

Univerzita Palackého v Olomouci
Přírodovědecká fakulta
Katedra ekologie a životního prostředí



Morfologická charakteristika zimovišť netopýrů ve vztahu
k WNS onemocnění

Pavčina Havlová

Bakalářská práce
předložená na Katedře ekologie a životního prostředí
Přírodovědecké fakulty Univerzity Palackého v Olomouci

jako součást požadavků
na získání titulu Bc. v oboru
Ochrana a tvorba životního prostředí

Vedoucí práce: Mgr. Tomáš Bartonička, Ph. D.

Olomouc 2014

Prohlášení

Prohlašuji, že jsem bakalářskou práci vypracovala samostatně pod vedením Mgr. Tomáše Bartoničky, Ph. D. a pouze za použití citovaných literárních zdrojů.

V Olomouci 28. července 2014

.....
Podpis

Havlová P.: Morfologická charakteristika zimovišť netopýrů ve vztahu k WNS onemocnění. Bakalářská práce, Katedra Ekologie a životního prostředí, Přírodovědecká fakulta, Univerzita Palackého v Olomouci, 44 s., 3 přílohy, v češtině.

Abstrakt

Nedávno objevené plísňové onemocnění white-nose syndrome (WNS) v Severní Americe způsobuje masové úhyny zimujících netopýrů. Přestože se tato choroba vyskytuje i v Evropě, netopýři jsou zde vůči letálním účinkům WNS rezistentní a nikde nedochází k obdobným úhynům. Důvody, proč pro evropské netopýry téměř neškodná nemoc činí tak obrovské zásahy do populací severoamerických netopýrů, nejsou dosud zcela známy. Na dopadech onemocnění se může mimo jiné podílet charakter netopýřích zimovišť, jimiž se tato práce zabývá.

Vyhodnocována byla databáze, která zahrnuje tři skupiny charakteristik (morfologie zimoviště, charakter vchodu a popis zimujícího společenstva netopýrů) ze 466 zimovišť ČR. Výsledky ukázaly, že se liší typy zimovišť v přítomnosti patogenní plísně způsobující WNS *Pseudogymnoascus destructans* (Pd). U antropogenních zimovišť (stará důlní díla) je výskyt plísně častější než u přirozeně vzniklých jeskyní. Také nadmořská výška se podílí na výskytu plísně na zimovišti. Prevalence u netopýrů druhu *Myotis myotis* i počet zimovišť pozitivních na přítomnost Pd stoupá se zvyšující se nadmořskou výškou. Zimoviště s výskytem plísně jsou častěji větší komplexy podzemních chodeb mnohdy s hydrologickou aktivitou. Hostí také více zimujících netopýrů a výskyt agregací je zde častější než u zimovišť bez výskytu Pd. Další výzkumy by se mohly zaměřit na studium rozdílného působení plísně v jeskyních a štolách, na srovnání prevalence WNS v těchto dvou odlišných typech zimovišť a na bližší prozkoumání vlivu mikroklimatu a nadmořské výšky na prevalenci výskytu plísně.

Klíčová slova: syndrom bílého nosu, *Pseudogymnoascus destructans*, popis zimoviště, společenstvo netopýrů

Havlová P.: Morphological characteristics of bat hibernacula in relation to the WNS disease. Bachelor Thesis, Department of Ecology and Environmental Sciences, Faculty of Science, Palacky University of Olomouc, 44 pp., 3 Apendices, in Czech.

Abstract

Recently discovered fungal disease white-nose syndrome (WNS) causes mass mortality of hibernating bats in North America. Although WNS occurs also in Europe, the bats here are resistant to lethal effects of WNS and the disease is not associated with significant mortality. The reasons why for European bats nearly harmless disease causes so huge population declines in North American are not fully known yet. Effects of the disease can involve, inter alia, a character of winter hibernacula, which this work deals.

A database that includes 466 winter hibernacula in the Czech Republic and three groups of their characteristics (morphology of hibernacula, characteristics of an entrance and a description of overwintering bat communities) was evaluated. My results show that types of hibernacula differ in the presence of the pathogenic fungus *Pseudogymnoascus destructans* (Pd) that causes WNS. The fungus is present in anthropogenic hibernacula (old mines) more often than in naturally incurred caves. Also altitude contributes to the occurrence of the fungus in hibernacula. Prevalence of an incidence of fungal growth at *Myotis myotis* and a number of hibernacula positive for Pd increases with increasing altitude. Hibernacula with occurrence of Pd are often longer complexes of underground tunnels and often with hydrological activity. There are also more hibernating bats and occurrence of clusters is more common here than in hibernacula free of the pathogen. Further researches could be focused on studies of different effects of the fungus in caves and mines and a closer examination of influence of microclimate and altitude on the prevalence of the fungus.

Key words: white-nose syndrome, *Pseudogymnoascus destructans*, description of hibernacula, bat assemblage

Obsah

Seznam tabulek	VIII
Seznam obrázků	IX
Poděkování.....	X
1 Úvod.....	1
1.1 Syndrom „bílého nosu“	1
1.1.1 Příznaky onemocnění	1
1.1.2 Původce onemocnění.....	3
1.1.3 Rozšíření a okolnosti působení WNS.....	4
1.2 Hibernace u netopýrů	7
1.2.1 Proces hibernace.....	7
1.2.2 Vliv faktorů zimoviště na chování netopýrů	9
2 Cíle práce	12
3 Materiál a metody	13
3.1 Tabulka charakteristik zimovišť	13
3.1.1 Přehled a popis charakteristik zimovišť	13
3.1.2 Sběr dat a celkový počet lokalit	16
3.2 Zpracování a analýza dat	17
4 Výsledky	19
4.1 Popis typů zimovišť	19
4.2 Rozdíly mezi zimovišti s výskytem a bez výskytu <i>P. destructans</i>	24
4.3 Závislost prevalence výskytu plísně na vybraných proměnných	26
5 Diskuze	27
6 Závěr	29
7 Souhrn.....	31
Literatura.....	32

Přílohy	36
Příloha A: Mapa rozšíření WNS v Severní Americe	36
Příloha B: Sloupcové diagramy vybraných charakteristik pro jednotlivé typy zimovišť	37
Příloha C: Sloupcové diagramy vybraných charakteristik pro všechna zimoviště a zimoviště s absencí či přítomností <i>P. destructans</i>	42

Seznam tabulek

Tab. 1: Přehled amerických a evropských druhů, které jsou napadány plísní <i>P. destructans</i> (<i>Pd</i>).....	5
Tab. 3: Procentuální zastoupení výskytu agregací a přítomnosti porostu plísně u netopýrů na jednotlivých typech zimovišť.....	22
Tab. 2: Mediány a rozpětí kvartilů (x_{25} – x_{75}) u proměnných týkajících se netopýřích společenstev pro jednotlivé typy zimovišť	22
Tab. 4: Mediány a rozpětí kvartilů (x_{25} – x_{75}) u proměnných týkajících se netopýřního společenstva pro zimoviště s přítomností a absencí <i>P. destructans</i> (<i>Pd</i>).....	25
Tab. 5: Procentuální zastoupení výskytu agregací u netopýrů na zimovištích s přítomností nebo absencí <i>P. destructans</i> (<i>Pd</i>).....	25
Tab. 6: Výsledky testování korelace prevalence výskytu porostu <i>P. destructans</i> (<i>Pd</i>) u <i>Myotis myotis</i> s vybranými proměnnými	26

Seznam obrázků

Obr. 1: Napadení plísní u hibernujících netopýrů	2
Obr. 2: Původce WNS <i>Pseudogymnoascus destructans</i> : (A) typicky zakřivené konidie, (B) větvené konidiofory s konidiami	3
Obr. 4: Zimoviště zahrnutá ve zpracovávané databázi (466 zimovišť)	17
Obr. 5: Zastoupení kategorií morfologie zimovišť u jeskyní, štol a sklepů.....	19
Obr. 7: Zastoupení kategorií vodního režimu u jeskyní a štol	20
Obr. 6: Zastoupení kategorií denivelace zimovišť u jeskyní a štol	20
Obr. 8: Zastoupení kategorií proudění vzduchu u jeskyní a štol.....	21
Obr. 9: Zastoupení kategorií týkajících se kontrolované části zimoviště u jeskyní a štol	21
Obr. 10: Procentuální zastoupení kategorií nadmořské výšky na zimovištích s přítomností a absencí <i>P. destructans</i> (<i>Pd</i>).....	23
Obr. 11: Procentuální zastoupení kategorií relativní výšky vchodu vzhledem ke dnu údolí na zimovištích s přítomností a absencí <i>P. destructans</i> (<i>Pd</i>)	23
Obr. 12: Procentuální zastoupení kategorií délky podzemních prostor na zimovištích s přítomností a absencí <i>P. destructans</i> (<i>Pd</i>).....	24
Obr. 13: Procentuální zastoupení kategorií vodního režimu na zimovištích s přítomností a absencí <i>P. destructans</i> (<i>Pd</i>)	24

Poděkování

Mé největší poděkování patří vedoucímu této práce Mgr. Tomáši Bartoničkovi, Ph.D., který mi poskytl příležitost podílet se na projektu *Adaptace netopýrů na plísňové onemocnění geomykózu*. Děkuji mu za jeho podporu, cenné rady a připomínky k práci.

Dále bych na tomto místě chtěla poděkovat všem členům ČESON, se kterými jsem spolupracovala na vyplňování databáze zimovišť. Z nich například panu Ing. Borku Fraňkovi, který mi zařídil možnost ubytování, když jsem za sčítateli z daleka dojížděla. Zvláštní dík navíc patří Ing. Jiřímu Šafářovi, jenž mi zapůjčil potřebné vybavení a umožnil mi zúčastnit se sčítání netopýrů napadených plísní.

Konečně děkuji i mému příteli Danielu Texlovi za vytvoření zázemí pro nerušené psaní práce a za jeho průběžné textové korektury.

V Olomouci, 22. července 2014

1 Úvod

1.1 Syndrom „bílého nosu“

White-nose syndrome (dále WNS) neboli syndrom „bílého nosu“ je plísňové onemocnění postihující hibernující netopýry. Poprvé byly jeho příznaky zaznamenány v jeskyni Howes na východě USA v roce 2006 (Blehert et al. 2008). Od té doby se její původce *Pseudogymnoascus destructans* epidemicky šíří po severoamerických zimovištích a způsobuje úhyny miliónů netopýrů. Jak se následně zjistilo, kolonie plísně *P. destructans* můžeme běžně nalézt i u hibernujících netopýrů v Evropě (např. Martínková et al. 2010; Zukal et al. 2014). Tam ale nedochází k masovým úhynům jako v Severní Americe (Martínková et al. 2010; Puechmaille et al. 2011a). Důvody, proč plíseň na netopýry dvou různých kontinentů působí odlišně, nejsou dosud zcela objasněny (Blehert 2012). Některé hypotézy zmiňují vliv chování zimujících netopýrů, různou fyziologii nebo vlivy faktorů prostředí (Blehert 2012; Warnecke et al. 2012).

1.1.1 Příznaky onemocnění

Samotné napadení plísňovým patogenem *P. destructans* nemusí znamenat propuknutí onemocnění. Pakliže jsou houbou napadené pouze svrchní vrstvy pokožky, nejedná se o WNS. Netopýr je považován za nemocného až tehdy, když je kožní tkáň narušena více do hloubky a její poškození odpovídá daným diagnostickým znakům (Meteyer et al. 2009). Tyto příznaky onemocnění pozorujeme u nakažených netopýrů Ameriky i Evropy. Odlišné je ale působení WNS na změny v chování netopýrů během hibernace. V Evropě nebyly sledovány takové změny, které by způsobovaly redukci tělní hmotnosti nebo smrt. Nemocní jedinci severoamerických netopýrů se však v průběhu hibernace častěji probouzí, což vede k přílišnému vyčerpávání jejich tukových zásob a následnému uhynutí (Warnecke et al. 2012).

K vlastnímu potvrzení WNS je zapotřebí histopatologického vyšetření (Meteyer et al. 2009). U napadeného jedince jsou pod mikroskopem viditelné hluboké vředy a narušení kůže na létacích membránách a uších, která zasahují až do pojivové tkáně (*ibid.*). Houbové hyfy také vyplňují vlasové kořínky a postihují mazové a potní žlázy. Napadení tkání obvykle nevede k zánětlivým reakcím, protože imunita netopýrů je po dobu hibernace potlačena (*ibid.*). Během strnulosti je v krvi výrazně snížen počet neutrofilních granulocytů, které se účastní akutní fáze zánětu a ovlivňují další složky imunitního systému (Bouma et al. 2010). Přestože plíseň působí na netopýry tak fatálně,

omezuje se pouze na postižení kůže. Nebyl poskytnut žádný důkaz o ovlivnění nebo selhání vnitřních orgánů (Courtin et al. 2010).

Viditelné známky napadení pomalu rostoucí patogenní houbou nejsou ze začátku hibernace patrné. Typické porosty bílých chomáčků plísně se v Americe objevují až v lednu (Wibbelt et al. 2013), v evropských podmínkách ještě později (počínaje únorem a s vyvrcholením výskytu v průběhu března či začátkem dubna) (Puechmaille et al. 2011a). Na pohled je potom nápadný bílý povlak na křídelních blánách, nose a uších (obr. 1). U jedinců v pokročilých stádiích onemocnění můžeme pozorovat kožní léze. Primárním místem pro infekci plísně je kůže křídel (Blehert 2012).

