekvence primerů byly převzaty z publikací Kvičarová *et al.* 2008 (18S rRNA), Schwarz *et al.* 2009 (COI), a Zhao a Duszynski 2001b (ORF470).

Tab. II: Primery použité pro PCR.

Název genu	Sekvence primerů (5' → 3')	
18S rRNA	Forward	GAAACTGCGAATGGCTCATT
	Reverse	CTTGCGCCTACTAGGCATTC
COI	Forward	GGTTCAGGTGTTGGTTGGAC
	Reverse	ATCCAATAACCGCACCAAGAG
ORF470	Forward	GATGATATATCTTATTATTCAATTCCTT
	Reverse	TCCAATATGTAACATTTTATTTC

3.4.1 Chemikálie pro PCR

- 10× PCR buffer (Tris-Cl, KCl, (NH₄)₂SO₄, 15 mM MgCl₂; Qiagen, Německo)
- Nukleotidy (dNTPs; 10 mM roztok – 2,5 mM každé báze; TaKaRa, Japonsko)
- Specifické primery (20 pmol/μl F, 20 pmol/μl R; Generi Biotech, Česká republika)
- HotStar Taq polymeráza (5 U/μl; Qiagen, Německo)
- Izolovaná DNA
- PCR H₂O
- Mikropipety (Eppendorf, Německo) a špičky pro mikropipety
- Mikrozkušavky pro PCR
- Termocykler (Eppendorf, Německo)

3.4.2 Postup práce

Pro amplifikaci jednoho vzorku jsem použila 2,0 μl DNA, 2,5 μl pufru, 1,0 μl nukleotidů, 0,5 μl primeru F, 0,5 μl primeru R, 0,2 μl HotStar Taq polymerázy, a nakonec jsem přidala 18,3 μl vody. Všechny složky byly promíchány. Zkušavky byly poté vloženy do termocykleru, ve kterém proběhla amplifikace pomocí specifického programu.

PCR program pro 18S rRNA:

<u>1. Úvodní denaturace</u>	95 °C	5 min	}	30 cyklů
2. Denaturace	92 °C	45 s		
3. Annealing	53 °C	45 s		
<u>4. Elongace</u>	72 °C	1 min 30s		
5. Extenze	72 °C	10 min		

PCR program pro COI:

<u>1. Úvodní denaturace</u>	95 °C	5 min	}	35 cyklů
2. Denaturace	94 °C	45 s		
3. Annealing	55 °C	45 s		
<u>4. Elongace</u>	72 °C	1 min		
5. Extenze	72 °C	10 min		

PCR program pro ORF470:

<u>1. Úvodní denaturace</u>	95 °C	5 min	}	35 cyklů
2. Denaturace	92 °C	45 s		
3. Annealing	50 °C	45 s		
<u>4. Elongace</u>	72 °C	1 min 30s		
5. Extenze	72 °C	10 min		

3.5 Elektroforéza

Vizualizaci PCR produktů jsem prováděla na 1% agarozovém gelu.

3.5.1 Materiál

- Agaróza (PCR agaróse; Top-Bio s.r.o., Česká republika)
- 1% TAE pufr (50× pH 8,3 tris-acetate EDTA buffer; Merck, Německo)
- Vybavení pro elektroforézu (vaničky, hřeben, elektroforetická vana)
- Ehrlenmayerova baňka
- Odměrný válec
- Předvážky
- Ladder (GeneRuler 1kb Plus DNA Ladder; Thermo Fisher Scientific, USA)

- SYBR Green (Thermo Fisher Scientific, USA)
- Mikropipety

3.5.2 Postup práce

Na předvážkách bylo naváženo 0,6 g agarozy. Do odměrného válce bylo nalito 60 ml TAE pufru. Obě složky byly smíchány v Ehrlenmayerově baňce a vloženy do mikrovlnné trouby přibližně na 1 minutu. Po vyndání z mikrovlnné trouby byla baňka zchlazena proudem studené vody, a poté byl její obsah vylit do vaničky s hřebenem, kde přibližně 30 minut tuhnul do podoby gelu. 1% agarozový gel byl následně vložen do elektroforetické vany a zalit TAE puftrem tak, aby byl celý ponořen. Do jamky bylo napipetováno 6 μ l PCR produktu smíchaného s přidaným barvivem SYBR Green. Do jedné z jamek byly napipetovány 4 μ l 1 kb ladderu rovněž smíchaného s barvivem SYBR Green. Elektroforéza byla spuštěna při napětí 100 V přibližně na 25 minut. Výsledky byly vizualizovány pomocí UV transiluminátoru (UVITEC, Velká Británie).

3.6 Enzymatické čištění PCR produktů, sekvenování

Získané PCR produkty o požadované velikosti byly přečištěny pomocí enzymů.

3.6.1 Chemikálie

- Enzym Exonukleáza I (Thermo Fisher Scientific, USA)
- Enzym FastAP (termosensitivní alkalická fosfatáza; Thermo Fisher Scientific, USA)

3.6.2 Postup práce

Ke každému PCR produktu o požadované velikosti bylo přidáno 0,2 μ l Exonukleázy I a 0,2 μ l enzymu FastAP. Vzorky byly vloženy do termocykleru, kde byly purifikovány za použití specifického programu. Takto enzymaticky přečištěné vzorky byly zaslány do firmy Macrogen Europe B.V. (Nizozemí) na osekvenování Sangerovou metodou.

Průběh programu pro purifikaci DNA:

1. Inkubace	37 °C	15 min
2. Inaktivace	85 °C	15 min

3.7 Zpracování získaných sekvencí

Kvalita získaných sekvencí byla nejprve zkontrolována v programu SeqScanner v1.0 (Applied Biosystems, USA). V programu EditSeq v5.05 (DNASTAR Inc., USA) byly následně sekvence uloženy ve formátu, který je nutný pro složení obou dílčích sekvencí v jeden konsensus v programu SeqMan v5.05 (DNASTAR Inc., USA). U protein-kódujících sekvencí (COI, ORF470) byla v programu EditSeq zkontrolována správnost čtecího rámce sekvencí. Pro každý ze tří osekvenovaných genů byl vytvořen dataset obsahující získané sekvence spolu se sekvencemi kokcií přidanými z databáze GenBank (<https://www.ncbi.nlm.nih.gov/Taxonomy/Browser/wwwtax.cgi?id=5800>) (viz Přílohy Tab. VIII-X). Alignments byly vytvořeny v programu BioEdit v7.0.5.3 (Hall 1999) s použitím algoritmu ClustalW (Thompson *et al.* 1994), a následně zde byly ořezány na jednotnou délku. Sekvence 18S rRNA byly alignovány jako nukleotidy, zatímco sekvence COI a ORF470 jako proteiny.

3.8 Fylogenetické analýzy a haplotypové sítě

Pomocí dvou přístupů - bayesovské analýzy (Bayesian inference, BI) a analýzy maximální věrohodnosti (Maximum Likelihood, ML) byly v programech MrBayes v3.1.2 (Huelsenbeck a Ronquist 2001) a Phyml v2.4.3 (Guindon a Gascuel 2003) rekonstruovány fylogenetické stromy a spočítány podpory jednotlivých uzlů. Všechny analýzy byly provedeny s použitím evolučního modelu GTR + Γ + I, který byl vybrán programem SMS: Smart Model Selection (Lefort *et al.* 2017; www.atgc-montpellier.fr/sms/). BI analýzy byly provedeny pro 10 milionů generací, burn-in byl nastaven na 25 %. Bootstrapové hodnoty ML byly počítány pro 1000 replikací. Výsledné fylogenetické stromy byly zobrazeny v programu TreeView v1.6.6 (Page 1996), ve kterém byly poté uloženy do grafického formátu. Haplotypové sítě byly vytvořeny z protein-kódujících sekvencí (tj. COI a ORF470) v programu TCS v1.21 (Clement *et al.* 2000). Všechny fylogenetické stromy a haplotypové sítě byly nakonec upraveny a exportovány v programu Adobe Illustrator CC v5.1.2 (Adobe Systems Inc.).

4 VÝSLEDKY

Celkem jsem vyšetřila 387 vzorků trusu odchycených jedinců hlodavců; mikroskopicky pozitivních na oocysty eimerií nebo nevysporulované oocysty bylo 125 (~32 %) (Tab. III). Při bližším prozkoumání bylo z výsledků patrné, že se v rámci studovaných lokalit parazitovanost hlodavců kokcidiemi zvyšovala směrem na východ (západní oblast – prevalence 28 %, východní oblast 43 %). DNA byla izolována z 91 vzorků. Celkem jsem získala 154 sekvencí, a to pro tři různé geny: jaderný gen pro malou ribozomální podjednotku 18S rRNA (53 sekvencí), mitochondriální gen COI (61 sekvencí) a plastidový gen ORF470 (40 sekvencí).

Tab. III: Přehled vyšetřených druhů hlodavců.

Druh hlodavce	Počet odchycených jedinců	Počet jedinců pozitivních na přítomnost oocyst kokcidií	Prevalence kokcidií u daného druhu
<i>A. flavicollis</i>	262	85	32 %
<i>A. sylvaticus</i>	8	2	25 %
<i>Apodemus</i> sp.	7	2	29 %
<i>C. glareolus</i>	67	18	27 %
<i>M. arvalis</i>	43	18	42 %
CELKEM	387	125	32 %

Z tabulky III je zřejmé, že nejčastěji odchyceným druhem na studovaných lokalitách byl *A. flavicollis*, a druhem nejčastěji parazitovaným kokcidiemi byl *M. arvalis*. Fylogenetické analýzy prokázaly zastoupení pěti druhů eimerií. Jedná se o tyto druhy: *E. apionodes*, *E. coahuliensis*, *E. jerfinica*, *E. kaunensis* a *E. uptoni*.

Flotačním vyšetřením s následnou mikroskopií byli zjištěni i další endoparaziti. Nejčastěji se jednalo o vajíčka hlístice *Capillaria* sp., dále pak vajíčka tasemnic čeledi

Hymenolepididae, vajíčka škrkavek, roupů, cysty *Giardia* sp., oocysty *Cryptosporidium* sp. a oocysty *Isospora* sp.

COI je v současné době nejčastěji používaným genem pro studium vnitrodruhové variability a pro fylogenetické analýzy blízké příbuzných druhů eimerií. Analýzy COI rozdělily mnou získané sekvence na pět druhů eimerií (*E. apionodes*, *E. coahuliensis*, *E. jerfinica*, *E. kaunensis* a *E. uptoni*). Druh *E. apionodes* je dále rozdělen na několik linií (označovaných jako *apionodes* I-IV) se shodnou morfologií, ale s různými fylogenetickými vztahy i hostitelskou specifitou (Obr. 6-7). Některé druhy eimerií nebo linie *apionodes* mají patrnou vnitřní strukturu; jedná se o *E. jerfinica*, *E. uptoni*, *E. apionodes* I + III a *E. kaunensis*. U vnitřní struktury těchto pěti druhů jsem se pak zaměřila na hledání patternu, který by mohl souviset s „kontaktní zónou“. Nejzajímavější vnitřní strukturu má druh *E. uptoni*, u kterého vzorky z České republiky, pocházející výhradně z lokalit v oblasti „kontaktní zóny“, tvoří samostatnou podlinii, která je jasně odlišená od vzorků ze Slovenska a Polska (tj. z lokalit na východ od „kontaktní zóny“). Na rozdíl od předchozích studií (Mácová *et al.* 2018, Trefancová *et al.* 2020 submitted) jsem u hlodavců odchycených v oblasti „kontaktní zóny“ objevila i další - dosud nepopsaný - druh eimerie: vzorek z hraboše polního MA 14KLES (červeně označený) z lokality Krásný Les (okr. Karlovy Vary) neklastuje v rámci žádného z výše uvedených druhů, a po mikroskopickém vyšetření je patrné, že se od nich liší i morfologicky. Fylogeneticky je nejpříbuznější druhům *E. callospermophili* (ze sysla obecného) a *E. cahirinensis* (z myši bodlinaté) (Obr. 6).

U jednotlivých druhů si můžeme povšimnout různé hostitelské specifity. Druhy *E. jerfinica*, *E. uptoni* a linie *E. apionodes* II se vyskytují pouze u myšic, na rozdíl od *E. apionodes* III nebo *E. kaunensis*, které parazitují jak u myšic, tak u hrabošovitých hlodavců (Obr. 6-11).

Gen ORF470 je na základě recentní studie Jarquín-Díaz *et al.* (2020) považován za nejvhodnější marker pro detekci vnitrodruhové variability eimerií. Z tohoto důvodu jsem ho zcela nově – na rozdíl od studií Mácová *et al.* (2018) nebo Trefancová *et al.* (2020, submitted) – také použila ve svých analýzách. Bohužel zastoupení jeho sekvencí v databázi GenBank je velmi malé. Ve fylogenetických stromech získaných analýzami tohoto genu

(Obr. 8-9) vidíme opět očekávané druhy a vzorek MA 14KLES, který klastruje k druhu *E. reedi* (ze severoamerické hlodavce *Perognathus* sp.). Některé druhy zde klastrují na rozdíl od fylogenetických stromů 18S rRNA a COI rozštěpeně (například *E. kaunensis* a linie *E. apionodes* I), což může být vlivem smíšených infekcí mezi druhy eimerií i vlivem smíšených infekcí mezi eimeriemi a isosporami (šedě označené).

Gen pro 18S rRNA je značně konzervativní a málo variabilní, proto není vhodný k rekonstrukcím vnitrodruhových vztahů nebo pro analýzy vztahů blízké si příbuzných druhů. Tento gen jsem tedy použila především jen jako orientační marker, a také z důvodu velkého zastoupení jeho sekvencí eimerií v databázi GenBank. Analýzy genu pro 18S rRNA rozdělily mnou získané sekvence na čtyři druhy eimerií (*E. apionodes*, *E. jerfinica*, *E. kaunensis* a *E. uptoni*), ale toto členění není na rozdíl od předchozích dvou genů tolik zřetelné, a v BI stromu není zřetelné téměř vůbec z důvodu výskytu velkého množství polytomií (Obr. 10-11).

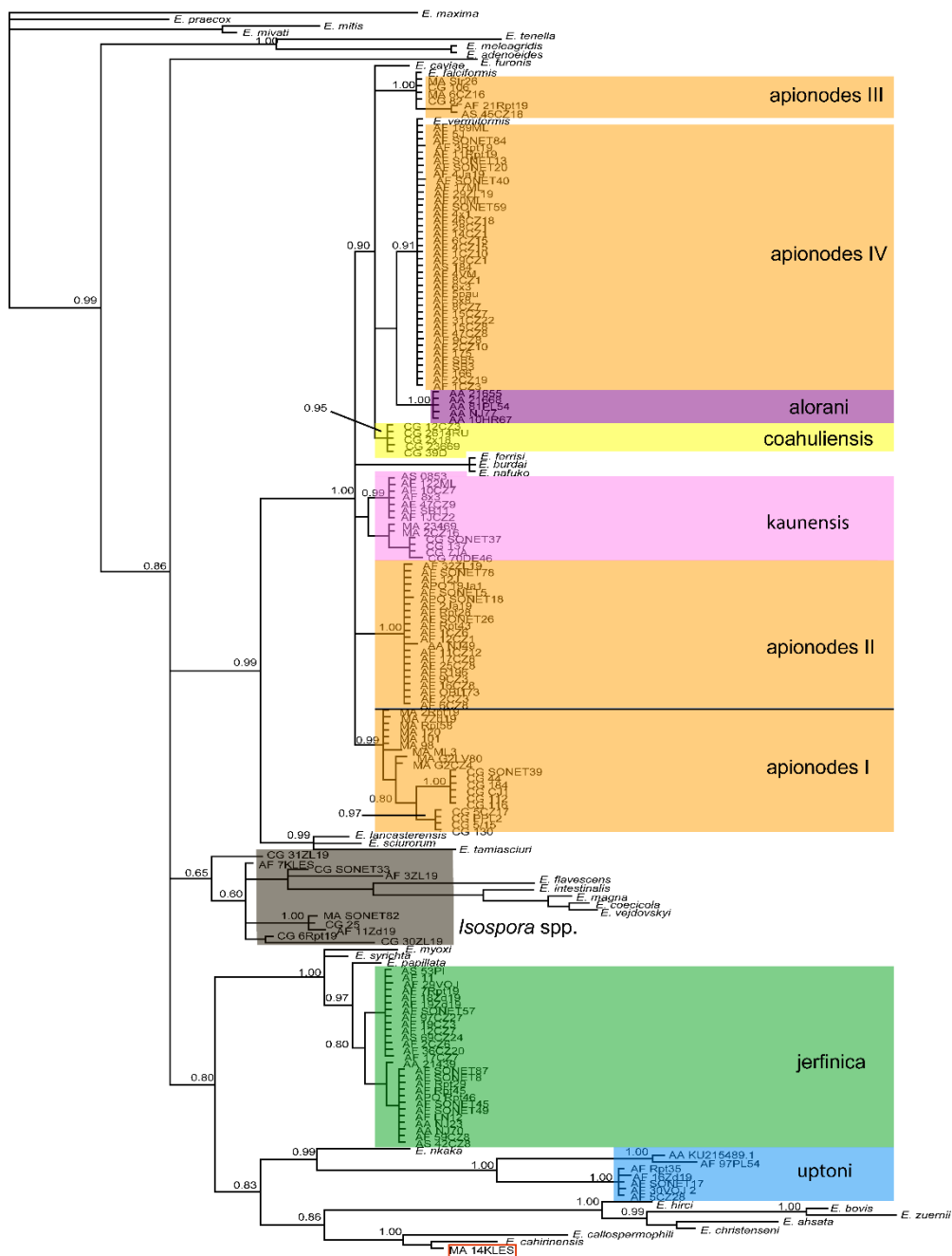
Haplotypová síť COI (Obr. 12) byla vytvořena ze 154 sekvencí eimerií z myšic a hrabošovitých hlodavců pocházejících z oblasti „kontaktní zóny“. Analýza COI sekvencí vytvořila pět samostatných haplotypových sítí (jedna pro druhy *E. alorani*, *E. apionodes*, *E. coahuliensis* a *E. kaunensis*; dvě pro druh *E. uptoni*; jedna pro *E. jerfinica* a jedna pro rod *Isospora* sp.) a tři samostatných haplotypů. Sítě jsou dobře strukturovány, nicméně obsahují poměrně velké množství uzlů (tj. potenciálních/chybějících haplotypů). Přehled všech haplotypů, respektive vzorků z analýzy sekvencí COI, které jednotlivé haplotypy obsahují, je uveden v Příloze v tabulce VI.

Haplotypová síť ORF470 (Obr. 13) byla vytvořena ze 44 sekvencí eimerií z myšic a hrabošovitých hlodavců pocházejících z oblasti „kontaktní zóny“. Analýza ORF470 sekvencí vytvořila dvě oddělené sítě (jedna obsahuje druhy *E. apionodes*, *E. kaunensis* a smíšené infekce *E. apionodes* I + *Isospora* spp. a *E. apionodes* III + *E. kaunensis*; druhá obsahuje druh infikující rod *Mus* - *E. ferrisi* a druh infikující rod *Rattus* - *E. separata*) a 14 samostatných haplotypů. Sítě jsou dobře strukturovány, nicméně opět obsahují poměrně velké množství uzlů (tj. potenciálních/chybějících) haplotypů. Přehled všech haplotypů, respektive vzorků z analýzy sekvencí COI, které jednotlivé haplotypy obsahují, je uveden v Příloze v tabulce VII.



Obr. 6: Fylogenetický strom získaný analýzou ML na základě sekvencí COI genu a parametrů uvedených v kapitole 3.8. Číselná hodnota u uzlů odpovídá bootstrapovým hodnotám. Hodnoty nižší než 50 % nejsou uvedeny. Strom je zakořeněn druhem *Eimeria maxima*.

Vysvětlivky ke kódům vzorků: AA, *A. agrarius*; AF, *A. flavicollis*; AS, *A. sylvaticus*; CG, *C. glareolus*; MA, *M. arvalis*; MAG, *M. agrestis*.



0.1

Obr. 7: Fylogenetický strom získaný analýzou BI na základě sekvencí COI genu a parametrů uvedených v kapitole 3.8. Číselná hodnota u uzlů odpovídá hodnotám posteriorní pravděpodobnosti. Hodnoty nižší než 0, 50 nejsou uvedeny. Strom je zakořeněn druhem *Eimeria maxima*.

Vysvětlivky ke kódům vzorků: AA, *A. agrarius*; AF, *A. flavicollis*; AS, *A. sylvaticus*; CG, *C. glareolus*; MA, *M. arvalis*; MAG, *M. agrestis*.



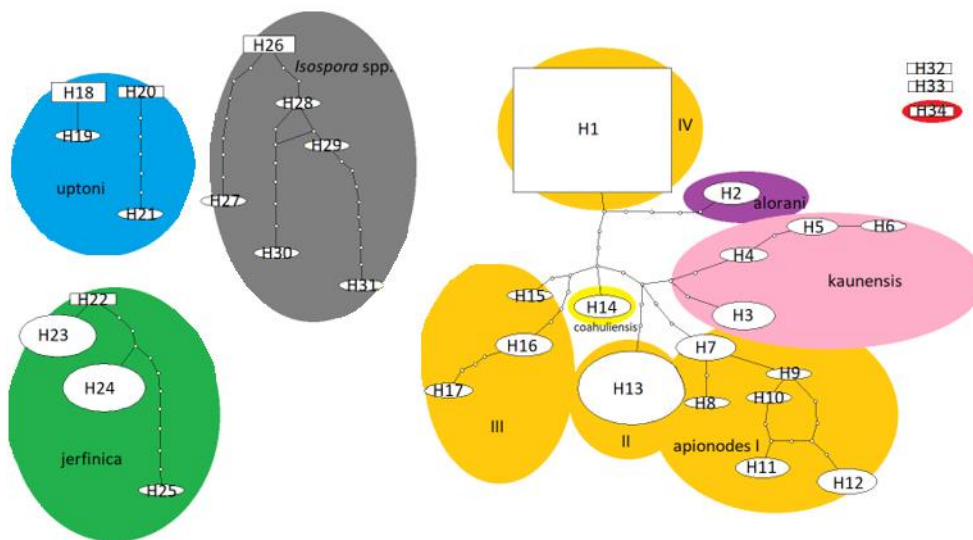
Obr. 8: Fylogenetický strom získaný analýzou ML na základě sekvencí ORF470 genu a parametrů uvedených v kapitole 3.8. Číselná hodnota u uzlů odpovídá bootstrapovým hodnotám. Hodnoty nižší než 50 % nejsou uvedeny. Strom je zakořeněn druhem *Eimeria tenella*.

Vysvětlivky ke kódům vzorků: AF, *A. flavicollis*; AS, *A. sylvaticus*; CG, *C. glareolus*; MA, *M. arvalis*.

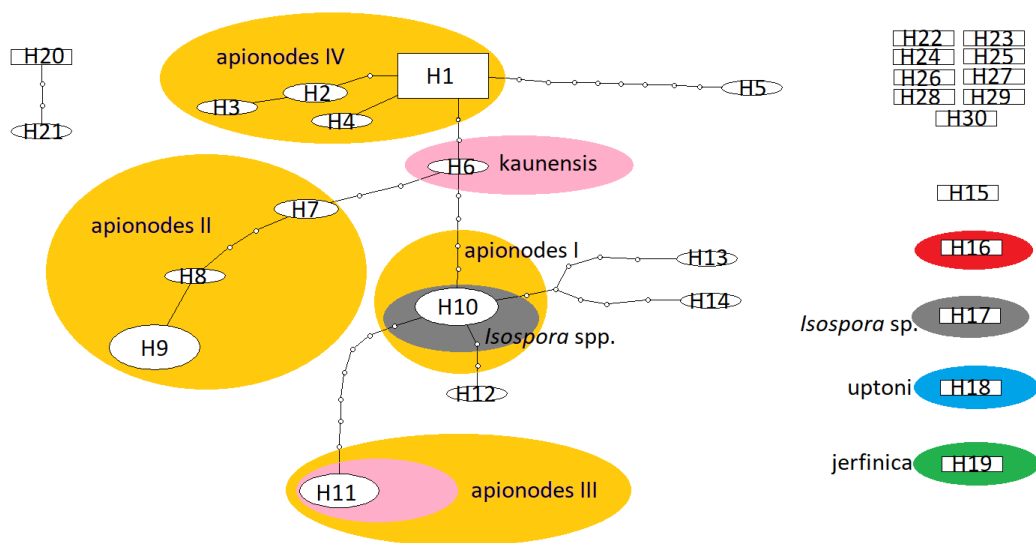


Obr. 9: Fylogenetický strom získaný analýzou BI na základě sekvencí ORF470 genu a parametrů uvedených v kapitole 3.8. Číselná hodnota u uzlů odpovídá hodnotám posteriorní pravděpodobnosti. Hodnoty nižší než 0, 50 nejsou uvedeny. Strom je zakořeněn druhem *Eimeria tenella*.

Vysvětlivky ke kódům vzorků: AF, *A. flavicollis*; AS, *A. sylvaticus*; CG, *C. glareolus*; MA, *M. arvalis*.



Obr. 12: Haplotypové sítě vytvořené v programu TCS z 61 sekvencí COI eimerií myšic a hrabošovitých hlodavců. Přehled vzorků reprezentujících jednotlivé haplotypy je uveden v tabulce VI v Přílohách.



Obr. 13: Haplotypové sítě vytvořené v programu TCS ze 40 sekvencí ORF470 eimerií myšic a hrabošovitých hlodavců. Přehled vzorků reprezentujících jednotlivé haplotypy je uveden v tabulce VII v Přílohách.

5 DISKUZE

Jedním z cílů mé práce bylo zjištění spektra druhů eimerií, které parazitují u hlodavců v oblasti „kontaktní zóny“. Lokality odchyty hlodavců byly navrženy tak, aby se nacházely v oblasti „kontaktní zóny“ (Obr. 4). Vši *P. serrata*, pro něž je tato zóna zásadní v tom, že se v ní rozdělují na dvě geneticky odlišné linie, parazitují pouze u myšic, tudíž se studie Martinů *et al.* (2020) zabývala jen tímto hostitelem. Na studovaných lokalitách (Obr. 5, Tab. I) jsme však chytali i hrabošovité hlodavce; jelikož je z předchozích studií zabývajících se eimeriemi známo, že některé druhy eimerií mají nižší hostitelskou specifitu a mohou parazitovat u myšic i u hrabošovitých hlodavců (Máková *et al.* 2018, Trefancová *et al.* 2020 submitted), zahrnula jsem do své práce i tyto hostitele, aby byla získaná data kompletní.

Ze všech vzorků trusu, které jsem mikroskopicky vyšetřila, bylo na přítomnost oocyst kokcií pozitivních 125 (prevalence tedy činila přibližně 32 %). Při vyšetření byli zjištěni i jiní paraziti, které jsem zanesla do společné databáze naší laboratoře, nicméně se netýkaly mé práce, a proto jsem s nimi již dále nepracovala. DNA extrakce byla úspěšná u 91 vzorků; ve zbývajících 34 vzorcích byl nízký počet oocyst, nebo izolace opakovaně nefungovala. Pro účely fylogenetických a populačně-genetických analýz jsem se zaměřila na získání sekvencí tří různých genů, a to z důvodu jejich odlišných vlastností (viz Výsledky).