WNS v Severní Americe zásadně ovlivňuje chování netopýrů při hibernaci. Nakažení jedinci se mohou probouzet ze spánku až čtyřikrát častěji než je obvyklé u zdravých netopýrů (Warnecke et al. 2012). Každé probuzení ze strnulosti je pro netopýra nesmírně energeticky náročné, což znamená, že postižený jedinec vyčerpává tukové zásoby, které má k dispozici na celou zimu. Předčasné vyčerpání energetických zásob může znamenat bezvýchodnou situaci, protože je v tomto období nemožné doplnit energii potravou. Čím jsou navozována častější probouzení nemocných jedinců, se s určitostí neví. Vědci se však domnívají, že zde hraje velkou roli plísní poškozená tkáň křídel, z níž se snáze vypařuje voda. Dochází tak k narušení homeostázy organismu a k dehydrataci, která pravděpodobně vyvolává probouzení (Warnecke et al. 2012). Nemocní netopýři ve snaze opatřit si potravu vylétávají ze zimoviště, čímž si mohou přivodit další poškození křídel mrazem a tím ještě větší neschopnost hospodaření s vodou (Reichard a Kunz 2009). Během doby, kdy je probuzený netopýr vzhůru, tráví



Obr. 1: Napadení plísní u hibernujících netopýrů. Vlevo: severoamerický netopýr hnědavý (*Myotis lucifugus*) (© Alan Hicks), vpravo: evropský netopýr velký (*Myotis myotis*) (© Pavlína Havlová)

více času péčí o pokožku křídel a ostatních částí těla na úkor odpočinku, což možná také přispívá k většímu výdeji energie (Brownlee-Bouboulis et al. 2013).

WNS v severoamerických podmínkách většinou končí smrtí nemocného jedince. V případě, že netopýr přežije, je následkem syndromu velice znevýhodněn. Postižení křídel bývá velké a značně omezuje úspěšnost v lovu a schopnost migrace. Samice, které jsou po zimě vyčerpané ve větší míře, než by tomu bylo za normálních okolností, čelí navíc nedostatku energie potřebné pro ovulaci a následnou graviditu (Reichard a Kunz 2009).

1.1.2 Původce onemocnění

Bylo experimentálně dokázáno, že jediným příčinným původcem onemocnění „bílého nosu“ je vřekovýtrusá houba *Pseudogymnoascus destructans* Minnis & Lindner (2013) (nejprve popsána jako *Geomyces destructans* Blehert & Gargas (2009) (Warnecke et al. 2012). *P. destructans* byla objevena až s výskytem onemocnění WNS v USA. Většina nejvíce příbuzných druhů nepůsobí jako primární patogeny a řadí se spíše k saprofytům, kteří nemají možnost napadat živou tkáň jako *P. destructans* (Wibbelt et al. 2010).

Houba vytváří úzké pravoúhle větvené hyfy s přepážkami (Courtin et al. 2010), morfologie hyf je mírně variabilní (Meteyer et al. 2009). Na větvených konidioforech nese pro ni typické asymetricky zakřivené, rohlíkovité konidie s tupými konci o poměrně značné velikosti (Gargas et al. 2009) (obr. 2). Nárůst houbových vláken na pokožce tvoří bílé chomáčky (Chaturvedi et al. 2010) (obr. 1).

P. destructans je psychrofilní (chladnomilná) plíseň, a proto je její spojení s napadáním teplokrevných savců ojedinělé (Blehert 2012). Osídlení netopýrů plísní umožňuje zimní období hibernace, kdy se tělesná teplota zvířat přiblíží teplotě okolního



Obr. 2: Původce WNS *Pseudogymnoascus destructans*: (A) typicky zakřivené konidie, (B) větvené konidiofory s konidiemi. Velikost měřítka: 10 μ m (© Gargas et al. 2009)

prostředí zimoviště za současného snížení imunity (Meteyer et al. 2009). *P. destructans* je schopna růstu v přibližném teplotním rozmezí 3–19 °C, přičemž optimální teploty pro růst se pohybují mezi 12–16 °C (Verant et al. 2012). S klesající teplotou se tempo růstu pozvolna zmenšuje. Pro bližší představu, při průměrné hibernační teplotě netopýra hnědavého (*Myotis lucifugus*), která činí přibližně 7 °C, se rychlost růstu plísně snížila o 40 % ve srovnání s optimem (*ibid.*).

Plíseň pro svůj růst potřebuje dostatek vlhkosti a vhodný substrát. Jeskynní zimoviště netopýrů si většinou udržují vysokou relativní vlhkost vzduchu, což je pro existenci plísně ideální. Co se týče substrátu, *P. destructans* sice dokáže kolonizovat živou živočišnou tkáň, ale není omezena pouze na ni. Stejně tak je schopna růstu a sporulace na mrtvé živočišné tkáni různého původu (Raudabaugh et al. 2013). To jí umožňuje přežívání v prostředí zimoviště i v nepřítomnosti netopýřích hostitelů.

1.1.3 Rozšíření a okolnosti působení WNS

Od prvního zaznamenání přítomnosti patogenní plísně u netopýrů v roce 2006 v severoamerickém státě New York, se WNS doposud rozšířilo do 23 amerických států a 5 kanadských provincií (White-Nose Syndrome 2014) (viz obr. 1 v příloze A). Větší neobvyklé úhyny byly ve státě New York pozorovány v březnu 2007 (Blehert 2012). Již během prvních dvou let klesly počty netopýrů v zasažených oblastech o více než 75 % (Blehert et al. 2008). Dnes odhady mluví o přibližně 6 miliónech uhynulých severoamerických netopýrů (White-Nose Syndrome 2014).

V Severní Americe je plísní napadáno 11 druhů z 5 rodů, z nichž 7 umírá na WNS (White-Nose Syndrome 2014) (tab. 1). Populace většiny druhů do příchodu patogenu průkazně rostly (Langwig et al. 2012). Populační trendy se však od té doby zásadně změnilo. Snad nejvíce zasaženým druhem je netopýr hnědavý (*Myotis lucifugus*), dříve



Obr. 3: Rozšíření *Pseudogymnoascus destructans* v Severní Americe a Evropě. Zeleně: doložený výskyt *P. destructans*, růžově: území s potvrzeným výskytem WNS, zeleně s růžovým okrajem: oblasti s podezřením na WNS* (© Puechmaillie et al. 2011b)

* Podle současných poznatků spadá i Evropa do oblastí s podezřením na WNS. Například v ČR je výskyt WNS už potvrzen (Pikula et al. 2012)

velice hojný druh, jeden z nejběžnějších. Populační modely ukazují, že při pokračování stávajících poklesů by mohlo dojít k jeho lokálnímu vymření během příštích 20 let (Frick et al. 2010).

Do roku 2009 byl známý výskyt *P. destructans* omezen pouze na Severní Ameriku (Puechmaille et al. 2011b). Toho roku však zpráva z Francie potvrdila výskyt plísně i v Evropě. *P. destructans* byla zatím identifikována v 13 evropských státech (Wibbelt et al. 2013). (obr. 3) Kolonizuje tu 14 druhů z 5 rodů netopýrů a onemocnění WNS bylo prokázáno u 11 z nich (tab. 1). V Evropě dosahuje největší prevalence v onemocnění netopýr velký (*Myotis myotis*) (Puechmaille et al. 2011a; Zukal et al. 2014). Přestože u evropských netopýrů napadených plísní bylo také prokázáno vyvinutí choroby WNS, přítomnost patogenu tu nepůsobí masové úhyny jako je tomu v Americe (Martínková et al. 2010; Zukal et al. 2014). Jestliže v Evropě důsledkem WNS dochází k nějakým úhynům, tak zřejmě pouze sporadicky (Pikula et al. 2012). Zpětné odchvy a kontroly zimovišť dokazují, že netopýři jednou nalezení s porosty plísně jsou znovu viděni po několika měsících či letech zcela zdraví a bez příznaků plísněvé infekce (Wibbelt et al. 2010; Puechmaille et al. 2011a; Wibbelt et al. 2013). Bylo zjištěno, že si netopýři při

Tab. 1: Přehled amerických a evropských druhů, které jsou napadány plísní *P. destructans* (*Pd*), s údaji o prokázané přítomnosti syndromu „bílého nosu“ (ano: histopatologické potvrzení, ne: bylo zkoumáno, ale výskyt WNS nepotvrzen, ?: histopatologicky neprozkoumáno) (Puechmaille et al. 2011a; Zukal et al. 2014; White-Nose Syndrome 2014)

Evropa		Severní Amerika	
Název druhu napadaného <i>Pd</i>	Přítomnost WNS	Název druhu napadaného <i>Pd</i>	Přítomnost WNS
<i>Barbastella barbastellus</i>	ano	<i>Eptesicus fuscus</i>	ano
<i>Eptesicus nilssonii</i>	ano	<i>Myotis grisescens</i>	ano
<i>Myotis bechsteinii</i>	ano	<i>Myotis leibii</i>	ano
<i>Myotis brandtii</i>	ano	<i>Myotis lucifugus</i>	ano
<i>Myotis dasycneme</i>	ano	<i>Myotis septentrionalis</i>	ano
<i>Myotis daubentonii</i>	ano	<i>Myotis sodalis</i>	ano
<i>Myotis emarginatus</i>	ano	<i>Perimyotis subflavus</i>	ano
<i>Myotis myotis</i>	ano	<i>Corynorhinus townsendii virginianus</i>	ne
<i>Myotis nattereri</i>	ano	<i>Lasionycteris noctivagans</i>	ne
<i>Plecotus auritus</i>	ano	<i>Myotis austroriparius</i>	ne
<i>Rhinolophus hipposideros</i>	ano	<i>Myotis velifer</i>	ne
<i>Myotis alcathoe</i>	ne		
<i>Myotis blythii</i>	?		
<i>Myotis mystacinus</i>	?		

probouzení v průběhu zimy a na jaře po skončení zimního spánku plíseň z povrchu kůže stírají (Martínková et al. 2010; Puechmaille et al. 2011a; Wibbelt et al. 2013).

Zpětné zkoumání starých fotografických materiálů ze zimních kontrol evropských zimovišť přineslo důkazy o tom, že houba se tu na netopýrech objevovala i v minulosti (Martínková et al. 2010; Puechmaille et al. 2011b). Nejstarší fotografie zachycující bílý povlak této plísně byla pořízena v Estonsku roku 1970 (Puechmaille et al. 2011b). Přítomnost *P. destructans* v Evropě i v dřívějších dobách bez známek závažných úmrtí poukazuje na možný dlouholetý koevoluční vývoj plísně a netopýrů (Warnecke et al. 2012). Behaviorálním či fyziologickým vývojem si mohli netopýři proti patogenu vypěstovat rezistenci (Wibbelt et al. 2010).

Naproti tomu se *P. destructans* do Ameriky zřejmě dostala zavlečením a setkala se tam s „naivními“ populacemi místních netopýrů (Wibbelt et al. 2010). Tomuto nasvědčuje také genetický výzkum amerických izolátů plísně. Ukázalo se totiž, že se tu jedná o klonální genotyp (Rajkumar et al. 2011). Znamená to, že se v Americe houba příliš dlouho nemnoží, respektive, že se tam vyskytla teprve nedávno. Mohla být do amerických jeskyní zanesena na jeskyňářské výstroji nebo jiným způsobem a od té doby se rozšiřuje. Není přesně znám způsob jejího šíření, ale větší poklesy početnosti byly zjištěny u společenských netopýrů, kteří zimují ve shlucích a ve větších koloniích (Langwig et al. 2012; Warnecke et al. 2012). Z toho lze vyvodit, že vzájemný kontakt netopýrů bude při přenosu plísně významným faktorem. Možné je také stírání spor ze stěn jeskynního zimoviště (Puechmaille et al. 2011a). Při péči o napadenou pokožku by mohl netopýr odolné spory pozřít a šířit je po skončení hibernace, a to po projití trávicím systémem na cestě do letních úkrytů při příležitostných zastávkách na jiných zimovištích (Brownlee-Bouboulis et al. 2013). Někteří netopýři po hibernaci migrují na velké vzdálenosti, rozptylují se různými směry a komunikují s dalšími jedinci populace. Je pravděpodobné, že i tento aspekt netopýřího chování se podílí na šíření plísně (Wibbelt et al. 2010). Přenosu spor bude nejspíše napomáhat i člověk (Wibbelt et al. 2010; Puechmaille et al. 2011b).

WNS v Severní Americe značně zasahuje do životního prostředí. Netopýři hrají v ekosystémech klíčovou roli. Onemocnění zásadním způsobem mění zastoupení druhů netopýrů (Langwig et al. 2012) a jejich klesající početnost může mít za následek přemnožování hmyzu, což by mohlo vést také k ekonomickým škodám způsobeným škůdci (Puechmaille et al. 2010). Netopýři jsou navíc citlivým objektem pro jejich životní strategie. Jsou dlouhověcí a samice většinou rodí po jednom mláděti. Přičteme-li

k tomu skutečnost, že patogenní plíseň je schopna přežít v prostředí i bez netopýrů a tudíž nemá vytvořené žádné mechanismy, které by jí bránily ve vyhubení tohoto, zdá se, oportunního hostitele (Blehert 2012), je závažnost tohoto onemocnění skutečně velká.

1.2 Hibernace u netopýrů

Netopýři mírného pásma (konkrétně čeledi Vespertilionidae, Rhinolophidae a Miniopteridae) využívají k přečkání zimního období takzvaného zimního spánku neboli hibernace (Altringham 2011). Tento proces je podmiňován heterotermií, to jest schopností aktivně regulovat svoji tělesnou teplotu tak, aby byly energetické náklady co nejmenší. Netopýři svou teplotu přiblíží teplotě okolního prostředí, čímž eliminují ztráty energie v podobě tepla do okolí. Udržení stálé tělesné teploty je pro tyto malé savce velice energeticky náročné. S klesající velikostí těla se totiž mění poměr objemu ku tělnímu povrchu. Malý živočich má tedy poměrně velký povrch na svůj objem, z čehož plyne, že rychleji ztrácí teplo kondukcí do okolí. Netopýři mírného pásma nemají v zimě možnost zcela kompenzovat energetické ztráty příjmem potravy, a proto si koncem léta vytvářejí tukové zásoby a během podzimu začnou hibernovat na vhodném zimovišti. Místa zimování jsou druhově specifická. Chladu odolnější druhy mohou přezimovat ve stromových dutinách či skalních štěrbinách. K zimování lze využít i části lidských obydlí (např. štěrby v panelových domech, podkroví, sklepy apod.). Většina druhů netopýrů však upřednostňuje jeskynní zimoviště (Glover 2006).