Fylogenetické analýzy odhalily přítomnost pěti druhů eimerií na studovaných lokalitách (*E. apionodes*, *E. coahuliensis*, *E. jerfinica*, *E. kaunensis*, *E. uptoni*). Jedná se o spektrum druhů, které zjistili ve své studii napříč Evropou i Máková *et al.* (2018) a Trefancová *et al.* (2020 submitted). V jejich analýzách se navíc vyskytoval ještě druh *Eimeria alorani*. Ta však byla dosud v Evropě prokázána pouze u myšice temnopásé (*A. agrarius*), která se na námi studovaných lokalitách nevyskytuje (její výskyt nejbližší „kontaktní zóny“ končí v oblasti povodí řeky Ploučnice; Anděra a Beneš 2002). Skutečnost, že jsem ve vzorcích z lokalit v „kontaktní zóně“ *E. alorani* nenašla, je tak v souladu s tímto poznatkem.

Pro rekonstrukci fylogenetických vztahů byly použity dva přístupy, a to ML a BI (viz kapitola 3.8). U stromů získaných oběma přístupy došlo v rámci příslušných genů

k podobnému klastrování druhů/linií/vzorků, nicméně ve stromech získaných bayesovskou analýzou se vyskytuje větší množství polytomí než u ML (Obr. 6-11), což je u analýz eimerií běžným jevem (Mácová *et al.* 2018, Trefancová *et al.* 2020 submitted). Výjimku tvoří BI strom pro gen 18S rRNA (Obr. 11), který rozděluje jednotlivé druhy a linie eimerií v podstatě pouze na dvě velké skupiny, ve kterých jsou taxony zastoupeny v polytomii; o vzájemných vztazích jednotlivých druhů a linií tudíž z tohoto stromu nelze vyčíst téměř nic.

Z obrázků 8 a 9 je patrné, že ORF470 by opravdu mohl být ze všech genů dostupných pro fylogenetické analýzy eimerií nejvhodnější pro studium vnitrodruhové variability, jelikož byl schopen rozpoznat i potenciálně smíšené infekce (tj. koinfekce) v těch vzorcích, které nebylo možné odhalit mikroskopickým vyšetřením z důvodu nálezu nevysporulovaných oocyst. Ve vzorcích, které jsem vyšetřovala v rámci své diplomové práce, se vyskytovaly i smíšené infekce eimerií s kokciemi rodu *Isospora* (např. vzorky CG 30ZL19 a CG 31ZL19, ve fylogenetickém stromu označené šedou barvou; Obr. 8-9). Trefancová *et al.* (2019) prokázali, že isospory nacházející se v trusu hlodavců jsou paraziti ptačích hostitelů, a zde se tedy jedná o pseudoparazitismus. Pro gen ORF470 se mi však nepodařilo získat tolik sekvencí jako pro geny 18S rRNA či COI. Rovněž zastoupení sekvencí eimerií v databázi GenBank je pro tento gen malé, a tak i analyzovaný dataset byl mnohem menší než datasey 18S rRNA nebo COI.

Klastrování sekvencí je u všech šesti analýz (ML 18S rRNA, BI 18S rRNA, ML COI, BI COI, ML ORF470, BI ORF470) podobné, ale přesto s několika odlišnostmi. Druh *E. caviae* z morčete je příbuzný linii *E. apionodes* IV v genech 18S rRNA a ORF470, avšak v ML analýze COI je nejbližnější linii *E. apionodes* I. Druh *E. papillata* infikující rod *Mus* klastruje u genů 18S rRNA a COI spolu s *E. jerfinica*, ale v rámci analýzy ORF470 klastruje blízko druhu *E. nieschulzi*, druhem parazitujícím krys a potkany.

Bayesovská analýza genu 18S rRNA nebyla schopna od sebe odlišit linie *E. apionodes* II, III, IV a *E. kaunensis*, a proto je na Obr. 11 vidět, že klastrují dohromady v jedné velké skupině v polytomii. Zde se sešly dva jevy: (1) gen pro 18S rRNA je málo variabilní, a blízké druhy/linie potom často nebývají rozlišeny, (2) BI analýzy 18S rRNA eimerií často generují rozsáhlé polytomie.

V této práci má největší význam mitochondriální gen COI. U druhů *E. jerfinica*, *E. uptoni*, *E. apionodes* I, III a *E. kaunensis* je zde patrná vnitřní struktura (dělení na podlinie), a proto jsem se u nich zaměřila na hledání nějakého patternu (například souvislost s rozdělením „kontaktní zóny“), který by tuto vnitřní strukturu mohl vysvětlit. Z tabulky IV, ve které jsem vyznačila rozdělení lokalit v rámci „kontaktní zóny“, ze kterých jednotlivé podlinie pocházejí, však není patrná souvislost vnitřní struktury těchto druhů s rozdělením „kontaktní zóny“.

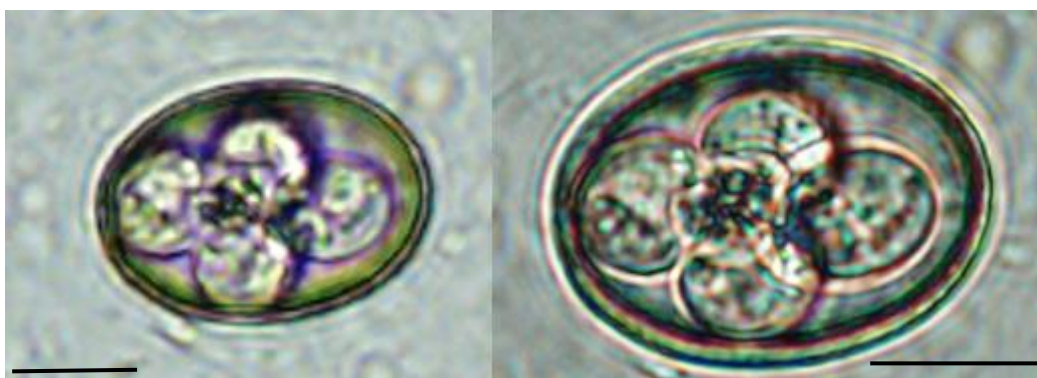
Tab. IV: Druhy/linie kokcií s vnitřní strukturou a jejich výskyt v rámci „kontaktní zóny“.

Druh/linie kokcie	Podlinie	Geografické rozšíření v rámci „kontaktní zóny“
<i>E. apionodes</i> I	podlinie 1	Dolní Žďár, Litvínov, Bělčice, Tymákov, Lužnice, LV
	podlinie 2	Litvínov, Císařský Mlýn, Lužnice
<i>E. apionodes</i> III	podlinie 1	Stružná, Litvínov, České Budějovice
	podlinie 2	Bělčice, Zajíčkov
<i>E. jerfinica</i>	podlinie 1	Dolní Žďár, Vojkovice, Kfely, Císařský Mlýn, Bělčice, Jimramov
	podlinie 2	Litvínov, Císařský Mlýn, Komárov, Plešnice, Volenice, Podmokly
<i>E. kaunensis</i>	podlinie 1	Jáchymov, Lestkov, UK, Litvínov, Tymákov, Ktiš
	podlinie 2	Jáchymov, DE, Litvínov, Císařský Mlýn, Hrhov, České Budějovice
<i>E. uptoni</i>	podlinie 1	Polsko, Slovensko
	podlinie 2	Dolní Žďár, Volenice, Podmokly, Nesyt

(modře-západní oblast, fialově-oblast samotné „kontaktní zóny“, červeně-východní oblast; černě-lokality v hraniční oblasti-tzn. tyto lokality zatím nelze s jistotou zařadit do jedné z uvedených oblastí)

V haplotypové síti pro COI (Obr. 12) si lze povšimnout, že druh *E. uptoni* je tvořen ze dvou samostatných sítí, které odpovídají rozdělení do dvou podlinií u obou fylogenetických stromů, BI i ML (Obr. 6-7). Druh *E. caviae* z morčete se v haplotypové síti zařadil v rámci linie *E. apionodes* III, ke které je blízce příbuzný, což je patrné v bayesovské analýze; avšak v ML analýze je tento druh příbuznější linii *E. apionodes* I. Na rozdíl od fylogenetických analýz BI i ML, kde se vzorky patřící do rodu *Isospora* drží pohromadě v rámci jednoho klastru, se zde jedna sekvence (CG SONET33) přiřadila do linie *E. apionodes* II, což by mohlo naznačovat možnou koinfekci, kterou můžeme pozorovat u linií *E. apionodes* a rodu *Isospora* i v rámci analýz ORF470. I zde v haplotypových analýzách, jako ve fylogenetických analýzách, se vzorek MA 14KLES (červeně označený) nezařadil do žádného z haplotypů eimerií myšic a hrabošovitých hlodavců, ale vytvořil samostatný haplotyp (H34).

Oocysty nalezené ve vzorku MA 14KLES (pocházející z *M. arvalis* z lokality Krásný Les, tj. západní oblast) jsem mikroskopickým vyšetřením porovнала s morfologií oocyst druhů *E. callospermophili* (ze sysla obecného), *E. reedi* (ze severoamerického hlodavce *Perognathus* sp.) a *E. cahirinensis* (z myši bodlinaté), kterým byly sekvence nejvíce fylogeneticky příbuzné (Tab. V). Oocysty vzorku MA 14KLES o velikosti 27,5-29,0 × 21,0-21,5 μm mají pravidelný elipsovité tvar, tenkou, hladkou stěnu bez mikropyle, a dobře viditelné granulární reziduum oocysty. Oocysty obsahují čtyři kulovité až mírně elipsovité sporocysty a reziduum sporocysty (Obr. 14). Oocysty druhu *E. callospermophili* mají na rozdíl od mého vzorku menší velikost, kulatější tvar, a kompaktní reziduum oocysty (Hnida 2016). Oocysty druhu *E. cahirinensis* mají rovněž menší velikost, a reziduum oocysty je někdy tvořeno malými granuly, jindy se skládá z několika vakuol různé velikosti (Kvičerová *et al.* 2007). Oocysty druhu *E. reedi* jsou také menší, a mají drsnou stěnu (Zhao a Duszynski 2001b).



Obr. 14: Fotodokumentace vysporulovaných oocyst ze vzorku MA 14 KLES (měřítko=10 μ m).

Tab. V: Morfologické znaky druhů eimerií fylogeneticky příbuzných eimeriím ze vzorku MA 14KLES.

Druh eimerie	Hostitel	Tvar oocysty	Stěna oocysty	Velikost oocysty (μ m)	Reziduum oocysty
<i>E. cahirinensis</i>	<i>Acomys dimidiatus</i>	kulatý-vejčitý	drsňá	25,6 \times 21,0	+
<i>E. callospermophili</i>	<i>Spermophilus citellus</i>	kulatý-vejčitý	hladká	20,4 \times 17,8	+
<i>E. reedi</i>	<i>Perognathus</i> sp.	vejčitý	hladká	22,6 \times 20,8	+
MA 14KLES	<i>Microtus arvalis</i>	elipsovité	hladká	27,5-29,0 \times 21,0-21,5	+

Oproti genu COI nejsou druhy *E. uptoni* a *E. jerfinica* v haplotypové síti pro ORF470 (Obr. 13) součástí žádné sítě, což je zřejmě z důvodu menšího zastoupení počtu vzorků. Podobně jako v COI tvoří i v této analýze vzorek MA 14KLES (červeně vyznačený) samostatný haplotyp (H16). Stejně jako u fylogenetických analýz BI i ML i zde tvoří *E. uptoni* a *E. jerfinica* samostatné haplotypy. Linie *E. apionodes* II obsahuje tři haplotypy, které odpovídají rozdělení do tří podlinií v obou fylogenetických stromech. U rodu *Isospora* je patrné, že u jednoho vzorku trusu (CG 25) se jednalo o samostatnou infekci pouze touto kokcidií, a u zbylých vzorků se jednalo patrně o koinfekci. Druh

E. falciformis, který infikuje rod *Mus*, se zařadil do haplotypu v rámci smíšené infekce *E. apionodes* III s *E. kaunensis*, a stejně je tomu tak i ve fylogenetických stromech. Podobný jev můžeme pozorovat i u druhu *E. vermiformis*, který klastruje v rámci linie *E. apionodes* IV. Druhy parazitující u rodu *Mus* někdy klastrují mezi druhy infikující rod *Apodemus* (Jarquín-Díaz *et al.* 2020), zřejmě z důvodu podobné morfologie (hladká stěna, absence mikropyle i rezidua oocysty), nebo diskutabilní hostitelské specifity.

Velmi zajímavým jevem, který jsem zjistila z výsledků své práce je patrný trend parazitovanosti, který se v rámci „kontaktní zóny“ zvyšuje od západu na východ, přičemž zastoupení počtu vzorkovaných lokalit v západní oblasti bylo větší (12 lokalit) než v oblasti východní (4 lokality). Podobný trend popisuje v diplomové práci Lazařová (2012), která se zaměřila na parazity v hybridní zóně mezi poddruhy *Mus musculus domesticus* a *Mus musculus musculus*. Vyšší prevalence kokciidií rodu *Eimeria* byla zjištěna na západní straně zóny, avšak tento jev byl do značné míry ovlivněn především hostitelem (vyšší parazitovanost u *M. m. domesticus*). Moje práce však zahrnuje širší spektrum hostitelů, kteří byli zastoupeni ve všech oblastech „kontaktní zóny“, a kteří navíc dle dostupných informací netvoří poddruhy ani vzájemné hybridy, tedy nelze předpokládat, že by faktory ovlivňující tento trend byly stejné jako ve výše zmiňované diplomové práci (tj. čistě jen hostitelský vliv). Dle studií Lilue *et al.* (2013) a Balard *et al.* (2020) by jedním z faktorů ovlivňujících rozdíly v prevalenci mezi západními a východními lokalitami mohly být rozdíly v GTPázách (enzymy důležité z hlediska rezistence vůči patogenům) na straně hostitelů, nebo v rhoptriových kinázách (napomáhají invazi hostitelské buňky) na straně kokciidií.