1.2.1 Proces hibernace

Při nepříznivých podmínkách v průběhu roku netopýři běžně upadají do krátké denní strnulosti pro snížení výdeje energie (Altringham 2011). Teplota úrovně bazálního metabolismu poklesne a tím se přiblíží k teplotě okolního prostředí. Energetická spotřeba je menší, protože se pro udržení nižší teploty těla nemusí produkovat tolik tepla. Hibernace je prodloužení a prohloubení takovýchto strnulostí (*ibid.*). Teplota těla a s ní i úroveň metabolismu se snižují daleko více. Zatímco denní strnulosti nejsou nikdy delší než jeden den (Geiser 2004), stavy strnulosti v průběhu hibernace trvají několik dnů až týdnů. Mezi těmito úseky spánku se hibernující netopýři více či méně pravidelně probouzejí. Na celý průběh zimy pak většinou mají k dispozici pouze energii z tukových zásob, které na začátku hibernace tvoří přibližně 20–30 % tělesné hmotnosti (Altringham 2011).

Při navození hluboké strnulosti netopýři snižují tělesnou teplotu, která se liší pouze o 1–2 °C od okolního prostředí (Altringham 2011). Rychlost metabolismu klesá na 5 % bazálního metabolismu za normálních (homeotermních) podmínek a v některých případech může být menší než 1 % (Geiser 2004). Snižuje se tep, zpomalí se dýchání, klesá příjem kyslíku. Tyto děje jsou doprovázeny vazokonstrikcí periferních částí těla (příčemž například oběh křídel je zcela odstaven) (Horáček 1986). Během doby spánku jsou sniženy imunitní funkce (Bouma et al. 2010). Za strnulosti se počet cirkulujících leukocytů v krvi snižuje přibližně o 90 %. V období mezi strnulostmi se jejich množství obnovuje pouze částečně, v porovnání se stavem mimo hibernaci (*ibid.*). Do jisté míry je během strnulosti utlumeno také smyslové vnímání (Horáček 1986).

Období hibernace u netopýřů začíná v průběhu září až prosince a končí během března nebo dubna (Daan 1973). Zimní spánek může být dlouhý kolem 6–8 měsíců (Webb et al. 1996). Trvání nepřetržitého stavu strnulosti však zřídka bývá větší než 14 dní (Altringham 2011) a za celé období spánku se netopýři mohou probudit přibližně 5–15krát (Průcha a Hanzal 1989) na 1–2 hodiny (někdy i delší dobu) (Brownlee-Bouboulis et al. 2013). Zajímavé je, jak se během hibernace mění výskyt probouzení vzhledem k denní době. Mnohá pozorování ukázala, že většina osazenstva zimoviště se ze začátku hibernace budí se soumrakem. Postupem času se tento rytmus narušuje a přibývá počet probouzení v denních hodinách. Ke konci hibernace se probouzení znovu soustřeďují do času soumraku (Daan 1973; Hope a Jones. 2013).

Samotné probouzení probíhá tak, že se nejprve začne zvyšovat srdeční tep a frekvence dýchání. Krevní oběh se zrychluje a krev je proháněna skrze hnědou tukovou tkáň, kterou mají netopýři za hlavou mezi lopatkami. V tukových buňkách této tkáně je vysoký počet mitochondrií a dochází zde k velké produkci tepelné energie, která se krví roznáší do celého těla. Ke zrychlení zahřívání těla se může přidat i svalový třes. Už v průběhu 10–30 minut může být netopýr plně aktivní (Altringham 2011). Překonání tohoto přibližně 30stupňového teplotního rozdílu je velice energeticky nákladné. Je však zřejmé, že i přes vysoké náklady jsou pravidelná probouzení pro netopýry důležitá. Příčiny přerušování strnulosti mohou být druhově specifické a nejsou vždy zcela objasněny (Boyles et al. 2006). Vliv na vyvolání probouzení bude mít změna okolní teploty, která ovlivňuje rychlost metabolismu (se vzrůstající teplotou je rychlost vyšší). Metabolická nerovnováha může vyústit v nutnost vyloučení odpadních látek (*ibid.*). Nedostatečná vlhkost spojená s vypařováním vody z povrchu těla může pudit netopýra k probouzení za účelem doplnění vody pitím (Altringham 2011). Podstatným

důvodem přerušení strnulosti by také mohlo být obnovení imunitních funkcí nebo doplnění spánkového deficitu (Boyles et al. 2007).

Celkový výdej energie v době mezi periodami strnulosti se odvíjí od mnoha faktorů. Jsou jimi například teplota okolí, přítomnost v seskupení jedinců či délka přerušování strnulosti. Samozřejmě záleží i na aktivitách, které netopýři během této doby provozují. Tyto zahrnují přelety v rámci zimoviště i mezi zimovišti, které jsou podněcované měsíčními se podmínkami prostředí. Dále to mohou být již zmiňované aktivity vycházející z uspokojování fyziologických potřeb, a to pití, vylučování a spánek. Netopýři také pečují o svou srst a pokožku. Doloženo je i páření (Daan 1973; Thomas et al. 1979) a lovení potravy, které je podmíněno klimatickými poměry, konkrétním druhem i stavem tukových zásob konkrétního jedince (Daan 1973; Park et al. 2000).

Hibernační strategie jednotlivých druhů udávají, zda netopýři ve spánku visí volně na stěnách jeskyně, jsou ukrytí v puklinách, shromažďují se do skupin nebo tyto možnosti různě kombinují. Významným rysem hibernace některých druhů je zmiňované seskupování. Jedinci, ať už stejného druhu nebo různých druhů, se v závislosti na okolních podmínkách (dost možná i na sociálních aspektech) shlukují do různě početných skupin (klastřů). Čím jsou podmínky prostředí pro netopýry horší (nižší teplota, vlhkost, větší proudění vzduchu), tím jsou klastry početnější a jejich výskyt je četnější (Boratyński et al. 2012). Tvoření skupin je způsobem, jak předcházet zvýšenému vypařování vody z tělního povrchu (*ibid.*) a už pouze malá seskupení výrazně snižují výdej energie v průběhu strnulosti i při synchronním probouzení a přispívají tak k vyšší pravděpodobnosti přežití hibernujících netopýřů (Twente 1955; Brown 1999; Boyles a Brack 2009). Vzájemný blízký kontakt jedinců v klastrech však může být také rizikem při přenosu infekčních chorob. V intenzitě využívání seskupování nalézáme mezikontinentální rozdíly. Severoameričtí netopýři často zimují ve velmi početných agregacích (stovky až tisíce jedinců). V Evropě se setkáváme s něčím podobným velice zřídka. Netopýři tu tvoří většinou jen malé skupiny (o početnosti v řádu desítek a stovek jedinců, velmi vzácně tisíců jedinců) (Wibbelt et al. 2010).

1.2.2 Vliv faktorů zimoviště na chování netopýřů

Zimovištěm je v tomto případě myšlen prostor jeskynního typu. Netopýři mohou na zimu osídlivat buď přirozeně vzniklé jeskyně, nebo člověkem vybudovaná stará nebo opuštěná důlní díla, podzemní chodby či sklepení. Tyto prostory poskytují větší či

menší stabilitu podmínek, která se týká hlavně teploty a vysoké vzdušné vlhkosti, které jsou pro úspěšnou hibernaci velice podstatné. Podle teploty, vlhkosti a proudění vzduchu, které všechny souvisí s řadou dalších charakteristik, si netopýři druhově specificky vybírají zimoviště i konkrétní umístění v něm (např. Twente 1955; Webb et al. 1996; Altringham 2011).

Pomineme-li geologický charakter podloží, podmínky v jeskynním zimovišti dále ovlivňují lokalizace zimoviště, dynamika komunikace s vnějším prostředím nebo morfologické a hydrologické poměry (Sládek 2009). Konkrétně to mohou být například nadmořská výška, expozice vchodu ke světovým stranám, délka a členitost chodeb, počet vchodů, přítomnost průtokové či stacionární vody. Tyto a další znaky podmiňují stabilitu jeskynního mikroklimatu a celkový charakter zimoviště.

Pro netopýry je jedním z nejdůležitějších faktorů zimoviště teplota. Její rozložení je dáno charakterem podzemních prostor a mění se v čase v závislosti na venkovní teplotě (Nováková 2011). Přes léto jeskyně nasaje teplý vzduch a v zimě dochází k postupnému ochlazování, které je tím rychlejší, čím je jeskyně vzdušně dynamičtější (Daan 1973). Zadní části jeskyní jsou přitom v zimě stabilnější a teplejší než ty blíže vchodu (Vanderwolf et al. 2012). Ne všechny jeskyně vyhovují účelům hibernace. Některé nemusí udržet během zimy potřebné teplotní podmínky a mohou promrzat. Výzkumy ukázaly, že početnost netopýrů na zimovišti negativně koreluje s průměrem a rozpětím teplot ve stabilnější části zimoviště (definováno jako zóna, kam už nedopadá světlo) (*ibid.*). Většině netopýrů vyhovují teploty v rozmezí 2–10 °C (Glover 2006). Chladnomilné druhy budou po většinu času hibernace upřednostňovat chladnější místa jeskyně a teplomilnější naopak (Daan 1973). Některé druhy se na začátku hibernace zdržují v teplejších zadních částech zimoviště a v průběhu zimy se přesouvají blíže ke vchodu, kde bývá chladněji (Daan 1973; Hanzal a Průcha 1988). Je to způsobeno tím, že tyto netopýři na konci zimy potřebují maximálně šetřit se zbytky energie, a proto volí chladnější teplotní podmínky, aby se jejich metabolismus co nejvíce zpomalil a snížila se frekvence probouzení (*ibid.*). Ve spojitosti s tímto vzorcem přesouvání byly zaznamenány i změny ve využívání úkrytů. Počáteční převaha volně visících jedinců na teplejších místech se měnila v častější využívání skrytého zimování ve štěrbinách chladnějších partií blíže vchodu (*ibid.*). Je zřejmé, že schováváním do štěrbin se jedinci v méně stabilních prostorech chrání proti kolísání okolních podmínek (Daan 1973). Zjistilo se dále, že na chladnějších místech netopýři vytváří větší množství klastrů a po více jedincích (Daan 1973; Hanzal a Průcha 1988; Boratyński et al. 2012). Snižování

teplot zimoviště obecně působí prodlužování doby strnulosti a minimalizaci probouzení (Boyles at al. 2007). Naopak s rostoucí teplotou bylo v oblastech mírnějšího klimatu vysledováno značné zvýšení aktivity netopýrů, které se vysvětluje příležitostí lovení potravy za příhodných teplých nocí (Hope a Jones 2013).

Existuje poněkud méně studií, které by se zabývaly nejen teplotou, ale i vlivem dalších charakteristik zimovišť na netopýry. Glover (2006) ve výsledcích své práce uvádí zjištěné korelace mezi některými vlastnostmi zimoviště a mírou netopýří aktivity. Pozitivní korelace zde byla prokázána s délkou jeskyně, její členitostí a se stupněm vystavení vchodu vnějším vlivům (větru a srážkám). Aktivita netopýrů dále korelovala negativně s hydrologickým režimem (jeskyně byly děleny na primárně sušší a vlhčí). Jako nekorelující proměnné byly vyhodnoceny velikost vchodu, jeho orientace (vertikální či horizontální) a konektivita (daná přítomností propojovacích krajinných prvků v blízkosti vchodu). Podle výzkumů Vanderwolf et al. (2012), které se zabývají početností netopýrů na zimovišti, nebyl shledán vliv délky jeskyně na množství netopýrů. Průkazný však byl vztah mezi počtem hibernujících netopýrů a přítomností tekoucí vody, která způsobuje kolísání podmínek jeskynního prostředí. Průkazně více jedinců navštěvovalo zimoviště bez tekoucí vody.

Svůj vliv na podmínky zimoviště a hibernující netopýry má i lidská činnost. Může mít podobu technických zásahů nebo různé míry návštěvnosti. K omezení nežádoucích návštěv zimoviště a z důvodu bezpečnosti bývají jeskynní vchody opatřovány mříží. Takto zabezpečený vchod se také může podílet na změně mikroklimatu jeskyně, a to omezováním proudění vzduchu a potenciálním dopadem na chování netopýrů. Jak velké je působení mříží, je ale otázkou, která není dosud dostatečně prozkoumána (Glover 2006). Více patrné jsou účinky lidských návštěv zimovišť a rušení netopýrů. Zvýšená, zejména turistická, návštěvnost jeskyní má vliv na proudění vzduchu a jeho teplotu (Sládek 2009). Četná lidská vyrušování na zimovišti mají silný vliv na přežití hibernujících jedinců (Boyles a Brack 2009).

Netopýři jsou do určité míry věrni konkrétním zimovištím i přesnému umístění v jeskyni. Bylo dokonce zjištěno, že netopýr může k hibernaci v určitém sledu pravidelně využívat dvě nebo tři vyhovující místa (Daan 1973). Jeskyně však nejsou striktně využívány pouze v zimním období hibernace. S odlišnou intenzitou jsou netopýry navštěvovány celoročně (Berková a Zukal 2004).

2 Cíle práce

Syndrom „bílého nosu“ (WNS) je naléhavým problémem ohrožujícím populaci severoamerických letounů. Hlubší pochopení vlivů na výskyt patogenní plísně u hibernujících netopýrů a na míru jejího působení by mohlo pomoci k řízenému zmírnění dopadů onemocnění. Charakter zimoviště je pravděpodobně jedním z důležitých faktorů, který se podílí na rozšíření a působení patogenu.

K cílům této práce patří:

- 1) Vytvoření rešerše věnované dosavadním vědeckým poznatkům týkajících se nedávno objeveného onemocnění WNS a vlivů faktorů zimoviště na hibernující netopýry.
- 2) Sestavení databáze českých zimovišť ve spolupráci se členy ČESON, obsahující charakteristiky jednotlivých zimovišť včetně údajů o výskytu porostů plísně *Pseudogymnoascus destructans* a prevalence jejího výskytu u *Myotis myotis*.
- 3) Jednoduché statistické zpracování údajů o přítomnosti a míře napadení plísní a charakteristikách zimovišť se záměrem nalezení možných vztahů či souvislostí. Z výsledků budou pro další vědeckou činnost odvozeny testovatelné hypotézy charakterizující vztah mezi prevalencí výskytu plísně a charakteristikami zimoviště.

Lze předpokládat, že prevalence výskytu plísně bude souviset s charakteristikami zimovišť, které nějakým způsobem ovlivňují udržování vyšší teploty a vlhkosti. Pro růst plísně jsou tyto podmínky více vyhovující. Dále je možné odhadovat, že se v zastoupení napadených jedinců budou lišit přirozeně vzniklé jeskyně od uměle vytvořených štol nebo sklepů. Celkový charakter těchto typů zimovišť se může v mnohém lišit a s ním i podmínky pro působení plísně.

Rozsah databáze daných charakteristik netopýřích zimovišť pokrývající téměř celou ČR nemá v rámci Evropy obdoby. Není to také pouze morfologický popis zimovišť, ale je zde kladen důraz na biologický význam jednotlivých charakteristik. Zpracování této databáze by tak mohlo přinést velice cenné výsledky.

3 Materiál a metody

3.1 Tabulka charakteristik zimovišť

V této práci vyhodnocuji databázi určitých charakteristik zimovišť, jež byly navrženy kolektivem odborníků v rámci projektu Adaptace netopýrů na plísňové onemocnění geomykózu (navrhovatelka projektu Mgr. Natália Martínková, Ph.D.). Na projektu se podílí tyto instituce: Ústav biologie obratlovců AV ČR, Mikrobiologický Ústav AV ČR, Karlova univerzita v Praze, Masarykova univerzita, Veterinární a farmaceutická univerzita Brno.

3.1.1 Přehled a popis charakteristik zimovišť

Tabulka obsahuje proměnné, které souvisí nebo by mohly nějakým způsobem souviset s prevalencí napadení plísní *Pseudogymnoascus destructans*, původcem onemocnění WNS. Proměnné byly rozděleny do tří skupin. První (skupina A) popisuje obecně samotný prostor zimoviště a jeho abiotické podmínky. Druhá část proměnných (skupina B) charakterizuje morfologii vchodu zimoviště. Třetí skupina proměnných (skupina C) poskytuje informace o společenstvech zimujících netopýrů.

V tabulce je zahrnuto celkem 28 charakteristik rozdělených do tří skupin:

A. Popis morfologie a podmínek zimoviště

- Nadmořská výška vchodu zimoviště (nížiny / pahorkatiny / vrchoviny a výše)
„Nížiny“ jsou pro podmínky v ČR vymezeny výškou 0–200 m n. m., „pahorkatiny“ výškou 201–600 m n. m. a zimoviště s nadmořskou výškou překračující 600 m jsou řazena do kategorie „vrchoviny a výše“.
(V případě většího počtu vchodů do podzemního systému je popisován pouze jeden hlavní vchod, využívaný přednostně lidmi i netopýry. Stejně je tomu tak i u ostatních proměnných týkajících se vchodů.)
- Relativní výška nad okolním terénem (dno údolí / střední výška / vysoko nad údolím)
Relativní výškou je zde rozdíl mezi nadmořskou výškou vchodu zimoviště a nadmořskou výškou dna údolí. Kategorie „dno údolí“ je volena do 15 m výšky. Relativní výška 16–50 m je brána jako „střední výška“. „Vysoko nad údolím“ je zimoviště s relativní výškou nad 50 m.

- Počet vchodů (jeden / dva / více než dva)

Rozumí se počet známých a pro člověka přístupných vchodů. Rozdělení kategorií může potažmo odpovídat dynamice proudění: malá (1 vchod), střední (2 vchody) a vysoká (více než 2 vchody) dynamika.
- Denivelace (mělké / střední / hluboké zimoviště)

Výškový rozdíl mezi nevyšším a nejnižším místem podzemních prostor. Do 5 m denivelace je zimoviště bráno jako „mělké“, rozmezím 6–20 m jsou dána zimoviště se „střední“ denivelací a „hluboké“ prostory určují denivelace větší než 20 m.
- Délka podzemních prostor (krátké / střední / velké komplexy)

Zaznamenávala se maximální známá délka zimoviště. „Krátké“ jsou prostory do 50 m délky. Za „střední“ délku je považováno 51–200 m. Nad 200 m spadá zimoviště do „velkých komplexů“.
- Morfologie zimoviště (chodba / členitá / propast / šachta / kombinovaná)

Jako „chodba“ je označeno jednoduché zimoviště bez význačnějších odboček. Pokud mělo zimoviště rozvětřující se chodby, patřilo do kategorie „členitá“. Vertikální jeskyně typu aven s nepravidelným podélným i příčným profilem byla řazena do kategorie „propast“. „Šachta“ je vertikální jeskyně s měnícím se příčným profilem. Pokud nelze jeskyni jednoznačně přiřadit k žádnému z předchozích typů, spadá do kategorie „kombinovaná“.
- Vodní režim (neaktivní / periodická / průtoková / stojatá)

Zimoviště je „neaktivní“, pokud se v něm nenachází voda ani za vyšších vodních stavů. Je-li za vyšších vodních stavů zaplavované, je řazeno do kategorie „periodická“. „Průtoková“ zimoviště jsou protékána i za normálních vodních stavů, případně mohou být trvale vyplněna tekoucími vodami. Podzemní prostory s trvalými stagnujícími vodami náleží do kategorie „stojatá“.
- Přítomnost štěrbinovitých úkrytů (ano / ne)
- Převažující výškový profil podzemních prostor (do 2 m / do 5 m / do 10 m / nad 10 m)
- Převažující šířkový profil podzemních prostor (do 2 m / do 5 m / do 10 m / nad 10 m)

- Proudění vzduchu (statická / mírně dynamická / dynamická)
Zimoviště bez proudění vzduchu jsou „statická“. Pokud jsou změny v proudění vzduchu mírné, jsou „mírně dynamická“. Při významných změnách v proudění uvnitř podzemních prostor jsou „dynamická“.
- Mikroklima (chladné / teplé zimoviště)
Určeno jakýmkoli naměřenými teplotami v období od prosince do přelomu února a března, které byly následně zprůměrovány. Zimoviště o průměrné teplotě do 5 °C je bráno jako „chladné“, nad 5 °C jako „teplé“.
- Využívání zimoviště (volně přístupná / turisticky přístupná / nepřístupná / speleologická činnost)
- Část z celkové délky podzemních prostor, která je v zimě kontrolována (menší část / větší část / celé)
„Menší část“ znamená do 40 % délky, „větší část“ rozmezí 41–80 % a nad 80 % délky je zimoviště považováno za „celé“ zkontrolované.
- Část z celkové délky podzemních prostor využívaná netopýry (menší část / větší část / celé)
„Menší část“ zimoviště je brána do 40 % délky, „větší část“ rozmezí 41–80 % a nad 80 % délky je zimoviště využívané téměř „celé“.

B. Morfologie vchodu zimoviště

- Převažující rozměr vchodu (šířka / výška / kruh / čtverec)
- Celková plocha vchodu (malý / střední / velký / velmi velký vchod)
Do 1 m² je vchod „malý“, od 1 do 3 m² „střední“. „Velký“ vchod má od 3 do 7 m² a „velmi velký“ nad 7 m².
- Zapojenost vchodu (nezapojený vchod / zapojený částečně v lesním porostu / zapojený v lesním porostu)
„Nezapojený“ je vchod s absencí zeleně ve své blízkosti (např. vchod v lomu). Pokud se v nejbližším okolí nachází rozvolněná zeleň, je „částečně zapojený“. Vchod je „zapojený v lesním porostu“, když je hustě obklopen stromy.
- Expozice vchodu (S / J / V / Z / SV / JV / JZ / SZ / vertikální vyústění vchodu)
- Expozice vchodu vzhledem k okolní krajině (svah / údolí / vrchol kopce)

- Typ vletového otvoru (vchod / šířka do 30 cm / šířka nad 30 cm / kruh do 30 cm / vertikální mříž / horizontální mříž)

Kategorie „vchod“ je zvolena, když se vletový otvor shoduje se vchodem do zimoviště, který není nijak dále upraven.

C. Vlastnosti společenstva netopýrů v zimovišti

- Agregace netopýrů (ano / ne)

Přítomnost větších skupin zimujících netopýrů.

- Agregace u netopýra velkého (*Myotis myotis*) (ano / ne)
- Velikost největší agregace u netopýra velkého (*Myotis myotis*)
- Počet druhů zimujících netopýrů

Údaje zjištěné při sčítání v zimě 2010/2011.

- Celkový počet zimujících netopýrů

Údaje zjištěné při sčítání v zimě 2010/2011.

- Přítomnost porostu plísně *Pseudogymnoascus destructans* (ano / ne)

Údaje zjištěné během let 2010–2013 při speciálních jarních kontrolách (konaných podle vývoje zimy v březnu až dubnu). Porosty plísně na netopýrech byly sledovány vizuálně na vzdálenost maximálně 2 m. Při větší vzdálenosti hibernujícího netopýra nebyla přítomnost či nepřítomnost určena.

- Prevalence přítomnosti plísně u netopýra velkého (*Myotis myotis*) (v procentech)

Údaje zjištěné během let 2010–2013 při speciálních jarních kontrolách. Hodnoceno vizuálně pouze na jedincích do vzdálenosti přibližně 2 m. Vzdálenější jedinci nebyli klasifikováni. Prevalencí je tedy procentuální zastoupení jedinců s přítomností porostů plísně z celkového počtu kontrolovatelných netopýrů druhu *M. myotis*.

3.1.2 Sběr dat a celkový počet lokalit

Doplňování dat do tabulky charakteristik zimovišť probíhalo za přispění členů České společnosti pro ochranu netopýrů (ČESON), kteří se pravidelně účastní každoročních sčítání na netopýřích zimovištích. Se sčítateli jsem komunikovala elektronickou poštou nebo jsem se s nimi scházela osobně a s vyplňováním tabulky jim pomáhala. Nezprostředkovávala jsem získání všech dat obsáhlé databáze, značná část byla

shromážděna lidmi začleněnými do projektu Adaptace netopýrů na plísňové onemocnění geomykózu.

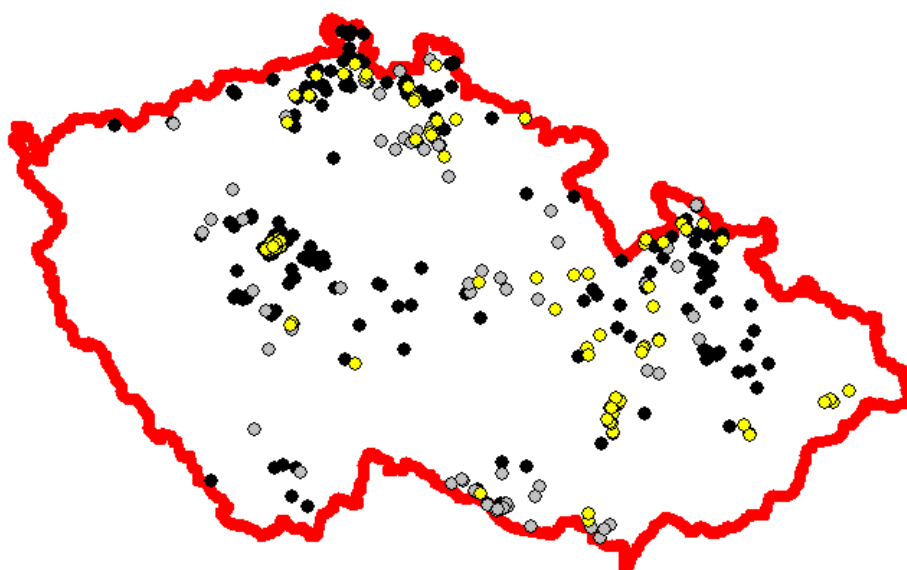
Celá databáze čítá 466 zimovišť ČR (obr. 4). Jedná se o většinu významnějších a pravidelně kontrolovaných českých zimovišť. Podle svého typu jsou zimoviště rozdělena do 3 skupin: (1) přirozeně vzniklé jeskynní komplexy (dále jen jeskyně), pod které spadá 111 lokalit, (2) člověkem vytvořená zimoviště (štoly, šachty, stará důlní díla, tunely apod.) (dále jen štoly) zahrnující 275 lokalit a (3) sklepy (kategorie zvláště vyčleněná z antropogenních zimovišť pro svůj specifický charakter) čítající 80 lokalit.

3.2 Zpracování dat

Pro zpracování dat jsem využila programy Microsoft Office Excel 2007 a NCSS 2007. Mapa zimovišť byla vytvořena v programu JanMap 2.6.4.

Nasbíraná data nejdříve měla charakter kategoriálních i kvantitativních proměnných. Pro všechny proměnné skupiny A a B (týkající se prostoru samotného zimoviště a vchodů) byly následně vytvořeny kategorie (definování jednotlivých kategorií je podrobně uvedeno v podkapitole 3.1.1). Pro účely vyhodnocování byla tato data následně převedena do podoby přítomnosti/absence (1/0) daného znaku. Proměnné popisující charakter netopýřího společenstva (skupina C) jsem ponechala v původní podobě (tj. nesjednoceně v kategoriální i kvantitativní podobě).

Pro tři jednotlivé typy zimovišť (jeskyně, štoly, sklepy) jsem vytvořila sloupcové diagramy ke každé charakteristice zimoviště (proměnné části A a B), popisující



Obr. 4: Zimoviště zahrnutá ve zpracovávané databázi (466 zimovišť). Žlutě: jeskyně, černě: štoly, šedě: sklepy (mapový podklad © ČÚZK)

procentuální zastoupení jednotlivých kategorií dané proměnné. Charakteristiky týkající se netopýřího osídlení (část C) jsem u kategoriálních proměnných popsala procentuálním zastoupením kategorií zaneseným do tabulky. U kvantitativních dat jsem nejprve zjišťovala normální rozložení. Protože normalita dat nebyla ani u jedné z proměnných prokázána, popsala jsem je mediány a mezikvartilovým rozpětím. U prevalence výskytu plísně na *Myotis myotis* a velikosti největší agregace jsem z dat před výpočty vyjmula nulové hodnoty a docílila tím popisu pouze těch zimovišť, kde se daný znak vyskytoval.