6 ZÁVĚR

Ve své diplomové práci jsem se zabývala studiem druhového spektra a hostitelské specifity kokcií rodu *Eimeria* parazitujících myšice a hrabošovitě hlodavce v oblasti „kontaktní zóny“ a rekonstrukcí jejich fylogenetických vztahů, a získané výsledky jsem porovnávala s výsledky předchozích studií. S použitím molekulárních metod se mi podařilo získat 53 sekvencí pro malou ribozomální podjednotku 18S rRNA, 61 sekvencí pro mitochondriální gen COI a 40 sekvencí pro plastidový gen ORF470. Pro rekonstrukci fylogenetických vztahů byly použity dva přístupy, a to ML a BI. Rozdělení jednotlivých druhů/linií kokcií ve fylogenetických analýzách bylo ve shodě s výsledky fylogenetických analýz v práci Mácová *et al.* (2018), a toto rozdělení bylo ve fylogenetických stromech dobře podpořené hodnotami bootstrapovými (ML)/posteriorní pravděpodobnosti (BI). Fylogenetické analýzy prokázaly zastoupení pěti druhů eimerií; *E. apionodes*, *E. coahuliensis*, *E. jerfinica*, *E. kaunensis* a *E. uptoni*. U druhů *E. jerfinica*, *E. uptoni*, *E. apionodes* I, III a *E. kaunensis* byla patrná vnitřní struktura (dělení na podlinie), avšak souvislost této vnitřní struktury s rozdělením „kontaktní zóny“ nebyla prokázána. Na rozdíl od předchozích studií (Mácová *et al.* 2018, Trefancová *et al.* 2020 submitted) jsem u hlodavců odchylených v oblasti „kontaktní zóny“ objevila i další - dosud nepopsaný - druh eimerie: vzorek z hraboše polního, který neklastroval v rámci žádného z pěti výše uvedených druhů eimerií, a mikroskopickým vyšetřením bylo patrné, že se od nich liší i morfologicky. Fylogeneticky byl nejpříbuznější druhům *E. callospermophili* ze sysla obecného a *E. reedi* (ze severoamerického hlodavce *Perognathus* sp.). Jedná se o nález dalšího druhu u tohoto spektra hostitelů. Získané výsledky neprokázaly, že by v rámci „kontaktní zóny“ procházející západní částí naší republiky docházelo u kokcií rodu *Eimeria* k populačně-genetické bariéře nebo jinému jevu, jako je tomu v této oblasti například u vší *P. serrata*. Vnitřní strukturu *E. uptoni*, která naznačuje jakýsi proces, je zapotřebí v budoucnu podrobněji prozkoumat.

7 Seznam použitých informačních zdrojů

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

Agosta S, Klemens JA (2008) Ecological fitting by phenotypically flexible genotypes: Implications for species associations, community assembly and evolution. *Ecology Letters* 11: 1123-1134.

Amori G, Hutterer R, Kryštufek B, Yigit N, Mitsain G, Palomo LJ (2016) *Apodemus flavicollis* (errata version published in 2017). The IUCN Red List of Threatened Species: e.T1892A115058023.

Anděra M, Beneš B (2001) Atlas rozšíření savců v České republice IV-Hlodavci (Rodentia)-část 1. Křečkovití (Cricetidae), hrabošovití (Arvicolidae), plchovití (Gliridae). Národní muzeum, Praha.

Anděra M, Beneš B (2002) Atlas rozšíření savců v České republice IV-Hlodavci (Rodentia)-část 2. Myšovití (Muridae), myšivkovití (Zapodidae). Národní muzeum, Praha.

Anděra M, Horáček I (2005) *Poznáváme naše savce*. 2nd edition. Sobotáles, Praha.

Araujo SBL, Braga MP, Brooks DR, Agosta SJ, Hoberg EP, von Hartenthal FW, Boeger WA (2015) Understanding host-switching by ecological fitting. *PLoS ONE* 10.

Balard A, Jarquín-Díaz VH, Jost Jenny, Martinová I, Ďureje L, Piálek J, Macholán M, Goüy de Bellocq J, Baird SJ, Heitlinger E (2020) Intensity of infection with intracellular *Eimeria* spp. And pinworms is reduced in hybrid mice compared to parental subspecies. *Journal of Evolutionary Biology* 33: 435-448.

- Berto BP, McIntosh D, Lopes CWG (2014) Studies on coccidian oocysts (Apicomplexa: Eucoccidiorida). *Brazilian Journal of Veterinary Parasitology* 23: 1-15.
- Bickford D, Lohman DJ, Sodhi NA, Ng PKL, Meier R, Winker K, Ingram KK, Das I (2006) Cryptic species as a window on diversity and conservation. *Trends in Ecology and Evolution* 22: 148-155.
- Blake DP, Worthing K, Jenkins MC (2020) Exploring *Eimeria* genomes to understand population biology: Recent progress and future opportunities. *Genes* 11.
- Box ED, Marchiondo AA, Duszynski DW, Davis CP (1980) Ultrastructure of *Sarcocystis* sporocysts from passerine birds and opossums: Comments on classification of the genus *Isospora*. *The Journal of Parasitology* 66: 68-74.
- Clement M, Posada D, Crandall KA (2000) TCS: a computer program to estimate gene genealogies. *Molecular Ecology* 9: 1657-1660.
- Dungel J (1993) *Savci střední Evropy*. Jota, Brno.
- Duszynski D, Wilber PG (1997) A guideline for the preparation of species descriptions in the Eimeriidae. *Journal of Parasitology* 83: 333-336.
- Filippucci MG, Macholán M, Michaux JR (2002) Genetic variation and evolution in the genus *Apodemus* (Muridae: Rodentia). *Biological Journal of the Linnean Society* 75: 395-419.
- Franzen C, Mueller A, Bialek R, Diehl V (2000) Taxonomic position of the human intestinal protozoan parasite *Isospora belli* based on ribosomal RNA sequences. *Parasitology Research* 86: 669-676.
- Guindon S, Gascuel O (2003) A simple, fast, and accurate algorithm to estimate large phylogenies by maximum likelihood. *Systematic Biology* 52: 696-704.
- Hall TA (1999) BioEdit: a user-friendly biological sequence alignment editor and analysis program for Windows 95/98/NT. *Nucleic Acids Symposium Series* 41: 95-98.
- Hammond DM, Long PL (1973) *The Coccidia: Eimeria, Isospora, Toxoplasma, and related genera*. University Park Press, Baltimore.

- Higgs S, Nowell F (1991) A review of the species of *Eimeria* infecting hosts in the genus *Apodemus*. *Systematic Parasitology* 20: 203-209.
- Hnída J (2016) New host and distribution records of *Eimeria callospermophili*. *Comparative Parasitology* 83: 122-123.
- Huelsenbeck JP, Ronquist F (2001) MRBAYES: Bayesian inference of phylogenetic trees. *Bioinformatics* 17: 754-755.
- Hůrková L, Baker MA, Jirků M, Modrý D (2005) Two new species of *Eimeria* Schneider 1875 (Apicomplexa: Eimeriidae) from the broad-toothed field mouse, *Apodemus mystacinus* Danford and Alston 1877 (Rodentia: Muridae) from Jordan. *Parasitology Research* 97: 33-40.
- Jacob J, Manson P, Barfknecht R, Fredricks T (2014) Common vole (*Microtus arvalis*) ecology and management: implications for risk assessment of plant protection products. *Pest Management Science* 70: 869-878.
- Jarquín-Díaz VH, Balard A, Mácová A, Jost J, Roth von Szepesbéla T, Berktold K, Tank S, Kvičerová J, Heitlinger E (2020) Generalist *Eimeria* species in rodents: multilocus analyses indicate inadequate resolution of established markers. *Ecology and Evolution* 10: 1378-1389.
- Kvičerová J, Hypša V (2013) Host-parasite incongruences in rodent *Eimeria* suggest significant role of adaptation rather than cophylogeny in maintenance of host specificity. *PLoS One* 8.
- Kvičerová J, Mikeš V, Hypša V (2011) Third lineage of rodent eimerians: morphology, phylogeny and re-description of *Eimeria myoxi* (Apicomplexa: Eimeriidae) from *Eliomys quercinus* (Rodentia: Gliridae). *Parasitology* 138: 1217-1223.
- Kvičerová J, Pakandl M, Hypša V (2008) Phylogenetic relationship among *Eimeria* spp. (Apicomplexa, Eimeriidae) infecting rabbits: evolutionary significance of biological and morphological features. *Parasitology* 135: 443-452.

- Kvičerová J, Ptáčková P, Modrý D (2007) Endogenous development, pathogenicity and host specificity of *Eimeria cahirinensis* Couch, Blaustein, Duszynski, Shenbrot and Nevo, 1997 (Apicomplexa: Eimeriidae) from *Acomys dimidiatus* (Cretzschmar 1826) (Rodentia: Muridae) from the Near East. *Parasitology Research* 100: 219-226.
- Lazařová T (2012) Paraziti gastrointestinálního traktu myši domácí v hybridní zóně *Mus musculus musculus*, *Mus musculus domesticus*. Diplomová práce. Ústav patologické morfologie a parazitologie, VFU Brno.
- Lefort V, Longueville JE, Gascuel O (2017) SMS: Smart Model Selection in PhyML. *Molecular Biology and Evolution* 34: 2422-2424. Dostupné [online] z <http://www.atgc-montpellier.fr/phyml/> [cit. 2020-4-12].
- Levine ND, Ivens V (1990) The coccidian parasites of rodents. CRC Press, Boca Raton, Florida.
- Lewis DC, Ball SJ (1983) Species of *Eimeria* of small wild rodents from the British Isles, with descriptions of two new species. *Systematic Parasitology* 5: 259-270.
- Lilue J, Müller UB, Steinfeldt T, Howard JC (2013): Reciprocal virulence and resistance polymorphism in the relationship between *Toxoplasma gondii* and the house mouse. *eLife* 2.
- Long PL (1982) The biology of the coccidia. University Park Press, Baltimore.
- Máková A, Hoblíková A, Hypša V, Stanko M, Martinů J, Kvičerová J (2018) Mysteries of host switching: Diversification and host specificity in rodent-coccidia associations. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 127: 179-189.
- Martinů J, Hypša V, Štefka J (2018) Host specificity driving genetic structure and diversity in ectoparasite populations: Coevolutionary patterns in *Apodemus* mice and their lice. *Ecology and Evolution* 8: 10008-10022.
- Martinů J, Štefka J, Poosakkannu A, Hypša V (2020) “Parasite turnover zone” at secondary contact: A new pattern in host-parasite population genetics. *Molecular Ecology*. DOI: 10.1111/mec.15653

- Matsubayashi M, Takami K, Niichiro A, Kimata I, Tani H, Sasai K, Baba E (2005) Molecular characterization of crane coccidia, *Eimeria gruis* and *E. reichenowi*, found in feces of migratory cranes. *Parasitology Research* 97: 80-83.
- Mazé-Guilmo E, Blanchet S, McCoy KD, Loot G (2016) Host dispersal as the driver of parasite genetic structure: a paradigm lost?. *Ecology Letters* 19: 336-347.
- Michaux JR, Kinet S, Filippucci MG, Libois R, Besnard A, Catzefflis F (2001) Molecular identification of three sympatric species of wood mice (*Apodemus sylvaticus*, *A. flavicollis*, *A. alpicola*) in western Europe (Muridae: Rodentia). *Molecular Ecology Notes* 1: 260-263.
- Michaux JR, Libois R, Filippucci MG (2005) So close and so different: Comparative phylogeography of two small mammal species, the Yellow-necked fieldmouse (*Apodemus flavicollis*) and the Woodmouse (*Apodemus sylvaticus*) in the Western Palearctic region. *Heredity* 94: 52-63.
- Michaux JR, Libois R, Paradis E, Filippucci MG (2004) Phylogeographic history of the yellow-necked fieldmouse (*Apodemus flavicollis*) in Europe and in the Near and Middle East. *Molecular Phylogenetics and Evolution* 32: 788-798.
- Michaux JR, Libois R, Ramalhinho MG, Maurois C (1998) On the mtDNA restriction patterns variation of the Iberian wood mouse (*Apodemus sylvaticus*). Comparison with other west Mediterranean populations. *Hereditas* 129: 187-194.
- Modrý D, Petrželková KJ, Kalousová B, Hasegawa H (2015) Parasites of African Great Apes, Atlas of Coproscopic Diagnostics. 1st edition HPI-Lab, UVPS Brno.
- Morrison DA, Bornstein S, Thebo P, Wernery U, Kinne J, Mattsson JG (2004) The current status of the small subunit rRNA phylogeny of the coccidia (Sporozoa). *International Journal for Parasitology* 34: 501-514.
- Mouliá C, Aussel JP, Bonhomme F, Boursot P, Nielsen JT, Renaud F (1991) Wormy mice in a hybrid zone: A genetic control of susceptibility to parasite infection. *Journal of Evolutionary Biology* 4: 679-687.