Obdobně jsem postupovala u popsání zimovišť při rozdělení podle přítomnosti *P. destructans* na: (1) zimoviště s přítomností plísně, (2) bez přítomnosti plísně a (3) všechna zimoviště celkem. Vytvořila jsem sloupcové diagramy pro proměnné části A a B (popis prostředí zimoviště a vchodů) a tabulky popisující netopýří společenstvo (proměnné části C).

Dále jsem zjišťovala, zda koreluje prevalence výskytu plísně na *M. myotis* s vybranými kvantitativními charakteristikami zimoviště (nadmořská výška, celkový počet zimujících netopýřů, počet druhů zimujících netopýřů, velikost největší agregace *M. myotis* a kontrolovaná část zimoviště). K analýzám jsem použila neparametrický Spearmanův korelační koeficient, protože data nesplňovala podmínky k použití parametrického testu. Zohledňovala jsem 5% hranici hladiny významnosti.

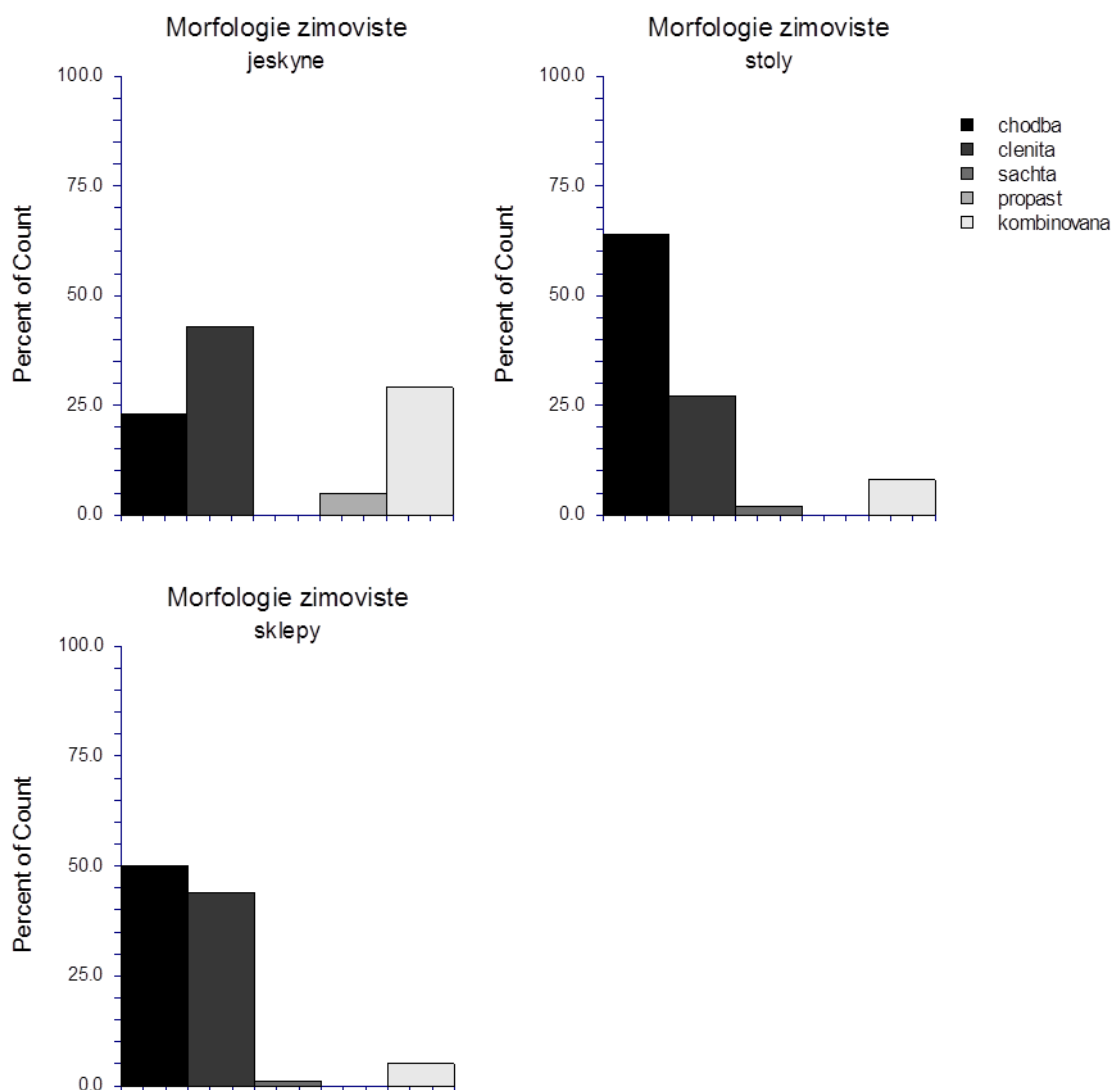
4 Výsledky

4.1 Popis typů zimovišť

V této části výsledků se zaměřím na zjištěné rozdíly v zastoupení kategorií jednotlivých charakteristik u tří typů zimovišť: (1) jeskyně, (2) štoly, (3) sklepy. Prezentovány tu budou pouze vybrané charakteristiky zimovišť, které ukazují na zajímavé souvislosti, které v budoucnu umožní testovat některé v závěru navrhované hypotézy.

A. Popis morfologie a podmínek zimoviště

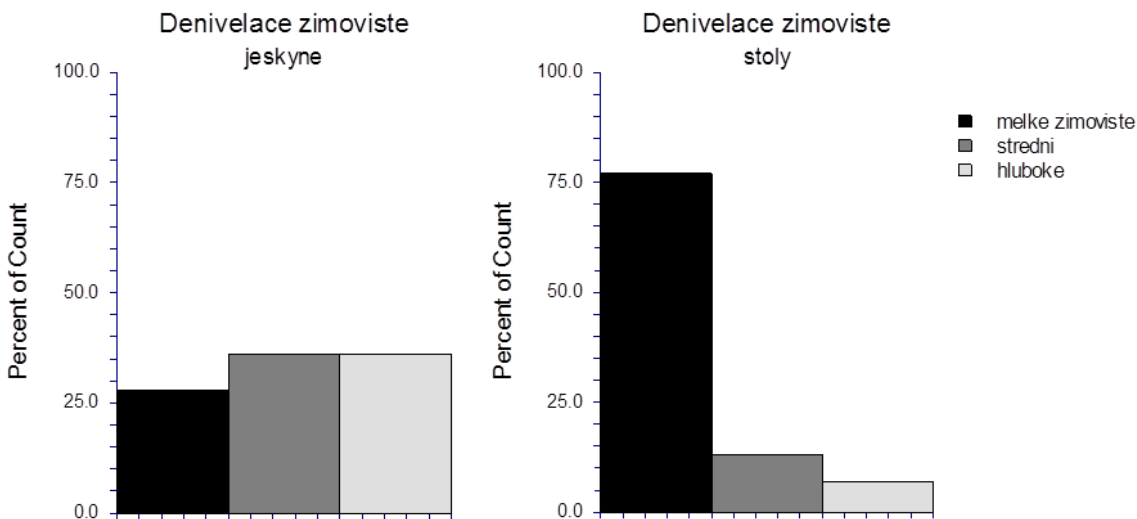
Dle zde použitých kategorií nadmořské výšky spadá naprostá většina jeskyní (téměř 90 %) a sklepů (95 %) do poloh pahorkatin. U štol jsou oproti jeskyním a sklepům více zastoupeny (z 20 %) vrchoviny a vyšší nadmořské výšky (viz obr. I v příloze B). Typy



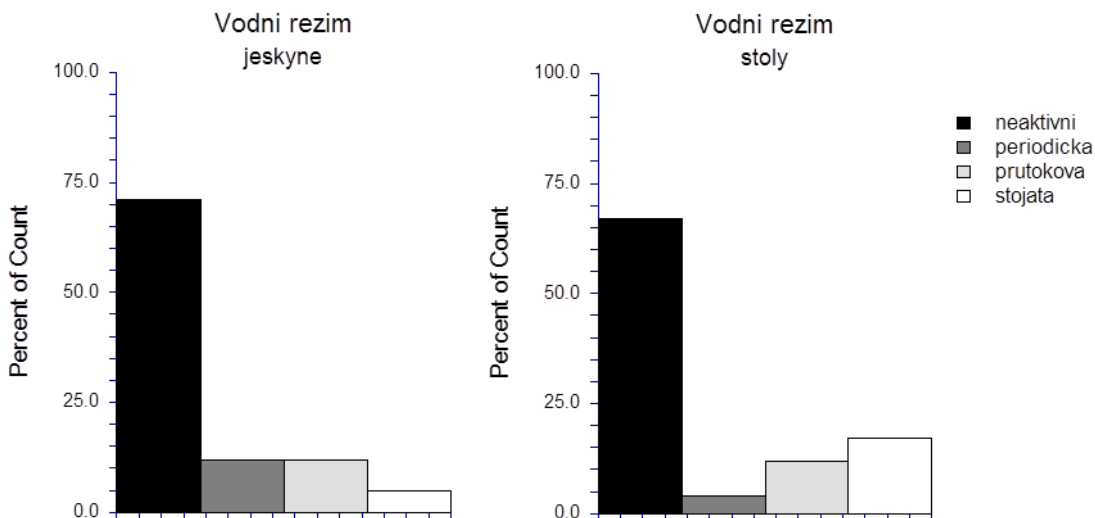
Obr. 5: Zastoupení kategorií morfologie zimovišť u jeskyní, štol a sklepů

zimovišť se nepatrně liší i v relativní výšce vchodu vzhledem k okolí. U všech typů převažují vchody s polohou u dna údolí a nejméně často se nacházejí vysoko nad údolím. U sklepů je podíl vchodů vysoko nad údolím o něco menší než u jeskyní a štol (viz obr. I v příloze B).

Z hlediska morfologie se od dvou antropogenních typů zimovišť odlišují prostory přirozeně vzniklých jeskyní. Jsou členitější a prostorově komplikovanější (obr. 5). Oproti štolám a sklepům jsou mezi jeskyněmi mnohem častěji delší a prostornější komplexy (viz obr. 6 a obr. II v příloze B). Štoly jsou nejčastěji chodby bez význačnějších odboček a s nevýraznou denivelací. U sklepů jsou z 50 % zastoupeny jednoduché chodby a přibližně z 50 % chodby s odbočkami (kategorie členitá). Prostory sklepů jsou povětšinou krátké a mělké (obr. 5 a obr. III v příloze B).

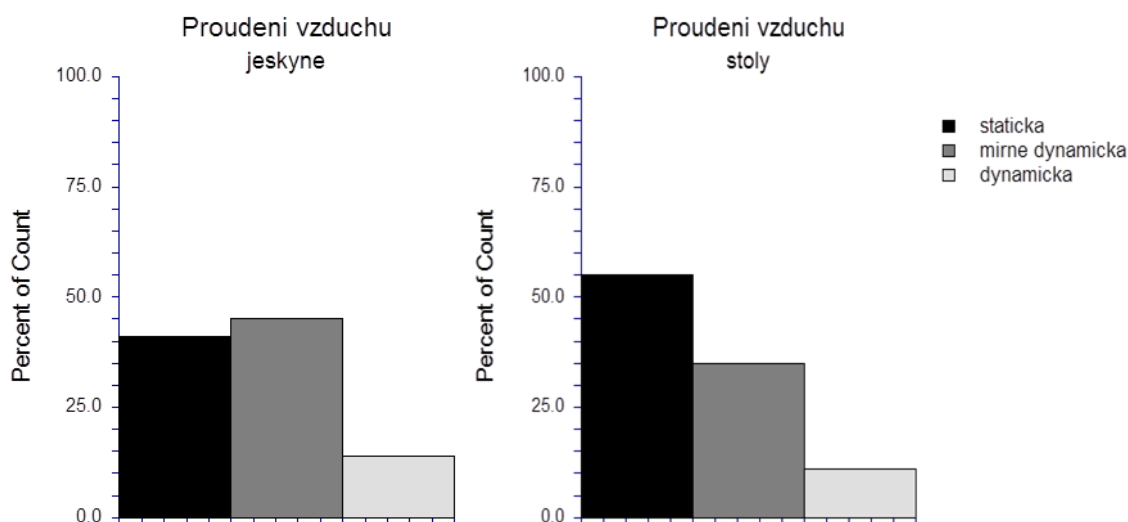


Obr. 6: Zastoupení kategorií denivelace zimovišť u jeskyní a štol

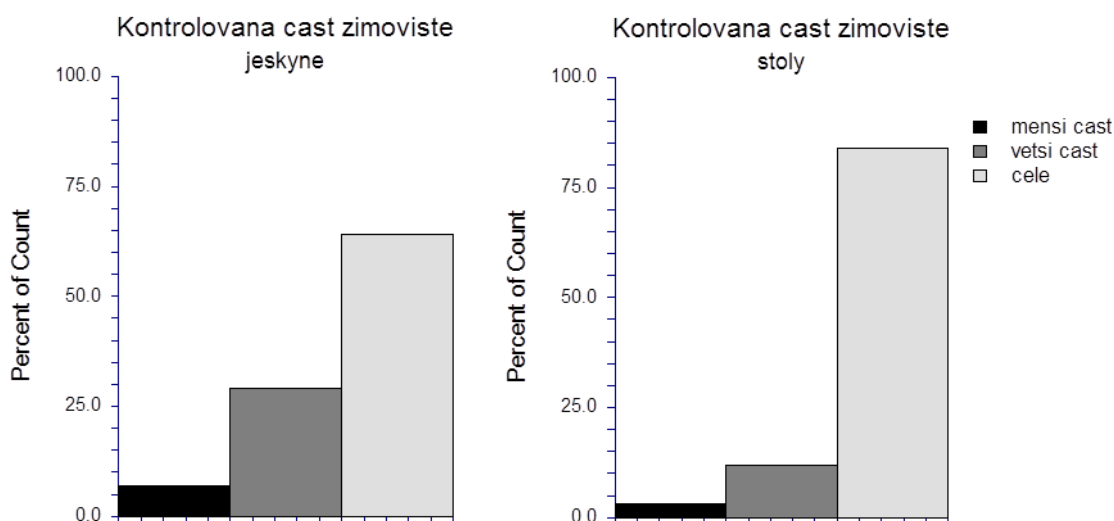


Obr. 7: Zastoupení kategorií vodního režimu u jeskyní a štol

Jednotlivé typy zimovišť se liší hydrologickými a mikroklimatickými podmínkami. Téměř 75 % jeskyní i štol je hydrologicky neaktivních. Hydrologicky aktivní jeskyně a štoly se liší ve výskytu stojatých a periodických vod. U jeskyní je častější periodický vodní režim, kdežto u štol se setkáme více se stacionárními vodami (obr. 7). Ve sklepech zcela dominuje neaktivní vodní režim (viz obr. III v příloze B). Proudění vzduchu v jeskyních má převážně mírně dynamický až dynamický charakter. Štoly jsou naproti tomu statictější a podobně je tomu i u sklepů (viz obr. III v příloze B a obr. 8). Rozdíly v teplotě nejsou mezi druhy zimovišť tolik výrazné. Celkově převažují teplá zimoviště a jejich poměr je největší u jeskyní a štol (přibližně 70 %). U sklepů je podíl teplých zimovišť menší (teplé mikroklima má 60 % sklepů) (viz obr. II v příloze B).



Obr. 8: Zastoupení kategorií proudění vzduchu u jeskyní a štol



Obr. 9: Zastoupení kategorií týkajících se kontrované části zimoviště u jeskyní a štol

Odlišnosti mezi zimovišti jsou i v možnosti kontroly podzemních prostor. Celkově se zimoviště kontrolují převážně celá. U přirozeně vzniklých jeskyní je však častější omezení v kontrole jen na větší či menší část zimoviště (obr. 9). Sklepy jsou naproti tomu podrobeny úplné kontrole v naprosté většině. U štol je tomu podobně, ačkoli se zde setkáme s kontrolou pouze omezené části více než u sklepů.

B. Morfologie vchodu zimoviště

Vchody sklepů jsou téměř z 50 % nezapojené, kdežto u jeskyní a štol je vchod většinou částečně nebo úplně zapojen v lesním porostu (viz obr. IV v příloze B). Také plochou vchodu se sklepy liší od štol a jeskyní, kdy převažuje kategorie střední velikosti a najdeme zde méně plochou velkých vchodů (viz obr. IV v příloze B).

C. Vlastnosti společenstva netopýrů v zimovišti

Charakter netopýřího společenstva na zimovištích se různí početností zimujících netopýrů. V jeskyních zimuje více netopýrů než ve štolách a sklepech. V druhové rozmanitosti netopýrů nenalzááme výrazné rozdíly mezi jeskyněmi a štolami. O něco méně druhově bohaté jsou sklepy (tab. 2).

Tab. 2: Mediány a rozpětí kvartilů (x_{25} – x_{75}) u proměnných týkajících se netopýřích společenstev pro jednotlivé typy zimovišť

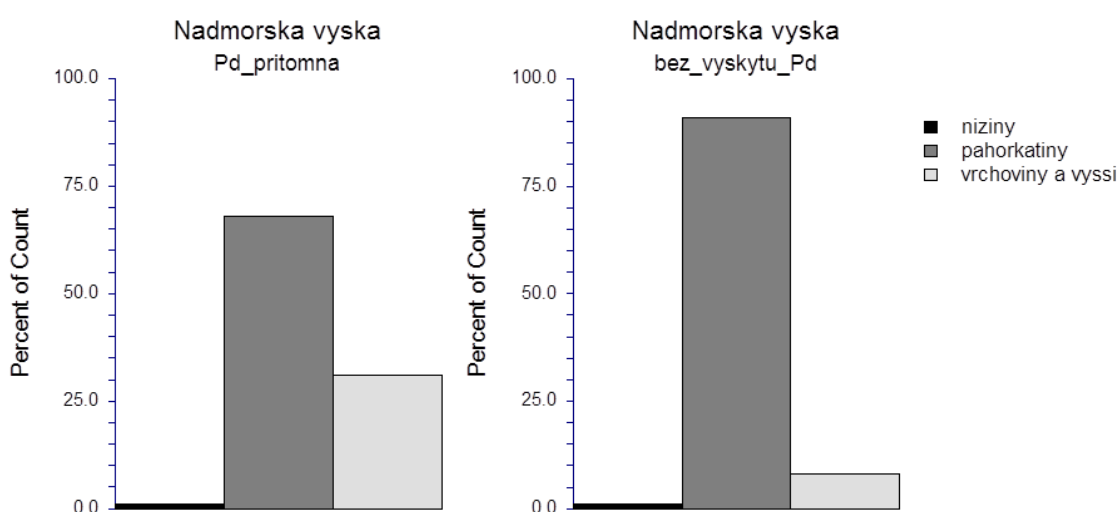
Název proměnné	Jeskyně	Štoly	Sklepy	Všechna zimoviště celkem
Celkový počet netopýrů	23 (5–92,5)	8 (3–20)	9,5 (4–21,5)	10 (3–30)
Počet druhů netopýrů	3 (1,5–4)	3 (2–4)	2 (1–3,75)	3 (1–4)
Největší agregace <i>Myotis myotis</i>	6 (3,5–14,5)	4 (3–8)	3 (2–5)	5 (3–8)
Prevalence výskytu porostu plísňe u <i>Myotis myotis</i> (v %)	17 (10–33,3)	31 (11,4–50)	25 (10–40)	29 (10–50)

Tab. 3: Procentuální zastoupení výskytu agregací a přítomnosti porostu plísňe u netopýrů na jednotlivých typech zimovišť

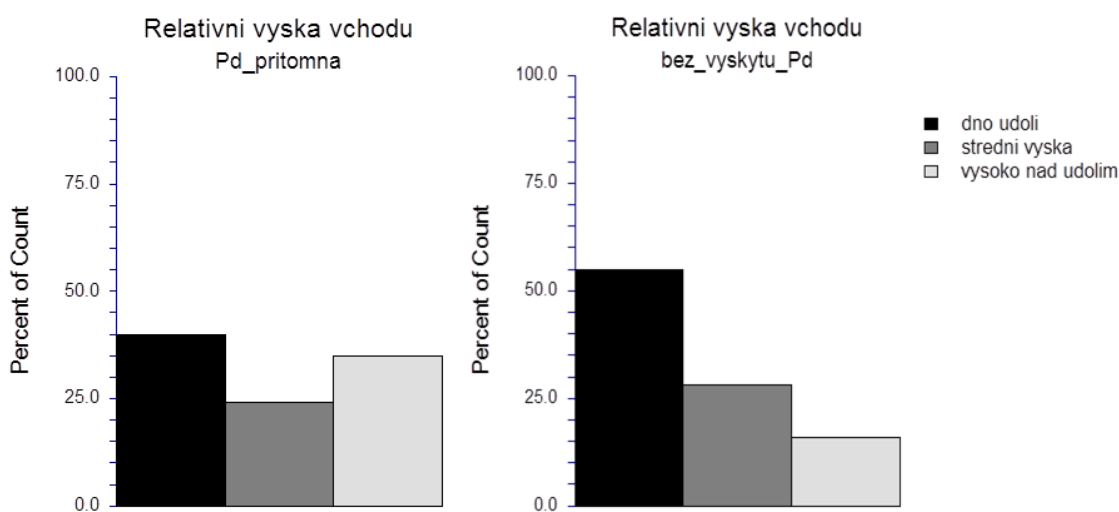
Název proměnné	Jeskyně	Štoly	Sklepy	Všechna zimoviště celkem
Přítomnost agregace netopýrů (v %)	47,8	33,1	28,8	35,8
Přítomnost agregace u <i>Myotis myotis</i> (v %)	32,4	29,5	12,5	27,3
Přítomnost porostu plísňe na netopýřech (v %)	26,9	37,8	8,8	30,3

Tvoření agregací netopýrů je nejčastější v jeskyních. Ve štolách a sklepech je výskyt nižší a vzájemně srovnatelný. Přítomnost agregací u *Myotis myotis* je méně častá u sklepů (tab. 3). Počty agregovaných jedinců druhu *M. myotis* v jednotlivých shlucích jsou největší v jeskyních (tab. 2).

Porosty plísně *P. destructans* se vyskytují v 30 % zimovišť. Nejčastější je výskyt ve štolách a nejméně častý ve sklepech (tab. 3). Prevalence přítomnosti plísně u *M. myotis* je nejvyšší ve štolách a nejnižší v jeskyních (tab. 2). (Histogramy s rozložením prevalence výskytu plísně u *M. myotis* na jednotlivých typech zimovišť jsou k nahlédnutí v příloze B, obr. V.)



Obr. 10: Procentuální zastoupení kategorií nadmořské výšky na zimovištích s přítomností a absencí *P. destructans* (*Pd*)



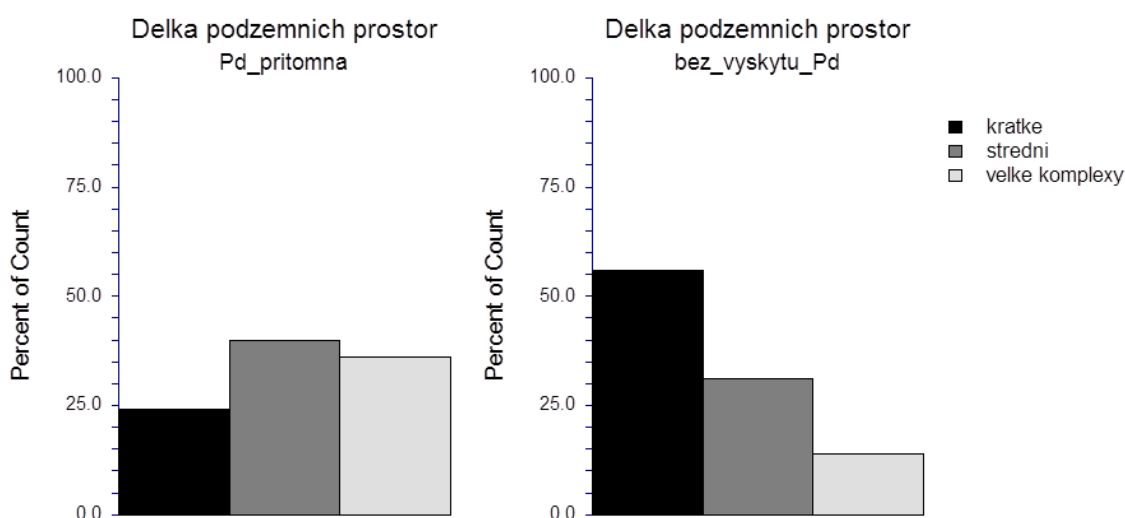
Obr. 11: Procentuální zastoupení kategorií relativní výšky vchodu vzhledem ke dnu údolí na zimovištích s přítomností a absencí *P. destructans* (*Pd*)

4.2 Rozdíly mezi zimovišti s výskytem a bez výskytu *P. destructans*

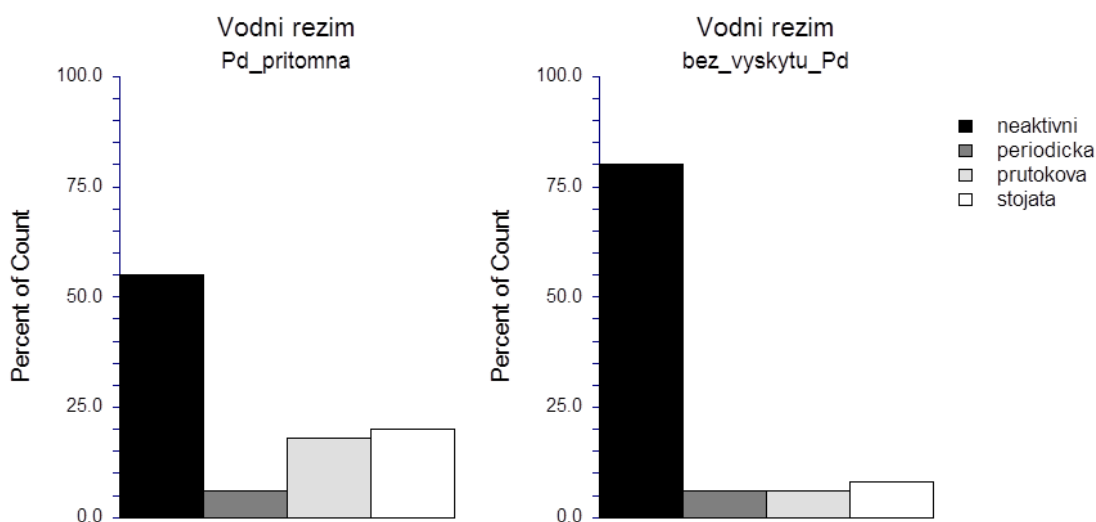
A. Popis morfologie a podmínek zimoviště

Zimoviště s výskytem *P. destructans* se častěji nacházejí ve vyšších nadmořských výškách. Přibližně 30 % těchto zimovišť najdeme v polohách nad 600 m n. m. (obr. 10). Rozdílnosti jsou i v relativní nadmořské výšce. Zimoviště nacházející se u dna údolí bývají častěji bez přítomnosti plísně na rozdíl od těch vysoko nad údolím. (obr. 11)

Z morfologických charakteristik zimovišť jsou výraznější rozdíly patrné u délky podzemních prostor. *P. destructans* se ze 75 % vyskytuje ve středně velkých až velkých



Obr. 12: Procentuální zastoupení kategorií délky podzemních prostor na zimovištích s přítomností a absencí *P. destructans* (*Pd*)



Obr. 13: Procentuální zastoupení kategorií vodního režimu na zimovištích s přítomností a absencí *P. destructans* (*Pd*)

komplexech zimovišť (obr. 12). Zimoviště s výskytem plísně se naopak výrazně neodlišují charakteristikami, jako jsou denivelace nebo morfologie zimoviště.

Zimoviště bez přítomnosti plísně jsou z 80 % hydrologicky neaktivní. Plíseň byla častěji pozorována na zimovištích, kde byla přítomna průtoková (téměř 20 %) nebo stojatá voda (20 % zimovišť) (obr. 13). Z dalších podmínek na zimovišti nemá na výskyt plísně vliv míra proudění vzduchu (viz obr. I v příloze C). Jinak je tomu u teploty pozemních prostor. Zimoviště s výskytem plísně se liší od zimovišť bez jejího výskytu četnějším zastoupením chladného mikroklimatu (viz obr. I v příloze C).