- Nadler SA, Hafner MS, Hafner JC, Hafner D (1990) Genetic differentiation among chewing louse populations (Mallophaga: Trichodectidae) in a pocket gopher contact zone (Rodentia: Geomyidae). *Evolution* 44: 942-951.
- Nieberding C, Morand S, Libois R, Michaux JR (2004) A parasite reveals cryptic phylogeographic history of its host. *Proceedings of Royal Society of London B* 271: 2559-2568.
- Norton CC, Joyner LP (1978) The appearance of bisporocytic oocysts of *Eimeria maxima* in drug-treated chicks. *Parasitology* 77: 243-248.
- Ogedegbe JD, Hanner RH, Barta JR (2011) DNA barcoding identifies *Eimeria* species and contributes to the phylogenetics of coccidia parasites (Eimeriorina, Apicomplexa, Alveolata). *International Journal for Parasitology* 41: 843-850.
- Ogedengbe JD, Ogedengbe ME, Hafeez MA, Barta JR (2015) Molecular phylogenetics of eimeriid coccidia (Eimeriidae, Eimeriorina, Apicomplexa, Alveolata): A preliminary multi-gene and multi-genome approach. *Parasitology Research* 114: 4149-4160.
- Page RDM 1996: TREEVIEW: an application to display phylogenetic trees on personal computers. *Computer Applications in the Biosciences* 12: 357-358.
- Pellérdy LP (1974) *Coccidia and Coccidiosis*. Akademiai Kiadó, Budapest.
- Poulin R, Krasnov BR, Morand S (2006) Patterns of host specificity in parasites exploiting small mammals. In: Morand S, Krasnov BR, Poulin R (eds) *Micromammals and Macroparasites*. Springer, Tokyo.
- Reed DL, Smith VS, Hammond SL, Rogers AR, Clayton DH (2004) Genetic analysis of lice supports direct contact between modern and archaic humans. *PLoS Biology* 2.
- Relman DA, Schmidt TM, Gajadhar A, Sogin M, Cross, Yoder K, Sethabutr O, Echeverria P (1996) Molecular phylogenetic analysis of *Cyclospora*, the human intestinal pathogen, suggest that it is closely related to *Eimeria* species. *The Journal of Infectious Diseases* 173: 440-445.

Schlitter D, van der Straeten E, Amori G, Hutterer R, Kryštufek B, Yigit N, Mitsain G (2016) *Apodemus sylvaticus* (errata version published in 2017). The IUCN Red List of Threatened Species: e.T1904A115059104.

Schwarz RS, Jenkins MC, Klopp S, Miska KB (2009) Genomic analysis of *Eimeria* spp. populations in relation to performance levels of broiler chicken farms in Arkansas and North Carolina. *Journal of Parasitology* 95: 871-880.

Sozio G, Curini V, Pascucci I, Cammà C, Di Domenico M (2018) A new fast real-time PCR method for the identification of three sibling *Apodemus* species (*A. sylvaticus*, *A. flavicollis*, and *A. alpicola*) in Italy. *Ecology and Evolution* 8: 4807-4814.

Štefka J, Hypša V (2008) Host specificity and genealogy of the louse *Polyplax serrata* on field mice, *Apodemus* species: A case of parasite duplication or colonisation? *International Journal of Parasitology* 38: 731-741.

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

Thompson JD, Higgins DG, Gibson TJ (1994) CLUSTAL W: improving the sensitivity of progressive multiple sequence alignment through sequence weighting, position-specific gap penalties and weight matrix choice. *Nucleic Acids Research* 22: 4673-4680.

Trefancová A, Kvičerová J, Mácová A, Stanko M, Hofmannová L, Hypša V (2020) Switch, disperse, repeat: host specificity is highly flexible in rodent-associated *Eimeria*. *International Journal for Parasitology*. Submitted.

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

Venkateswara Rao P, Raman M, Gomathinayagam S (2015) Sporulation dynamics of poultry *Eimeria* oocysts in Chennai. *Journal of Parasitic Diseases* 39: 689-692.

Wells K, Clark NJ (2019) Host specificity in variable environments. *Trends in Parasitology* 35.

Wolff JO, Sharman PW (2007) Rodent societies: An ecological and evolutionary perspective. The University of Chicago Press, Chicago.

Zajac AM, Conboy GA (2006) Veterinary clinical parasitology. 7th edition. Blackwell Publishing, Iowa.

Zhao X, Duszynski DW (2001a) Molecular phylogenies suggest the oocyst residuum can be used to distinguish two independent lineages of *Eimeria* spp in rodents. Parasitology Research 87: 638-643.

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

Internetové zdroje

DNASTAR Inc. [online]. [2020-8-10]. Dostupné z: <https://www.dnastar.com/t-seqmanpro.aspx>.

DNASTAR Inc. [online]. [2020-8-10]. Dostupné z: <https://www.dnastar.com/t-editseq.aspx>.

NCBI GenBank [online]. [2020-8-17]. Dostupné z: <https://www.ncbi.nlm.nih.gov/genbank/>.

Thermo Fisher Scientific. Applied Biosystems [online]. [2020-9-15]. Dostupné z: <https://products.appliedbiosystems.com/ab/en/US/adirect/ab?cmd=catNavigate2&catID=660058&tab=Overview>.

PŘÍLOHY

Tab. VI: Přehled haplotypů získaných analýzou COI.

Číslo haplotypu	Vzorky v příslušném haplotypu	Druh/linie kokcidie	Hostitel	Původ vzorků
H1	<p><i>E. vermiformis</i>, AF189ML, AF5J, AFSONET84, AF3Rpt19, AF11Rpt19, AFSONET13, AFSONET20, AF4Ja19, AFSONET40, AF17ML, AF29ZL19, AF20ML, AFSONET59, AF4x1, AF46CZ18, AF28CZ1, AF14CZ1, AF6CZ15, AF4CZ15, AF1CZ10, AF29CZ1, AS184, AF4VM, AF8CZ1, AF6x3, AF5pau, AF5x8, AF8CZ7, AF31CZ22, AF15CZ8, AF47CZ8, AF9CZ8, AF2CZ10, AF175, AFSB5, AFSB3, AF166, AF2CZ19, AF1CZ3</p>	<p><i>apionodes</i> IV</p>	<p><i>A. flavicollis</i></p>	<p>Litvínov, Jáchymov, Bělčice, Podmokly, Císařský Mlýn, Brložec, Křivoklát, Vykmanov, Třebíč, České Budějovice, Stružná, Lestkov, Plešnice, Ktiš, Zajíčkov, Police nad Metují, Sedloňov, Boršov nad Vltavou, Pastýřské Kameny, Bystřice pod Lopeníkem</p>

H2	AA21655, AA21668, AA81PL54, AANJ77, AA10HR67	<i>alorani</i>	<i>A. agrarius</i>	Rozhanovce, Gierzwald, Pusté Jakartice, Lupoglav
H3	AF122ML, AF10CZ7, AF8x3, AF47CZ9, AFSB11, AF1JCZ2	<i>kaunensis</i>	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, Ktiš, Lestkov, Tymákov, Jáchymov
H4	MA23469, MA2CZ16		<i>M. arvalis</i>	Hrhov, České Budějovice
H5	CGSONET37, CG137, CG7JA		<i>C. glareolus</i>	Císařský Mlýn
H6	CG70DE46		<i>C. glareolus</i>	Sollichau
H7	MA2Rpt19, MA7Zd19, MARpt58, MA120, MA101, MA98	<i>apionodes I</i>	<i>M. arvalis</i>	Bělčice, Dolní Žďár, Tymákov
H8	MAML3		<i>M. arvalis</i>	Litvínov
H9	MAG2CZ4		<i>M. agrestis</i>	Litvínov
H10	MAG2LV80		<i>M. agrestis</i>	Kikuri
H11	CG5CZ17, CGPPL2, CG5/15, CG130		<i>C. glareolus</i>	Lužnice, Litvínov

H12	CGSONET39, CG44, CG184, CGCJ1, CG112, CG116		<i>C. glareolus</i>	Císařský Mlýn, Litvínov, Tymákov
H13	AF32ZL19, AFSONET78, AF12J, APO19Ja1, AFSONET5, APOSNET18, AF2Ja19, AFRpt28, AFSONET26, CGSONET33, AFRpt43, AF1CZ6, AF12CZ1, AANJ49, AF11CZ12, AF17CZ8, AF25CZ8, AFR196, AF9CZ3, AF16CZ8, AFOBI173, AF2CZ3, AF6CZ8	<i>apionodes II</i>	<i>A. flavicollis</i> , <i>A. agrarius</i> , <i>C. glareolus</i>	Brložec, Jáchymov, Volenice, Podmokly, Císařský Mlýn, Komárov, Litvínov, Pusté Jakartice, Plešnice, Stružná, Vykmanov, Solany, Chotěborky
H14	CG12CZ3, CG2614RU, CG2x18, CG23669, CG39D	<i>coahuliensis</i>	<i>C. glareolus</i>	Vykmanov, Tymákov, Pskov, Košice, Strehla
H15	<i>E. caviae</i>	<i>apionodes III</i>	<i>Cavia porcellus</i>	-
H16	<i>E. falciformis</i> , MAstr26, CG106, MA6CZ16, CG82		<i>C. glareolus</i>	Stružná, Litvínov, České Budějovice
H17	AF21Rpt19, AS45CZ18		<i>A. flavicollis</i> , <i>A. sylvaticus</i>	Bělčice, Zajíčkov
H18	AFRpt35, AFSONET17, AF30VOJ2, AF5CZ28		<i>A. flavicollis</i>	Vojkovice, Volenice, Podmokly

H19	AF16Zd19	<i>uptoni</i>	<i>A. flavicollis</i>	Dolní Žďár
H20	<i>E. uptoni</i>		<i>A. agrarius</i>	
H21	AF97PL54		<i>A. flavicollis</i>	Gierzwald
H22	AA21439	<i>jerfinica</i>	<i>A. agrarius</i>	Košice
H23	AFSONET87, AFSONET8, AFRpt29, AFRpt45, APORpt46, AFSONET45, AFSONET49, AFLN12, AANJ23, AANJ70, AF59CZ8, AS42CZ8		<i>A. flavicollis</i> , <i>A. agrarius</i> , <i>A. sylvaticus</i>	Komárov, Císařský Mlýn, Podmokly, Volenice, Bartošovice, Pusté Jakartice, Plešnice, Litvínov
H24	AS53Ple, AF11, AF29VOJ, AF7Rpt19, AF18Zd19, AF19Zd19, AF2CZ6, AF17CZ7, AFSONET57, AF97CZ27, AF19CZ3, AF12CZ7, AS69CZ24, AF36CZ20		<i>A. sylvaticus</i> , <i>A. flavicollis</i>	Vojkovice, Dolní Žďár, Bělčice, Císařský Mlýn, Plešnice, Solany, Lestkov, Vykmanov, Rajnochovice, Jimramov, Cvilín
H25	<i>E. myoxi</i>		<i>Eliomys quercinus</i>	-
H26	MASONET82, CG25, AF11Zd19		<i>C. glareolus</i>	Kfely, Dolní Žďár, Komárov

H27	AF3ZL19	<i>Isospora</i> spp.	<i>A. flavicollis</i>	Zbraslav
H28	AF7KLES		<i>A. flavicollis</i>	Krásný Les
H29	CG31ZL19		<i>C. glareolus</i>	Brložec
H30	CG6Rpt19		<i>C. glareolus</i>	Bělčice
H31	CG30ZL19		<i>C. glareolus</i>	Brložec
H32	<i>E. callospermophili</i>	-	<i>Spermophilus citellus</i>	-
H33	<i>E. ferrisi</i>	-	<i>Mus musculus</i>	-
H34	MA14KLES	-	<i>M. arvalis</i>	Krásný Les

(modře-západní oblast, fialově-oblast samotné „kontaktní zóny“, červeně-východní oblast; černě-lokality v hraniční oblasti-tzn. tyto lokality zatím nelze s jistotou zařadit do jedné z uvedených oblastí)

Tab. VII: Přehled haplotypů získaných analýzou ORF470.

Číslo haplotypu	Vzorky v příslušném haplotypu	Druh/linie kokcidie	Hostitel	Původ vzorků
H1	AF18Voj01, AF6V, AFSONET59, AF4Ja19, AF20ML, AF189ML, AF17ML, AFSONET40, AFSONET13	<i>apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Vojkovice, Jáchymov, Litvínov, Podmokly, Císařský Mlýn
H2	<i>E. vermiformis</i> , AFSONET84		<i>Mus musculus</i> , <i>A. flavicollis</i>	Komárov
H3	AF29ZL19		<i>A. flavicollis</i>	Brložec
H4	AF3Rpt19		<i>A. flavicollis</i>	Bělčice
H5	<i>E. nieschulzi</i>	-	<i>Rattus</i> sp.	-
H6	AF122ML	<i>kaunensis</i>	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov
H7	AFSONET26, AFSONET78		<i>A. flavicollis</i>	Císařský Mlýn, Komárov
H8	AF3V	<i>apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Vojkovice
H9	<i>E. apionodes</i> , AF19Ja1, AF12V, AFSONET5, AF12J, AF2Ja19, AFSONET18, AFRpt43, AFRpt28		<i>A. flavicollis</i>	Jáchymov, Vojkovice, Podmokly, Volenice
H10	CG30ZL19, MASONET88, CGSONET39, CG22, MARpt58, CG31ZL19, MA2Rpt19	<i>apionodes</i> I + <i>Isospora</i> spp.	<i>C. glareolus</i> , <i>M. arvalis</i>	Brložec, Bělčice, Císařský Mlýn, Komárov, Kfely
H11	<i>E. falciformis</i> , <i>E. kaunensis</i> , AF7J, 21Rpt, 12Rpt, SONET3	<i>apionodes</i> III + <i>kaunensis</i>	<i>A. flavicollis</i>	Jáchymov, Bělčice, Podmokly
H12	MA20M	-	<i>M. arvalis</i>	Mořičov

H13	<i>E. burdai</i>	-	<i>Heliophobius argenteocinereus</i>	-
H14	<i>E. sevilletensis</i>	-	<i>Onychomys</i> sp.	-
H15	<i>E. alorani</i>	-	<i>A. agrarius</i>	-
H16	MA14KLES	-	<i>M. arvalis</i>	Krásný Les
H17	CG25	<i>Isospora</i> sp.	<i>C. glareolus</i>	Kfely
H18	AFSONET17	<i>uptoni</i>	<i>A. flavicollis</i>	Podmokly
H19	AF18Zd19	<i>jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Dolní Žďár
H20	<i>E. ferrisi</i>	-	<i>Mus musculus</i>	-
H21	<i>E. separata</i>	-	<i>Rattus</i> sp.	-
H22	<i>E. caviae</i>	-	<i>Cavia porcellus</i>	-
H23	<i>E. flavescens</i>	-	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	-
H24	<i>E. papillata</i>	-	<i>Mus musculus</i>	-
H25	<i>E. myoxi</i>	-	<i>Eliomys quercinus</i>	-
H26	<i>E. langerbarteli</i>	-	<i>Reithrodontomys</i> sp.	-
H27	<i>E. albigulae</i>	-	<i>Neotoma</i> sp.	-
H28	<i>E. onychomysis</i>	-	<i>Onychomys</i> sp.	-
H29	<i>E. arizonensis</i>	-	<i>Peromyscus</i> sp.	-
H30	<i>E. reedi</i>	-	<i>Perognathus</i> sp.	-

(modře-západní oblast, fialově-oblast samotné „kontaktní zóny“, červeně-východní oblast; černě-lokality v hraniční oblasti-tzn. tyto lokality zatím nelze s jistotou zařadit do jedné z uvedených oblastí)

Tab. VIII: Přehled sekvencí použitých v analýzách COI.

Accession number	Kód vzorku	Druh/linie kokcidie	Hostitel	Lokalita
KU215486	AA21655	<i>E. alorani</i>	<i>A. agrarius</i>	Rozhanovce, SK
KU215488	AA21668	<i>E. alorani</i>	<i>A. agrarius</i>	Rozhanovce, SK
KU215499	AA81PL54	<i>E. alorani</i>	<i>A. agrarius</i>	Gierzwald, PL
KU215507	AA10HR67	<i>E. alorani</i>	<i>A. agrarius</i>	Lupoglav, HR
KU215521	AANJ77	<i>E. alorani</i>	<i>A. agrarius</i>	Pusté Jakartice, okr. Opava
KU215451	CG5CZ17	<i>E. apionodes</i> I	<i>C. glareolus</i>	Lužnice, okr. Jindřichův Hradec
KU215460	MA98	<i>E. apionodes</i> I	<i>M. arvalis</i>	Tymákov, okr. Plzeň-město
KU215462	MA120	<i>E. apionodes</i> I	<i>M. arvalis</i>	Tymákov, okr. Plzeň-město
KU215471	CGPPL2	<i>E. apionodes</i> I	<i>C. glareolus</i>	Litvínov, okr. Most
MH698546	CGCJ1	<i>E. apionodes</i> I	<i>C. glareolus</i>	Litvínov, okr. Most
MT934375	MA101	<i>E. apionodes</i> I	<i>M. arvalis</i>	Tymákov, okr. Plzeň-město
MT934378	MAG2LV80	<i>E. apionodes</i> I	<i>M. agrestis</i>	Kikuri, LV
MT934379	MAML3	<i>E. apionodes</i> I	<i>M. arvalis</i>	Litvínov, okr. Most
MT934380	MAG2CZ4	<i>E. apionodes</i> I	<i>M. agrestis</i>	Litvínov, okr. Most
MT934382	CG44	<i>E. apionodes</i> I	<i>C. glareolus</i>	Lužnice, okr. Jindřichův Hradec
MT934383	CG112	<i>E. apionodes</i> I	<i>C. glareolus</i>	Litvínov, okr. Most
MT934384	CG130	<i>E. apionodes</i> I	<i>C. glareolus</i>	Litvínov, okr. Most
MT934385	CG184	<i>E. apionodes</i> I	<i>C. glareolus</i>	Litvínov, okr. Most
MT934388	CG5/15	<i>E. apionodes</i> I	<i>C. glareolus</i>	Lužnice, okr. Jindřichův Hradec
n. a.	MA2Rpt19	<i>E. apionodes</i> I	<i>M. arvalis</i>	Bělčice, okr. Strakonice
n. a.	MARpt58	<i>E. apionodes</i> I	<i>M. arvalis</i>	Bělčice, okr. Strakonice
n. a.	MA7Zd19	<i>E. apionodes</i> I	<i>M. arvalis</i>	Dolní Žďár, okr. Karlovy Vary
n. a.	CGSONET39	<i>E. apionodes</i> I	<i>C. glareolus</i>	Císařský Mlýn, okr. Plzeň-sever
KU215519	AANJ49	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. agrarius</i>	Pusté Jakartice, okr. Opava
KU215932	AF1CZ6	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Solany, okr. Litoměřice

KU215938	AF2CZ3	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Vykmanov, okr. Karlovy Vary
KU215949	AF9CZ3	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Vykmanov, okr. Karlovy Vary
KU215951	AF11CZ12	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Chotěborky, okr. Trutnov
KU215952	AF12CZ1	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Stružná, okr. Karlovy Vary
KU215969	AFOBI173	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most
KU215970	AFR196	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most
KU215972	AF6CZ8	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Plešnice, okr. Plzeň-sever
KU215975	AF16CZ8	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Plešnice, okr. Plzeň-sever
KU215976	AF17CZ8	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Plešnice, okr. Plzeň-sever
KU215977	AF25CZ8	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Plešnice, okr. Plzeň-sever
n. a.	APO19Ja1	<i>E. apionodes</i> II	<i>Apodemus</i> sp.	Jáchymov, okr. Karlovy Vary
n. a.	AFRpt43	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Volenice, okr. Příbram
n. a.	AFRpt28	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Volenice, okr. Příbram
n. a.	AF2Ja19	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Jáchymov, okr. Karlovy Vary
n. a.	AFSONET26	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Císařský Mlýn, okr. Plzeň-sever
n. a.	AF12J	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Jáchymov, okr. Karlovy Vary
n. a.	AFSONET5	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Podmokly, okr. Plzeň-sever
n. a.	APOSONET18	<i>E. apionodes</i> II	<i>Apodemus</i> sp.	Podmokly, okr. Plzeň-sever
n. a.	AFSONET78	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Komárov, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF32ZL19	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Brložec, okr. Karlovy Vary
KU215468	MA6CZ16	<i>E. apionodes</i> III	<i>M. arvalis</i>	České Budějovice
KU215524	AS45CZ18	<i>E. apionodes</i> III	<i>A. sylvaticus</i>	Zajčkov, okr. Pelhřimov
MT934390	CG82	<i>E. apionodes</i> III	<i>C. glareolus</i>	Litvínov, okr. Most
MT934391	MAStr26	<i>E. apionodes</i> III	<i>M. arvalis</i>	Stružná, okr. Karlovy Vary
MT934392	CG106	<i>E. apionodes</i> III	<i>C. glareolus</i>	Litvínov, okr. Most
n. a.	AF21Rpt19	<i>E. apionodes</i> III	<i>A. flavicollis</i>	Bělčice, okr. Strakonice
KU215527	AS184	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. sylvaticus</i>	Bystřice pod Lopeníkem
KU215933	AF1CZ10	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Křivoklát, okr. Rakovník

KU215934	AF1CZ3	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Vykmanov, okr. Karlovy Vary
KU215936	AF2CZ10	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Křivoklát, okr. Rakovník
KU215937	AF2CZ19	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Třebíč
KU215940	AF4CZ15	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Boršov nad Vltavou, okr. České Budějovice
KU215941	AF4VM	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Pastýřské kameny, okr. Kladno
KU215944	AF5pau	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	České Budějovice
KU215946	AF6CZ15	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Boršov nad Vltavou, okr. České Budějovice
KU215947	AF8CZ7	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Lestkov, okr. Tachov
KU215948	AF8CZ1	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Stružná, okr. Karlovy Vary
KU215953	AF14CZ1	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Stružná, okr. Karlovy Vary
KU215954	AF15CZ7	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Lestkov, okr. Tachov
KU215957	AF28CZ1	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Stružná, okr. Karlovy Vary
KU215958	AF29CZ1	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Stružná, okr. Karlovy Vary
KU215959	AF31CZ22	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Sedloňov, okr. Rychnov nad Kněžnou
KU215961	AF46CZ18	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Zajčkov, okr. Pelhřimov
KU215964	AF166	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Police nad Metují, okr. Náchod
KU215966	AFSB3	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most
KU215967	AFSB5	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most
KU215974	AF15CZ8	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Plešnice, okr. Plzeň-sever
KU215978	AF9CZ8	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Plešnice, okr. Plzeň-sever
KU215981	AF4x1	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Ktiš, SK
KU215982	AF5x8	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Ktiš, SK
KU215983	AF6x3	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Ktiš, SK
n. a.	AF189ML	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most
n. a.	AFSONET84	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Komárov, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF4Ja19	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Jáchymov, okr. Karlovy Vary

n. a.	AFSONET40	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Císařský Mlýn, okr. Plzeň-sever
n. a.	AF3Rpt19	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Bělčice, okr. Strakonice
n. a.	AF5J	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Jáchymov, okr. Karlovy Vary
n. a.	AFSONET59	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Císařský Mlýn, okr. Plzeň-sever
n. a.	AF29ZL19	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Brložec, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF20ML	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most
n. a.	AF17ML	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most
n. a.	AFSONET20	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Podmokly, okr. Plzeň-sever
n. a.	AFSONET13	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Podmokly, okr. Plzeň-sever
n. a.	AF11Rpt19	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Bělčice, okr. Strakonice
KU215450	CG2614RU	<i>E. coahuliensis</i>	<i>C. glareolus</i>	Pskov, RU
MT934395	CG12CZ3	<i>E. coahuliensis</i>	<i>C. glareolus</i>	Vykmanov, okr. Karlovy Vary
MT934396	CG2x18	<i>E. coahuliensis</i>	<i>C. glareolus</i>	Tymákov, okr. Plzeň-město
MT934398	CG23669	<i>E. coahuliensis</i>	<i>C. glareolus</i>	Košice, SK
MT934399	CG39D	<i>E. coahuliensis</i>	<i>C. glareolus</i>	Strehla, DE
KU215480	AA21439	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. agrarius</i>	Rozhanovce, SK
KU215518	AANJ23	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. agrarius</i>	Bartošovice, okr. Nový Jičín
KU215520	AANJ70	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. agrarius</i>	Pusté Jakartice, okr. Opava
KU215522	AF12CZ7	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Lestkov, okr. Tachov
KU215523	AS42CZ8	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. sylvaticus</i>	Plešnice, okr. Plzeň-sever
KU215525	AS53Ple	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. sylvaticus</i>	Plešnice, okr. Plzeň-sever
KU215526	AS69CZ24	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. sylvaticus</i>	Cvilín, okr. Bruntál
KU215935	AF2CZ6	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Solany, okr. Litoměřice
KU215955	AF17CZ7	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Lestkov, okr. Tachov
KU215956	AF19CZ3	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Vykmanov, okr. Karlovy Vary
KU215960	AF36CZ20	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Jimramov, okr. Žďár nad Sázavou
KU215963	AF97CZ27	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Rajnochovice, okr. Kroměříž
KU215971	AFLN12	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most

KU215979	AF59CZ8	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Plešnice, okr. Plzeň-sever
n. a.	AF19Zd19	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Dolní Žďár, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF11	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Kfely, okr. Karlovy Vary
n. a.	AFSONET57	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Císařský Mlýn, okr. Plzeň-sever
n. a.	AF7Rpt19	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Bělčice, okr. Strakonice
n. a.	AF29VOJ	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Vojkovice, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF18Zd19	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Dolní Žďár, okr. Karlovy Vary
n. a.	APORpt46	<i>E. jerfinica</i>	<i>Apodemus</i> sp.	Volenice, okr. Příbram
n. a.	AFSONET49	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Císařský Mlýn, okr. Plzeň-sever
n. a.	AFSONET8	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Podmokly, okr. Plzeň-sever
n. a.	AFSONET87	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Komárov, okr. Karlovy Vary
n. a.	AFRpt45	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Volenice, okr. Příbram
n. a.	AFRpt29	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Volenice, okr. Příbram
n. a.	AFSONET45	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Císařský Mlýn, okr. Plzeň-sever
KU215453	MA2CZ16	<i>E. kaunensis</i>	<i>M. arvalis</i>	České Budějovice
KU215454	CG7JA	<i>E. kaunensis</i>	<i>C. glareolus</i>	Jáchymov, okr. Karlovy Vary
KU215536	AS0853	<i>E. kaunensis</i>	<i>A. sylvaticus</i>	Ashford, UK
KU215931	AF1JCZ2	<i>E. kaunensis</i>	<i>A. flavicollis</i>	Jáchymov, okr. Karlovy Vary
KU215950	AF10CZ7	<i>E. kaunensis</i>	<i>A. flavicollis</i>	Lestkov, okr. Tachov
KU215962	AF47CZ9	<i>E. kaunensis</i>	<i>A. flavicollis</i>	Tymákov, okr. Plzeň-město
KU215968	AFSB11	<i>E. kaunensis</i>	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most
KU215984	AF8x3	<i>E. kaunensis</i>	<i>A. flavicollis</i>	Ktiš, SK
MH698543	MA23469	<i>E. kaunensis</i>	<i>M. arvalis</i>	Hrhov, SK
MT934370	CG137	<i>E. kaunensis</i>	<i>C. glareolus</i>	Litvínov, okr. Most
MT934373	CG70DE46	<i>E. kaunensis</i>	<i>C. glareolus</i>	Sollichau, DE
n. a.	AF122ML	<i>E. kaunensis</i>	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most
n. a.	CGSONET37	<i>E. kaunensis</i>	<i>C. glareolus</i>	Císařský Mlýn, okr. Plzeň-sever
KU215942	AF5CZ28	<i>E. uptoni</i>	<i>A. flavicollis</i>	Nesyt, okr. Břeclav