B. Morfologie vchodu zimoviště

Zimoviště se podstatně neliší v charakteristikách počet vchodů a jejich převažující rozměr či plocha (zde pouze u zimovišť s výskytem plísně nepatrně narůstá míra velmi velkých vchodů oproti zimovištím bez plísně; viz obr. II v příloze C). Určité rozdíly vidíme u zapojenosti vchodu. Zimoviště, kde byla plíseň nalezena, mají většinou částečně či úplně zapojený vchod v lesním porostu (dohromady 85 % zimovišť). Zimoviště bez výskytu plísně mají vchod častěji nezapojený (přibližně z 30 %) (viz obr. II v příloze C). Vletovým otvorem do zimovišť s výskytem plísně je z 55 % vchod chráněný mříží. Nejčastěji je to mříž vertikální (35 % těchto zimovišť). U zimovišť kde se plíseň nevyskytovala, je vletovým otvorem z 50 % vchod ničím nezabezpečený (viz obr. III v příloze C).

Tab. 4: Mediány a rozpětí kvartilů (x_{25} – x_{75}) u proměnných týkajících se netopýřího společenstva pro zimoviště s přítomností a absencí *P. destructans* (*Pd*) a pro všechna zimoviště celkem

Název proměnné	Zimoviště s přítomností <i>Pd</i>	Zimoviště bez přítomnosti <i>Pd</i>	Všechna zimoviště celkem
Celkový počet netopýřů	23 (12–60)	5 (2–15)	10 (3–30)
Počet druhů netopýřů	4 (3–5)	2 (1–3)	3 (1–4)
Největší agregace <i>Myotis myotis</i>	5 (3–8,5)	4 (2–7)	5 (3–8)

Tab. 5: Procentuální zastoupení výskytu agregací u netopýřů na zimovištích s přítomností a absencí *P. destructans* (*Pd*) a pro všechna zimoviště celkem

Název proměnné	Zimoviště s přítomností <i>Pd</i>	Zimoviště bez přítomnosti <i>Pd</i>	Všechna zimoviště celkem
Přítomnost agregace netopýřů (v %)	61,2	24,1	35,8
Přítomnost agregace u <i>Myotis myotis</i> (v %)	56,8	14,1	27,3

C. Vlastnosti společenstva netopýrů v zimovišti

Netopýří společenstvo na zimovištích s přítomností plísně bývá početnější a druhově rozmanitější (tab. 4). Netopýři se zde častěji seskupují. Stejně je tomu i v případě, že sledujeme pouze druh *M. myotis*. V zimovištích s výskytem plísně jsou agregace jedinců *M. myotis* častější a početnější (tab. 4 a 5).

4.3 Závislost prevalence výskytu plísně na vybraných proměnných

Korelační analýzy ukázaly, že prevalence napadení plísní u *M. myotis* koreluje s nadmořskou výškou. Prevalence dále koreluje s celkovým počtem zimujících netopýrů a s počtem druhů netopýrů na zimovišti. Závislost naopak nebyla prokázána mezi prevalencí a velikostí největší agregace u *M. myotis*. Prevalence napadení nekoreluje ani s velikostí kontrolované části zimoviště (tab. 6).

Tab. 6: Výsledky testování korelace prevalence výskytu porostu *P. destructans* (*Pd*) u *Myotis myotis* s vybranými proměnnými (signifikanční údaje jsou tučně zvýrazněné)

Název proměnné	r_s	P
Nadmořská výška	0,34	<0,001
Celkový počet netopýrů	0,40	<0,001
Počet druhů netopýrů	0,37	<0,001
Velikost největší agregace u <i>Myotis myotis</i>	0,11	0,177
Kontrolovaná část zimoviště	0,02	0,647

5 Diskuze

Plísňové onemocnění white-nose syndrome (WNS) je nově objevená choroba, která postihuje hibernující netopýry. U populací severoamerických netopýrů způsobuje WNS masové úhyny (Blehert et al. 2008). V Evropě byla její přítomnost prokázána také, ale evropské netopýry se s WNS zdá se umí vypořádat bez výraznějších následků (Martínková et al. 2010; Puechmaille et al. 2011a). Je otázkou, jak a které faktory se podílí na šíření a intenzitě působení WNS. Za účelem odhalení spojitostí mezi působením choroby na netopýry a jejich zimovišti byla sestavena databáze 466 českých zimovišť, která popisuje morfologický charakter podzemních prostor, společenstvo netopýrů a prevalenci u nejčastěji napadaného druhu netopýra *Myotis myotis*. Vyhodnocovaná databáze obsahuje mnoho dat, která teprve budou podrobně analyzována. V mé práci byla databáze zpracována pouze základními statistickými metodami a prezentovány byly jen určité proměnné z celkové databáze. Snažila jsem se vybrat ty z nich, ve kterých se nejvýrazněji odlišovaly typy zimovišť a zimoviště s přítomností a absencí *Pseudogymnoascus destructans*. Také ty, jež prokazatelně mění prostředí zimoviště a mohou ovlivňovat chování hibernujících netopýrů. To vše s přihlédnutím k dosavadním známým požadavkům na růst *P. destructans*.

Výskyt patogenní plísně u netopýrů v ČR je častější v antropogenních zimovištích (stará důlní díla, sklepy apod.) než v přirozeně vzniklých jeskyních. Jsou patrné vlastnosti, kterými se tyto typy zimovišť odlišují (délkou či denivelací podzemních prostor, hydrologicky, prouděním vzduchu), ale ty povětšinou jasně nekorespondují s charakteristikami, které se projeví při porovnání zimovišť s výskytem či absencí plísně. „Rizikové“ vlastnosti pro výskyt plísně mají v některých případech právě přirozené jeskyně, kde je výskyt plísně i prevalence u *M. myotis* nižší než u štol. Typem zimoviště jako jedním z potenciálně rizikových faktorů působících na vliv WNS se zabývali Wilder et al. (2011). Výsledkem jejich modelu bylo, že kolonie netopýrů osidlující přirozené jeskyně čelí z hlediska dopadů WNS většímu riziku než netopýry obývající doly. K tomuto by se na jednu stranu přikláněly výsledky o charakteristikách jeskyní, které se podobají těm u zimovišť s výskytem plísně (jsou to delší podzemní komplexy, velký počet netopýrů na zimovišti, častý výskyt agregací netopýrů), ale faktické údaje o přítomnosti plísně a prevalenci u *M. myotis* ukazují, že jsou napadány ve větší míře antropogenní zimoviště, hlavně štoly. To naznačuje, že tu mohou hrát roli ještě další neuvažované faktory prostředí zimoviště nebo chování netopýrů.

Ukázalo se, že působení a výskyt patogenní plísně souvisí s nadmořskou výškou zimoviště. Přítomnost plísně je častější ve výše položených zimovištích a také prevalence u *M. myotis* koreluje pozitivně s nadmořskou výškou. Tento trend byl již dříve sledován při zimních kontrolách českých a slovenských zimovišť. Nejvyšší prevalence u *M. myotis* byly zjištěny v podhorských a horských zimovištích a naopak nejmenší v nížinných krasových oblastech (Martínková et al. 2010; Horáček 2012).

Na výskytu plísně v zimovišti se dle výsledků podílí i některé faktory přímo působící na mikroklimatické podmínky zimoviště. Vliv se neprokázal u dynamiky proudění vzduchu na zimovišti, ale je patrný vliv hydrologie a teplotního mikroklimatu. Plíseň je častěji nacházena na zimovištích s hydrologickou aktivitou, což může být důležité pro udržení vysoké vlhkosti, kterou plíseň vyžaduje. Překvapivě však podle výsledků plíseň napadá netopýry častěji v chladnějších zimovištích. Tento výsledek není podporován zjištěnými teplotními požadavky plísně. Patogenní *P. destructans* více prospívají vyšší teploty (Verant et al. 2012). Bylo také sledováno, že populace severoamerických netopýrů dosahovaly větších poklesů v teplejších zimovištích a za vlhkých podmínek (Langwig et al. 2012). Ke zde prezentovanému výsledku mohlo dojít kvůli nevhodnému zprůměrování hodnot teplot z různých míst na zimovišti navíc naměřených v různých obdobích. Výsledné hodnoty tak nemohly popisovat teplotní podmínky na zimovišti dostatečně přesně a byly zkreslující.

Prevalence výskytu plísně u *M. myotis* pozitivně korelovala s celkovým počtem netopýrů a počtem druhů na zimovišti. To by mohlo souviset se snadnějším předáváním patogenu ve větších koloniích. Langwig et al. (2012) studovali přenos plísně mezi netopýry a zaznamenali vyšší poklesy početnosti v důsledku WNS s vyšším počtem jedinců v kolonii, ale pouze u dvou druhů netopýrů, kteří zimují jednotlivě. U společenských druhů na velikosti kolonie nezáleželo. Malou roli zřejmě hrál i přenos plísně mezi druhy netopýrů. Není tedy jisté, zda prevalence výskytu plísně s počtem netopýrů a počtem druhů na zimovišti přímo souvisí. Pravděpodobnější vliv má přenos plísně mezi netopýry při zimování v agregacích. Podle mých výsledků na zimovištích s výskytem *P. destructans* netopýři častěji tvoří shluky. Vliv velikosti největší agregace *M. myotis* na prevalenci výskytu plísně u *M. myotis* však nebyl prokázán. Podle studie na severoamerických netopýrech (*ibid.*) shlukování výrazně usnadňuje přenos plísně. U netopýrů byla také pozorována změna chování po objevení WNS. Netopýři, kteří obvykle zimují ve shlucích, začali častěji zimovat jednotlivě (*ibid.*).

6 Závěr

Problematika WNS je dosti obsáhlá a zahrnuje k uvažování mnoho faktorů z různých oblastí, ať jsou to abiotické podmínky prostředí, etologie netopýrů, chování patogenu nebo záležitosti z oblasti genetiky. Není třeba zdůrazňovat, že ačkoli už vědci o příčinách a průběhu WNS mnohé ví, bude ještě třeba mnoha studií k pochopení všech souvislostí.

Databáze zimovišť, kterou jsem v této práci zpracovávala, bude ještě rozšířena a nadále podrobována složitějším analýzám. Výsledky zde prezentované umožňují pouze prvotní nahlédnutí do dat, která postupným zpracováváním přinesou další informace. Již z těchto výsledků však lze odvodit některé hypotézy, kterými by se v budoucnu dalo zabývat:

1. Typy zimovišť jeskyně a štoly se liší ve výskytu plísňe i v prevalenci u *M. myotis*. Netopýři v jeskyních jsou napadáni plísní méně často a s menší prevalencí. Přesto je tu častější tvorba agregací a konkrétně u *M. myotis* je počet jedinců ve shluku vyšší. Je to způsobeno tím, že ve štolách i přes nižší počet agregací působí patogen na netopýry intenzivněji? Přímým sledováním napadených zimujících netopýrů by se mohly odhalit odlišnosti vlivu plísňe ve dvou typech zimovišť, v jeskyni a štole. Porovnat by se mohly i vlivy na netopýry zimující ve shluku a jednotlivě na těchto typech zimovišť. Zajímavé by také bylo zjistit, u kolika netopýrů se vyvine onemocnění WNS v porovnání mezi jeskyněmi a štolami.
2. Prevalence výskytu plísňe se zvyšuje s rostoucí nadmořskou výškou a dosud není jasné, jaké působící faktory v sobě může nadmořská výška zahrnovat. Je hlavním činitelem vlhké podhorské a horské klima?
3. Ve výsledcích jsem uvedla, že u napadených zimovišť bylo častější chladné mikroklima. Teploty však byly pro získání pouze jedné hodnoty zprůměrované a nemusely mít správnou výpovědní hodnotu. K zodpovězení otázky, zda teplota přímo souvisí s prevalencí, by bylo vhodné sledovat teplotu a vlhkost na napadených zimovištích v různých částech zimoviště. Detailněji zkoumané segmenty by se potom mohly porovnat v prevalenci.
4. Zimoviště s výskytem plísňe hostila výrazně více netopýrů. Ze třech typů zimovišť (jeskyně, štoly, sklepy) jsou počty zimujících netopýrů největší v jeskyních. Přítomnost plísňe je ale častější ve štolách. V čem je tedy charakter

štol, ve kterých zimuje hodně netopýrů odlišný od jeskyní s velkým počtem netopýrů?

7 Souhrn

V této práci jsem pracovala s databází 466 zimovišť ČR, která byla vytvořena za účelem odhalení souvislostí mezi charakterem prostředí zimoviště a výskytem plísně *P. destructans*, původce onemocnění WNS. Zde je přehled hlavních výsledků:

1. V ČR se objevují porosty *P. destructans* na 30 % zimovišť, přičemž se liší zastoupení u různých typů zimovišť. Nejčastěji se patogenní plíseň objevuje ve starých důlních dílech a štolách (38 % ze všech zimovišť tohoto typu). Přirozeně vzniklých jeskyní s výskytem plísně je 27 % z celkového počtu. U sklepů je výskyt plísně nejmenší (9 % ze všech sklepů).
2. Porosty *P. destructans* na netopýrech se objevují častěji na zimovištích s vyšší nadmořskou výškou. Také prevalence výskytu plísně u *Myotis myotis* s nadmořskou výškou pozitivně koreluje.
3. Plíseň je nacházena na zimovištích, která jsou prostornější (délkou podzemních chodeb), častěji, než je tomu u zimovišť nenapadených, vykazují hydrologickou aktivitu (přítomnost stojaté či průtokové vody). Počty zimujících netopýrů jsou na těchto zimovištích vyšší než u zimovišť bez přítomnosti plísně a je zde obvyklé shlukování netopýrů (včetně druhu *M. myotis*).
4. Další výzkumy by se mohly blíže zaměřit na porovnání intenzity působení plísně v jeskyních a štolách, a to u netopýrů zimujících ve skupině ve srovnání s těmi zimujícími jednotlivě. Zajímavé by také bylo porovnání počtu netopýrů s vyvinutým WNS v jeskyních a štolách. Dále by se mohlo blíže prozkoumat působení teploty a vlhkosti na prevalenci a vliv nadmořské výšky.