KU216004	AF97PL54	<i>E. uptoni</i>	<i>A. flavicollis</i>	Gierzwald, PL
n. a.	AF16Zd19	<i>E. uptoni</i>	<i>A. flavicollis</i>	Dolní Žďár, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF30VOJ2	<i>E. uptoni</i>	<i>A. flavicollis</i>	Vojkovice, okr. Karlovy Vary
n. a.	AFRpt35	<i>E. uptoni</i>	<i>A. flavicollis</i>	Volenice, okr. Příbram
n. a.	AFSONET17	<i>E. uptoni</i>	<i>A. flavicollis</i>	Podmokly, okr. Plzeň-sever
n. a.	AF7KLES	<i>Isospora</i> sp.	<i>A. flavicollis</i>	Krásný Les, okr. Karlovy Vary
n. a.	CG31ZL19	<i>Isospora</i> sp.	<i>C. glareolus</i>	Brložec, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF3ZL19	<i>Isospora</i> sp.	<i>A. flavicollis</i>	Brložec, okr. Karlovy Vary
n. a.	CG30ZL19	<i>Isospora</i> sp.	<i>C. glareolus</i>	Brložec, okr. Karlovy Vary
n. a.	CG6Rpt19	<i>Isospora</i> sp.	<i>C. glareolus</i>	Bělčice, okr. Strakonice
n. a.	CGSONET33	<i>Isospora</i> sp.	<i>C. glareolus</i>	Císařský Mlýn, okr. Plzeň-sever
n. a.	CG25	<i>Isospora</i> sp.	<i>C. glareolus</i>	Kfely, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF11Zd19	<i>Isospora</i> sp.	<i>A. flavicollis</i>	Dolní Žďár, okr. Karlovy Vary
n. a.	MASONET82	<i>Isospora</i> sp.	<i>M. arvalis</i>	Komárov, okr. Karlovy Vary
n. a.	MA14KLES	-	<i>M. arvalis</i>	Krásný Les, okr. Karlovy Vary
KC346360	-	<i>Eimeria adenoeides</i>	<i>Meleagris</i> sp.	Kanada
KT184373	-	<i>Eimeria ahsata</i>	<i>Ovis aries</i>	Kanada
MK631867	-	<i>Eimeria alorani</i>	<i>Apodemus agrarius</i>	Slovensko
MK631868	-	<i>Eimeria apionodes</i>	<i>Apodemus flavicollis</i>	Francie
KT184372	-	<i>Eimeria bovis</i>	<i>Bos taurus</i>	Kanada
JQ993709	-	<i>Eimeria burdai</i>	<i>Heliophobius argenteocinereus</i>	Česká republika
JQ993686	-	<i>Eimeria cahirinensis</i>	<i>Acomys dimidiatus</i>	Jordánsko
JQ993688	-	<i>Eimeria callospermophili</i>	<i>Spermophilus citellus</i>	Česká republika
JQ993689	-	<i>Eimeria caviae</i>	<i>Cavia porcellus</i>	Česká republika
FJ236433	-	<i>Eimeria</i> cf. <i>mivati</i>	<i>Gallus gallus domesticus</i> (broiler)	USA
JQ993690	-	<i>Eimeria coecicola</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Česká republika
MH777589	-	<i>Eimeria falciformis</i>	<i>Mus musculus</i>	Německo

MH777593	-	<i>Eimeria ferrisi</i>	<i>Mus musculus</i>	Německo
JQ993692	-	<i>Eimeria flavescens</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Česká republika
MF774036	-	<i>Eimeria furonis</i>	<i>Mustela putorius furo</i>	Kanada
KX857469	-	<i>Eimeria hirci</i>	<i>Capra aegagrus hircus</i>	Austrálie
LC508121	-	<i>Eimeria christenseni</i>	<i>Capra aegagrus hircus</i>	Myanmar
JQ993693	-	<i>Eimeria intestinalis</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Česká republika
KU215525	-	<i>Eimeria jerfinica</i>	<i>Apodemus sylvaticus</i>	Česká republika
KU215536	-	<i>Eimeria kaunensis</i>	<i>Apodemus sylvaticus</i>	Velká Británie
KT361042	-	<i>Eimeria lancasterensis</i>	<i>Sciurus carolinensis</i>	Itálie
JQ993695	-	<i>Eimeria magna</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Česká republika
HM771684	-	<i>Eimeria maxima</i>	<i>Gallus gallus</i>	Kanada
HG793047	-	<i>Eimeria meleagridis</i>	<i>Meleagris</i> sp.	Non specified
MN586864	-	<i>Eimeria mitis</i>	<i>Anser albifrons</i>	Non specified
JQ993696	-	<i>Eimeria myoxi</i>	<i>Eliomys quercinus</i>	Česká republika
JQ993708	-	<i>Eimeria nafuko</i>	<i>Heliophobius argenteocinereus</i>	Česká republika
JQ993697	-	<i>Eimeria nkaka</i>	<i>Phataginus tricuspis</i>	Angola
KT184377	-	<i>Eimeria papillata</i>	<i>Mus musculus</i>	USA
KT184378	-	<i>Eimeria praecox</i>	<i>Gallus gallus</i>	Kanada
MN657229	-	<i>Eimeria sciurorum</i>	<i>Sciurus</i> sp.	Itálie
MH350859	-	<i>Eimeria syrigha</i>	<i>Carlito syrigha</i>	Filipíny
KT184375	-	<i>Eimeria tamiasciuri</i>	<i>Tamiasciurus hudsonicus</i>	Kanada
MN586863	-	<i>Eimeria tenella</i>	<i>Anser albifrons</i>	Non specified
KU215489	-	<i>Eimeria uptoni</i>	<i>Apodemus agrarius</i>	Slovensko
JQ993699	-	<i>Eimeria vej dovskyi</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Česká republika
MK257111	-	<i>Eimeria vermiformis</i>	<i>Apodemus flavicollis</i>	Německo
HM771687	-	<i>Eimeria zuernii</i>	<i>Bos taurus</i>	Kanada

n. a. – not available (sběry v rámci této diplomové práce)

Tab. IX: Přehled sekvencí použitých v analýzách ORF470.

Accession number	Kód vzorku	Druh/linie kokcidie	Hostitel	Lokalita
n. a.	CG22	<i>E. apionodes</i> I	<i>C. glareolus</i>	Kfely, okr. Karlovy Vary
n. a.	MA2RpT19	<i>E. apionodes</i> I	<i>M. arvalis</i>	Bělčice, okr. Strakonice
n. a.	MARpT58	<i>E. apionodes</i> I	<i>M. arvalis</i>	Bělčice, okr. Strakonice
n. a.	CGSONET39	<i>E. apionodes</i> I	<i>C. glareolus</i>	Císařský Mlýn, okr. Plzeň - sever
n. a.	AF3V	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Vojkovice, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF12V	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Vojkovice, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF2Ja19	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Jáchymov, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF12J	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Jáchymov, okr. Karlovy Vary
n. a.	AFRpT28	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Volenice, okr. Příbram
n. a.	AFRpT43	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Volenice, okr. Příbram
n. a.	AFSONET5	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Podmokly, okr. Plzeň - sever
n. a.	ASSONET18	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. sylvaticus</i>	Podmokly, okr. Plzeň - sever
n. a.	AFSONET26	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Císařský Mlýn, okr. Plzeň - sever
n. a.	AFSONET78	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Komárov, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF19Ja1	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Jáchymov, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF21RpT19	<i>E. apionodes</i> III	<i>A. flavicollis</i>	Bělčice, okr. Strakonice
n. a.	AF18Voj01	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Vojkovice, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF6V	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Vojkovice, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF4Ja19	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Jáchymov, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF29ZL19	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Brložec, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF3RpT19	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Bělčice, okr. Strakonice
n. a.	AF17ML	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most

n. a.	AF20ML	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most
n. a.	AF189ML	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most
n. a.	AFSONET13	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Podmokly, okr. Plzeň - sever
n. a.	AFSONET40	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Císařský Mlýn, okr. Plzeň - sever
n. a.	AFSONET59	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Císařský Mlýn, okr. Plzeň - sever
n. a.	AFSONET84	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Komárov, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF18Zd19	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Dolní Žďár, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF122ML	<i>E. kaunensis</i>	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most
n. a.	AFSONET17	<i>E. uptoni</i>	<i>A. flavicollis</i>	Podmokly, okr. Plzeň - sever
n. a.	CG25	<i>Isospora</i> sp.	<i>C. glareolus</i>	Kfely, okr. Karlovy Vary
n. a.	CG30ZL19	<i>Isospora</i> sp.	<i>C. glareolus</i>	Brložec, okr. Karlovy Vary
n. a.	CG31ZL19	<i>Isospora</i> sp.	<i>C. glareolus</i>	Brložec, okr. Karlovy Vary
n. a.	MA14KLES	-	<i>M. arvalis</i>	Krásný Les, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF7J	-	<i>A. flavicollis</i>	Jáchymov, okr. Karlovy Vary
n. a.	AS12RpT19	-	<i>A. sylvaticus</i>	Bělčice, okr. Strakonice
n. a.	AFSONET3	-	<i>A. flavicollis</i>	Podmokly, okr. Plzeň - sever
n. a.	MASONET88	-	<i>M. arvalis</i>	Komárov, okr. Karlovy Vary
n. a.	MA20M	-	<i>M. arvalis</i>	Mořičov, okr. Karlovy Vary
MK631884	-	<i>Eimeria apionodes</i>	<i>Apodemus flavicollis</i>	Finsko
AF311630	-	<i>Eimeria albigulae</i>	<i>Neotoma</i> sp.	USA
MK631879	-	<i>Eimeria alorani</i>	<i>Apodemus agrarius</i>	Slovensko
AF311631	-	<i>Eimeria arizonensis</i>	<i>Peromyscus</i> sp.	USA
HQ173858	-	<i>Eimeria brunetti</i>	<i>Gallus gallus domesticus</i>	Brazílie
JQ993682	-	<i>Eimeria burdai</i>	<i>Heliophobius argenteocinereus</i>	Česká republika

JQ993672	-	<i>Eimeria caviae</i>	<i>Cavia porcellus</i>	Česká republika
HQ173859	-	<i>Eimeria coecicola</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Česká republika
MK257115	-	<i>Eimeria falciformis</i>	<i>Apodemus flavicollis</i>	Německo
MH755342	-	<i>Eimeria ferrisi</i>	<i>Mus musculus</i>	Německo
HQ173861	-	<i>Eimeria flavescens</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Česká republika
HQ173862	-	<i>Eimeria intestinalis</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Francie
MK631870	-	<i>Eimeria kaunensis</i>	<i>Apodemus flavicollis</i>	Slovensko
AF311639	-	<i>Eimeria langebarteli</i>	<i>Reithrodontomys</i> sp.	USA
HQ173864	-	<i>Eimeria magna</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Francie
HQ173865	-	<i>Eimeria maxima</i>	<i>Gallus gallus domesticus</i>	Česká republika
HQ173866	-	<i>Eimeria media</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Francie
HQ173867	-	<i>Eimeria mitis</i>	<i>Gallus gallus domesticus</i>	Česká republika
JF304151	-	<i>Eimeria myoxi</i>	<i>Eliomys quercinus</i>	Česká republika
HQ173868	-	<i>Eimeria necatrix</i>	<i>Gallus gallus domesticus</i>	Brazílie
AF311633	-	<i>Eimeria nieschulzi</i>	<i>Rattus</i> sp.	Non specified
JQ993677	-	<i>Eimeria nkaka</i>	<i>Phataginus tricuspis</i>	Angola
AF311634	-	<i>Eimeria onychomysis</i>	<i>Onychomys</i> sp.	USA
AF311635	-	<i>Eimeria papillata</i>	<i>Mus musculus</i>	USA
HQ173871	-	<i>Eimeria praecox</i>	<i>Gallus gallus domesticus</i>	USA
AF311636	-	<i>Eimeria reedi</i>	<i>Perognathus</i> sp.	USA
AF311637	-	<i>Eimeria separata</i>	<i>Rattus</i> sp.	USA
AF311638	-	<i>Eimeria sevilletensis</i>	<i>Onychomys</i> sp.	USA
MH350861	-	<i>Eimeria syrigha</i>	<i>Carlito syrigha</i>	Filipíny
HQ173873	-	<i>Eimeria tenella</i>	<i>Gallus gallus domesticus</i>	Velká Británie
HQ173874	-	<i>Eimeria vej dovskyi</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Česká republika
MK257125	-	<i>Eimeria vermiformis</i>	<i>Mus musculus</i>	Německo

n. a. – not available (sběry v rámci této diplomové práce)

Tab. X: Přehled sekvencí použitých v analýzách 18S rRNA.

Accession number	Kód vzorku	Druh/linie kokcidie	Hostitel	Lokalita
KU192914	AF4CZ23	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Slatinky, okr. Prostějov
n. a.	AF196MLR	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most
n. a.	AF2Ja19	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Jáchymov, okr. Karlovy Vary
n. a.	AFRpt43	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Volenice, okr. Příbram
n. a.	APO19Ja1	<i>E. apionodes</i> II	<i>Apodemus</i> sp.	Jáchymov, okr. Karlovy Vary
KU215952	AF12CZ1	<i>E. apionodes</i> II	<i>A. flavicollis</i>	Stružná, okr. Karlovy Vary
n. a.	CG22R	<i>E. apionodes</i> III	<i>C. glareolus</i>	Kfely, okr. Karlovy Vary
KU174482	CGC40	<i>E. apionodes</i> III	<i>C. glareolus</i>	Litvínov, okr. Most
KU174486	CG22L	<i>E. apionodes</i> III	<i>C. glareolus</i>	Lužnice, okr. Jindřichův Hradec
MT921798	MA101T	<i>E. apionodes</i> III	<i>M. arvalis</i>	Tymákov, okr. Plzeň-město
n. a.	CG48P	<i>E. apionodes</i> III	<i>C. glareolus</i>	Faszce, PL
KU174460	CG35L	<i>E. apionodes</i> III	<i>C. glareolus</i>	Lužnice, okr. Jindřichův Hradec
KU174457	CG10P	<i>E. apionodes</i> III	<i>C. glareolus</i>	Plešnice, okr. Plzeň-sever
n. a.	MA6MSTr	<i>E. apionodes</i> III	<i>M. arvalis</i>	Stružná, okr. Karlovy Vary
KU174473	MA8CB	<i>E. apionodes</i> III	<i>M. arvalis</i>	České Budějovice
MH698565	CG181LIP	<i>E. apionodes</i> III	<i>C. glareolus</i>	Litvínov, okr. Most
MH698568	CG112CLI	<i>E. apionodes</i> III	<i>C. glareolus</i>	Litvínov, okr. Most
KU174481	MAGD2814	<i>E. apionodes</i> III	<i>M. agrestis</i>	Litvínov, okr. Most
KU174478	MA7CB	<i>E. apionodes</i> III	<i>M. arvalis</i>	České Budějovice
KU174476	CG121T	<i>E. apionodes</i> III	<i>C. glareolus</i>	Tymákov, okr. Plzeň-město
KU192925	AF46CZ18	<i>E. apionodes</i> III	<i>A. flavicollis</i>	Zajíčkov, okr. Pelhřimov
KU192973	AF45CZ18	<i>E. apionodes</i> III	<i>A. flavicollis</i>	Zajíčkov, okr. Pelhřimov
MT921436	CG2TYM18	<i>E. apionodes</i> IV	<i>C. glareolus</i>	Tymákov, okr. Plzeň-město
n. a.	AFSONET40	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Císařský Mlýn, Plzeň-sever
KU192927	AF166	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Police nad Metují, okr. Náchod

KU192930	AFSB3CZ4	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most
n. a.	AF18VOJ01	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Vojkovice, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF29ZL19	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Brložec, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF4Ja19	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Jáchymov, okr. Karlovy Vary
n. a.	AFSONET13	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Podmokly, okr. Plzeň-sever
n. a.	AF6V	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Vojkovice, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF12V	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Vojkovice, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF3Rpt19	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Bělčice, okr. Strakonice
KU192912	AF2CZ10	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Křivoklát, okr. Rakovník
KU192911	AF1CZ3	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Vykmanov, okr. Karlovy Vary
KU192915	AF6CZ15	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Boršov nad Vltavou, okr. České Budějovice
KU192916	AF8CZ1	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Stružná, okr. Karlovy Vary
n. a.	AFSONET59	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Císařský Mlýn, Plzeň-sever
KU192920	AF14CZ1	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Stružná, okr. Karlovy Vary
KU192928	AF175CZ11	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Police nad Metují, okr. Náchod
KU192931	AFSB5CZ4	<i>E. apionodes</i> IV	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most
n. a.	AFSONET8	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Podmokly, okr. Plzeň-sever
n. a.	AF19Zd19	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Dolní Žďár, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF122ML	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most
KU192972	AF12CZ7	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Lestkov, okr. Tachov
KU192971	AANJ23	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. agrarius</i>	Bartošovice, okr. Nový Jičín
n. a.	AFSONET87	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Komárov, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF7Rpt19	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Bělčice, okr. Strakonice
n. a.	AF189ML	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most
n. a.	AF3ZL19	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Brložec, okr. Karlovy Vary
n. a.	AFSONET49	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Císařský Mlýn, Plzeň-sever
n. a.	AFRpt45	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Volenice, okr. Příbram

n. a.	AF17MLR	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most
n. a.	AFRpt28	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Volenice, okr. Příbram
n. a.	AF15Rpt19	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Bělčice, okr. Strakonice
n. a.	AF196ML	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most
n. a.	AF18Zd19	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Dolní Žďár, okr. Karlovy Vary
n. a.	AFRpt29	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Volenice, okr. Příbram
n. a.	AFSONET45	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Císařský Mlýn, Plzeň-sever
n. a.	AFSONET84	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Komárov, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF6J	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Jáchymov, okr. Karlovy Vary
n. a.	AFRpt46	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Volenice, okr. Příbram
n. a.	AF12J	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Jáchymov, okr. Karlovy Vary
KU192975	AS69CZ24	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. sylvaticus</i>	Cvilín, okr. Bruntál
KU192933	AFLN12CZ4	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most
KU192924	AF36CZ20	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Jimramov, okr. Žďár nad Sázavou
KU192921	AF15CZ7	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Lestkov, okr. Tachov
KU192922	AF19CZ3	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Vykmanov, okr. Karlovy Vary
n. a.	AFSONET57	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Císařský Mlýn, Plzeň-sever
n. a.	AF11V	<i>E. jerfinica</i>	<i>A. flavicollis</i>	Vojkovice, okr. Karlovy Vary
KU215968	AF SB11CZ4	<i>E. kaunensis</i>	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most
KU215950	AF10	<i>E. kaunensis</i>	<i>A. flavicollis</i>	Lestkov, okr. Tachov
KU174459	CG5L	<i>E. kaunensis</i>	<i>C. glareolus</i>	Lužnice, okr. Jindřichův Hradec
KU174462	MA120MT	<i>E. kaunensis</i>	<i>M. arvalis</i>	Tymákov, okr. Plzeň-město
KU215460	MA98T	<i>E. kaunensis</i>	<i>M. arvalis</i>	Tymákov, okr. Plzeň-město
KU192919	AF14CZ13	<i>E. uptoni</i>	<i>A. flavicollis</i>	Zliv, okr. České Budějovice
n. a.	AFSONET17	<i>E. uptoni</i>	<i>A. flavicollis</i>	Podmokly, okr. Plzeň-sever
n. a.	AFRpt35	<i>E. uptoni</i>	<i>A. flavicollis</i>	Volenice, okr. Příbram
n. a.	AFSONET78	<i>E. uptoni</i>	<i>A. flavicollis</i>	Komárov, okr. Karlovy Vary
n. a.	AF10KLES	<i>E. uptoni</i>	<i>A. flavicollis</i>	Krásný Les, okr. Karlovy Vary

n. a.	CG30ZL19	<i>Isospora</i> sp.	<i>C. glareolus</i>	Brložec, okr. Karlovy Vary
MT921453	CG163CLI	-	<i>C. glareolus</i>	Litvínov, okr. Most
MT934370	CG137CLI	-	<i>C. glareolus</i>	Litvínov, okr. Most
n. a.	AFSONET5	-	<i>A. flavicollis</i>	Podmokly, okr. Plzeň-sever
n. a.	AFSONET26	-	<i>A. flavicollis</i>	Císařský Mlýn, Plzeň-sever
n. a.	AF3V	-	<i>A. flavicollis</i>	Vojkovice, okr. Karlovy Vary
n. a.	MA2Rpt19	-	<i>M. arvalis</i>	Bělčice, okr. Strakonice
n. a.	MARpt58	-	<i>M. arvalis</i>	Bělčice, okr. Strakonice
n. a.	AF21Rpt19	-	<i>A. flavicollis</i>	Bělčice, okr. Strakonice
n. a.	MA14KLES	-	<i>M. arvalis</i>	Krásný Les, okr. Karlovy Vary
n. a.	CG49T	-	<i>C. glareolus</i>	Tymákov, okr. Plzeň-město
n. a.	AF8V	-	<i>A. flavicollis</i>	Vojkovice, okr. Karlovy Vary
n. a.	AFSONET20	-	<i>A. flavicollis</i>	Podmokly, okr. Plzeň-sever
n. a.	AF11Rpt19	-	<i>A. flavicollis</i>	Bělčice, okr. Strakonice
n. a.	AF20ML	-	<i>A. flavicollis</i>	Litvínov, okr. Most
KT037081	-	<i>Caryospora neofalconis</i>	<i>Falco peregrinus</i>	Mexico
MN893894	-	<i>Cyclospora cayetanensis</i>	<i>Macaca mulatta</i>	Čína
KX808495	-	<i>Cystoisospora suis</i>	<i>Sus scrofa domesticus</i>	Čína
FR745914	-	<i>Eimeria adenoeides</i>	<i>Meleagris</i> sp.	Non specified
KT184334	-	<i>Eimeria ahsata</i>	<i>Ovis aries</i>	Kanada
AF307880	-	<i>Eimeria albigulae</i>	<i>Neotoma</i> sp.	USA
KU192970	-	<i>Eimeria alorani</i>	<i>Apodemus agrarius</i>	Bulharsko
GU479633	-	<i>Eimeria anguillae</i>	<i>Anguilla anguilla</i>	Maďarsko
KU192973	-	<i>Eimeria apionodes</i>	<i>Apodemus sylvaticus</i>	Česká republika
AF307878	-	<i>Eimeria arizonensis</i>	<i>Peromyscus</i> sp.	USA
AY613853	-	<i>Eimeria arnyi</i>	<i>Diadophis punctatus arnyi</i>	USA
JQ993644	-	<i>Eimeria banffensis</i>	<i>Ochotona hyperborea</i>	Rusko
MN306562	-	<i>Eimeria bovis</i>	<i>Ovis aries</i>	Irák

JQ993666	-	<i>Eimeria burdai</i>	<i>Heliophobius argenteocinereus</i>	Česká republika
JQ993647	-	<i>Eimeria cahirinensis</i>	<i>Acomys dimidiatus</i>	Jordánsko
JQ993648	-	<i>Eimeria callospermophili</i>	<i>Spermophilus citellus</i>	Česká republika
JQ993649	-	<i>Eimeria caviae</i>	<i>Cavia porcellus</i>	Česká republika
FJ236378	-	<i>Eimeria cf. mivati</i>	<i>Gallus gallus domesticus</i> (broiler)	USA
HQ173828	-	<i>Eimeria coecicola</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Česká republika
GU479669	-	<i>Eimeria cylindrospora</i>	<i>Alburnus alburnus</i>	Maďarsko
MK246860	-	<i>Eimeria falciformis</i>	<i>Apodemus flavicollis</i>	Německo
MH752036	-	<i>Eimeria ferrisi</i>	<i>Mus musculus</i>	Německo
HQ173830	-	<i>Eimeria flavescens</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Česká republika
MF774680	-	<i>Eimeria furonis</i>	<i>Mustela putorius furo</i>	Německo
LC507796	-	<i>Eimeria hirci</i>	<i>Capra aegagrus hircus</i>	Myanmar
JQ993650	-	<i>Eimeria chinchillae</i>	<i>Chinchilla lanigera</i>	Česká republika
LC507793	-	<i>Eimeria christenseni</i>	<i>Capra aegagrus hircus</i>	Myanmar
KF856284	-	<i>Eimeria intestinalis</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Čína
KU192975	-	<i>Eimeria jerfinica</i>	<i>Apodemus sylvaticus</i>	Česká republika
KU192937	-	<i>Eimeria kaunensis</i>	<i>Apodemus flavicollis</i>	Slovensko
AB849922	-	<i>Eimeria krijgsmanni</i>	<i>Mus musculus</i>	Japonsko
KT368144	-	<i>Eimeria lancasterensis</i>	<i>Sciurus carolinensis</i>	Itálie
AF311640	-	<i>Eimeria langebarteli</i>	<i>Reithrodontomys sp.</i>	USA
JQ392577	-	<i>Eimeria macropodis</i>	<i>Macropus eugenii</i>	Austrálie
HQ173833	-	<i>Eimeria magna</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Francie
FJ263947	-	<i>Eimeria maxima</i>	<i>Gallus gallus domesticus</i> (broiler)	USA
KT184348	-	<i>Eimeria meleagridis</i>	<i>Meleagris gallopavo</i>	USA
JF304148	-	<i>Eimeria myoxi</i>	<i>Eliomys quercinus</i>	Česká republika
JQ993665	-	<i>Eimeria nafuko</i>	<i>Heliophobius argenteocinereus</i>	Česká republika

U40263	-	<i>Eimeria nieschulzi</i>	<i>Rattus</i> sp.	Non specified
JQ993651	-	<i>Eimeria nkaka</i>	<i>Phataginus tricuspis</i>	Angola
AF307879	-	<i>Eimeria onychomysis</i>	<i>Onychomys</i> sp.	USA
KT184350	-	<i>Eimeria papillata</i>	<i>Mus musculus</i>	USA
EU717219	-	<i>Eimeria ranae</i>	<i>Rana temporaria</i>	Česká republika
AF311642	-	<i>Eimeria reedi</i>	<i>Perognathus</i> sp.	USA
MN650661	-	<i>Eimeria sciurorum</i>	<i>Sciurus</i> sp.	Itálie
AF311643	-	<i>Eimeria separata</i>	<i>Rattus</i> sp.	USA
AF311644	-	<i>Eimeria sevilletensis</i>	<i>Onychomys</i> sp.	USA
MH349726	-	<i>Eimeria</i> sp. ex <i>Tarsius syrichta</i>	<i>Carlito syrichta</i>	Filipíny
KT184353	-	<i>Eimeria tamiasciuri</i>	<i>Tamiasciurus hudsonicus</i>	Kanada
AF246717	-	<i>Eimeria telekii</i>	<i>Lemniscomys striatus</i>	Keňa
AF040971	-	<i>Eimeria tenella</i>	<i>Gallus gallus domesticus</i>	USA
FJ829323	-	<i>Eimeria trichosuri</i>	<i>Trichosurus cunninghami</i>	Austrálie
KU192953	-	<i>Eimeria uptoni</i>	<i>Apodemus flavicollis</i>	Německo
HQ173838	-	<i>Eimeria vej dovskyi</i>	<i>Oryctolagus cuniculus</i>	Česká republika
MK246863	-	<i>Eimeria vermiformis</i>	<i>Apodemus flavicollis</i>	Německo
JQ993653	-	<i>Eimeria vilasi</i>	<i>Spermophilus elegans</i>	USA
KU052230	-	<i>Eimeria zuernii</i>	<i>Bos taurus</i>	Turecko

n. a. – not available (sběry v rámci této diplomové práce)