Literatura

- Altringham JD. 2011. Bats: from evolution to conservation. 2nd ed. New York: Oxford University Press. Chapter 4, Torpor and hibernation; s. 97-112.
- Berková H, Zukal J. 2004. Sezónní změny letové aktivity netopýrů u vchodu do jeskyně zjištěné pomocí automatického monitorovacího systému. *Vespertilio*. 8:45-54.
- Bleher DS. 2012. Fungal disease and the developing story of bat white-nose syndrome. *PLoS Pathog* [Internet]. [cited 2014 Jan 20]; 8(7):e1002779. Dostupný z: <http://www.plospathogens.org/article/fetchObject.action?uri=info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.ppat.1002779&representation=PDF> doi:10.1371/journal.ppat.1002779
- Bleher DS, Hicks AC, Behr M, Meteyer CU, Berlowski-Zier BM, Buckles EL, Coleman JTH, SR, Gargas A, Niver R, Okoniewski JC, Rudd RJ, Stone WB. 2008. Bat white-nose syndrome: an emerging fungal pathogen? *Science* [Internet]. [cited 2014 Jan 15]; 323(5911):227-227. Dostupný z: http://www.whitenosesyndrome.org/sites/default/files/resource/bleher_et_al_2008_wns_fungus_total.pdf doi:10.1126/science.1163874
- Boratyński JS, Rusiński M, Kokurewicz T, Bereszyński A, Wojciechowski MS. 2012. Clustering behavior in wintering greater mouse-eared bats *Myotis myotis* – the effect of micro-environmental conditions. *Acta Chiropterol* [Internet]. [cited 2014 Feb 23]; 14(2):417-424. Dostupný z: <http://www.bioone.org/doi/full/10.3161/150811012X661738> doi:<http://dx.doi.org/10.3161/150811012X661738>
- Bouma HR, Carey HV, Kroese FGM. 2010. Hibernation: the immune system at rest? *J Leukocyte Biol* [Internet]. [cited 2014 Mar 17]; 88(4):619-624. Dostupný z: <http://www.jleukbio.org/content/88/4/619.full.pdf+html> doi: 10.1189/jlb.0310174
- Boyles JG, Brack V. 2009. Modeling survival rates of hibernating mammals with individual-based models of energy expenditure. *J Mammal* [Internet]. [cited 2014 Jan 15]; 90:9-16. Dostupný z: <http://asmjournals.org/doi/full/10.1644/08-MAMM-A-205.1> doi:<http://dx.doi.org/10.1644/08-MAMM-A-205.1>
- Boyles JG, Dunbar MB, Storm JJ, Brack V. 2007. Energy availability influences microclimate selection of hibernating bats. *J Exp Biol* [Internet]. [cited 2014 Feb 20]; 210(24):4345-4350. Dostupný z: <http://jeb.biologists.org/content/210/24/4345.full> doi: 10.1242/jeb.007294
- Boyles JG, Dunbar MB, Whitaker JO. 2006. Activity following arousal in winter in North American vespertilionid bats. *Mammal Rev* [Internet]. [cited 2014 Feb 10]; 36(4):267-280. Dostupné z: <http://mypage.siu.edu/jgboyles/Files/Boyles%20et%20al.%202006.pdf>
- Boyles JG, Willis CK. 2009. Could localized warm areas inside cold caves reduce mortality of hibernating bats affected by white-nose syndrome? *Front Ecol Environ* [Internet]. [cited 2014 Jan 25]; 8(2):92-98. Dostupný z: <http://www.esajournals.org/doi/abs/10.1890/080187> doi:<http://dx.doi.org/10.1890/080187>
- Brown CR. 1999. Metabolism and thermoregulation of individual and clustered long-fingered bats, *Miniopterus schreibersii*, and the implications for roosting. *S Afr J Zool* [Internet]. [cited 2014 Feb 24]; 34(4):166-172. Dostupný z: <http://web.b.ebscohost.com/ehost/pdfviewer/pdfviewer?sid=95a3fee4-3e1d-4d37-9dac-f9918828b581%40sessionmgr110&vid=1&hid=118>
- Brownlee-Bouboulis SA, Reeder DM. 2013. White-nose syndrome-affected little brown myotis (*Myotis lucifugus*) increase grooming and other active behaviors during arousals from hibernation. *J Wildlife Dis* [Internet]. [cited 2014 Feb 5]; 49(4):850-859. Dostupný z: <http://www.facstaff.bucknell.edu/dreeder/Brownlee-Bouboulis%20and%20Reeder%20WNS%20behavior.pdf> doi:10.7589/2012-10-242

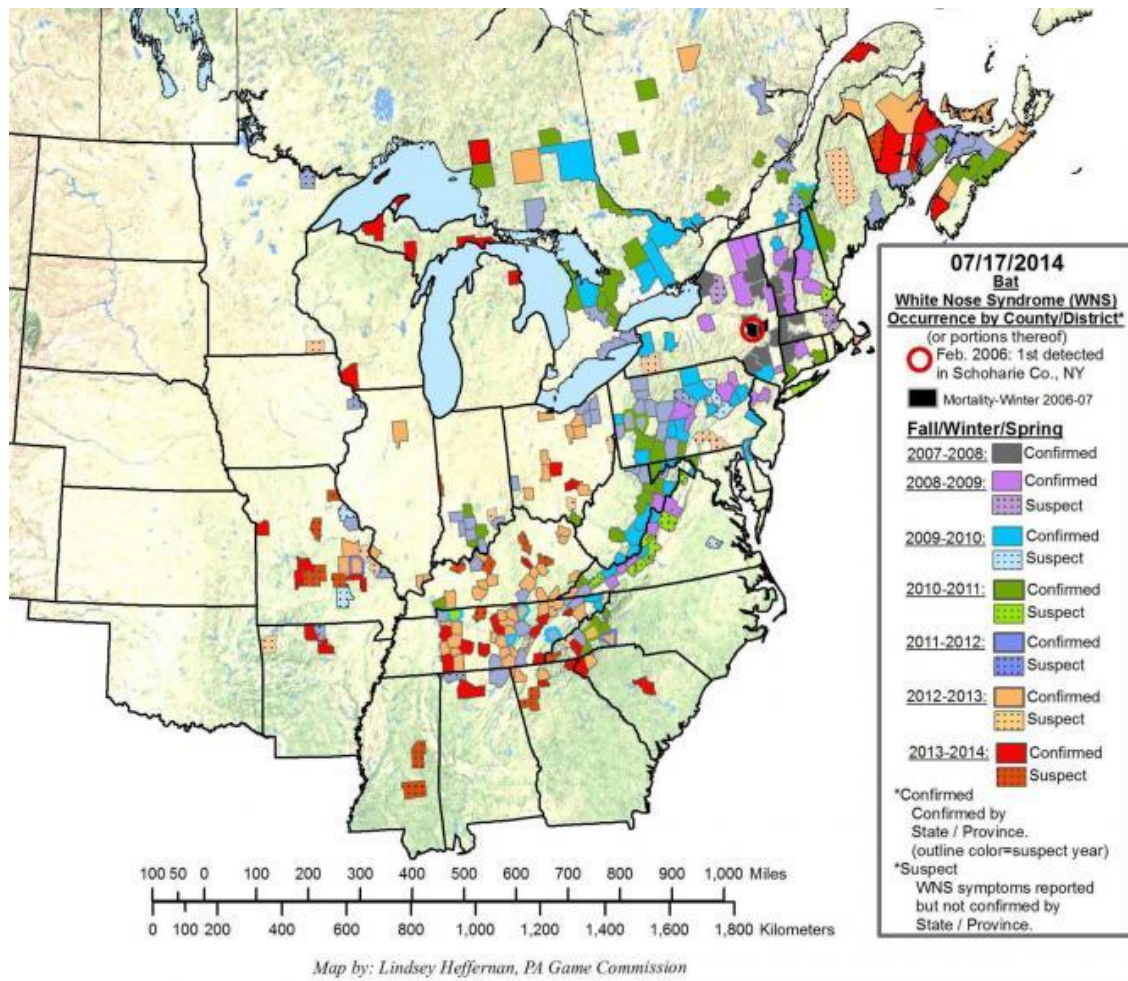
- Courtin F, Stone WB, Risatti G, Gilbert K, Van Kruiningen HJ. 2010. Pathologic findings and liver elements in hibernating bats with white-nose syndrome. *Vet Pathol* [Internet]. [cited 2014 Jan 20]; 47(2):214-219. Dostupný z: <http://vet.sagepub.com/content/47/2/214.full.pdf+html> doi:10.1177/0300985809358614
- Daan S. 1973. Activity during natural hibernation in three species of vespertilionid bats. *Neth J Zool.* 23(1):1-71.
- Frick WF, Pollock JF, Hicks AC, Langwig KE, Reynolds DS, Turner GG, Butchkoski CM, Kunz TH. 2010. An emerging disease causes regional population collapse of a common North American bat species. *Science* [Internet]. [cited 2014 Jan 15]; 329:679-682. Dostupný z: http://www.bluefinboycott.orgwww.biologicaldiversity.org/campaigns/bat_crisis_white-nose_syndrome/pdfs/Frick_et_al_Science.pdf doi:10.1126/science.1188594
- Gargas A, Trest MT, Christensen M, Volk TJ, Blehert DS. 2009. *Geomyces destructans* sp nov associated with bat white-nose syndrome. *Mycotaxon* [Internet]. [cited 2014 Jan 15]; 108:147-154. Dostupný z: http://www.nwhc.usgs.gov/disease_information/white-nose_syndrome/geomyces_destructans.pdf doi:<http://dx.doi.org/10.5248/108.147>
- Geiser F. 2004. Metabolic rate and body temperature reduction during hibernation and daily torpor. *Annu Rev Physiol* [Internet]. [cited 2014 Jan 18]; 66:239-274. Dostupný z: <http://www.annualreviews.org/doi/pdf/10.1146/annurev.physiol.66.032102.115105> doi:10.1146/annurev.physiol.66.032102.115105
- Glover AM. 2006. The ecology and conservation of cave roosting bats in the Yorkshire Dales [doctoral dissertation]. [Leeds (UK)]: University of Leeds.
- Hanzal V, Průcha M. 1988. Sezónní dynamika netopýřích společenstev na zimovištích Českého krasu v letech 1984–1986. *Lynx*, n. s. 24:15-35.
- Hope PR, Jones G. 2013. An entrained circadian cycle of peak activity in a population of hibernating bats. *J Mammal* [Internet]. [cited 2014 Feb 15]; 94(2):497-505. Dostupné z: <http://www.bioone.org/doi/pdf/10.1644/12-MAMM-A-095.1> doi:<http://dx.doi.org/10.1644/12-MAMM-A-095.1>
- Horáček I. 1986. *Létající savci*. Praha: Academia. 152 s.
- Horáček I. 2012. Bílé nosy u nás, čili Druhý popis. *Vesmír*. 91:636–641.
- Chaturvedi V, Springer DJ, Behr MJ, Ramani R, Li X, Peck MK, Ren P, Bopp DJ, Wood B, Samsonoff WA, et al. 2010. Morphological and molecular characterizations of psychrophilic fungus *Geomyces destructans* from New York bats with white nose syndrome (WNS). *PLoS ONE* [Internet]. [cited 2014 Jan 21]; 5(5):e10783. Dostupný z: <http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?sessionId=89A459F62726F4744216BE680707E604?uri=info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0010783&representation=PDF> doi:10.1371/journal.pone.0010783
- Langwig KE, Frick WF, Bried JT, Hicks AC, Kunz TH, Kilpatrick AM. 2012. Sociality, density-dependence and microclimates determine the persistence of populations suffering from a novel fungal disease, white-nose syndrome. *Ecol Lett* [Internet]. [cited 2014 Jan 15]; 15:1050-1057. Dostupný z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1111/j.1461-0248.2012.01829.x/full> doi: 10.1111/j.1461-0248.2012.01829.x
- Martínková N, Bačkor P, Bartonička T, Blažková P, Červený J, Falteisek L, Gaisler J, Hanzal V, Horáček D, Hubálek Z, et al. 2010. Increasing incidence of *Geomyces destructans* fungus in bats from the Czech Republic and Slovakia. *PLoS ONE* [Internet]. [cited 2014 Jan 23]; 5(11):e13853. Dostupný z: <http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0013853&representation=PDF> doi:10.1371/journal.pone.0013853
- Meteyer CU, Buckles EL, Blehert DS, Hicks AC, Green DE, Shearn-Bochsler V, Thomas NJ, Gargas A, Behr MJ. 2009. Histopathologic criteria to confirm white-nose syndrome in

- bats. *J Vet Diagn Invest* [Internet]. [cited 2014 Jan 17]; 21:411-414. Dostupný z: <http://vdi.sagepub.com/content/21/4/411.long> doi:10.1177/104063870902100401
- Nováková K. 2011. Dynamika teplotních změn v Chýnovské jeskyni [bakalářská práce]. [Brno (CZ)]: Masarykova univerzita.
- Park KJ, Jones G, Ransome RD. 2000. Torpor, arousal and activity of hibernating greater horseshoe bats (*Rhinolophus ferrumequinum*). *Funct Ecol* [Internet]. [cited 2014 Feb 21]; 14(5):580-588. Dostupný z: <http://onlinelibrary.wiley.com/doi/10.1046/j.1365-2435.2000.t01-1-00460.x/full> doi:10.1046/j.1365-2435.2000.t01-1-00460.x
- Pikula J, Bandouchova H, Novotný L, Meteyer CU, Zukal J, Irwin NR, Zima J, Martínková N. 2012. Histopathology confirms white-nose syndrome in bats in Europe. *J Wildlife Dis* [Internet]. [cited 2014 Jan 22]; 48(1):207-211. Dostupný z: <http://jwildlifedis.org/doi/pdf/10.7589/0090-3558-48.1.207> doi:<http://dx.doi.org/10.7589/0090-3558-48.1.207>
- Průcha M, Hanzal V. 1989. Some aspects of hibernation of bats wintering in the Bohemian Karst (Central Bohemia, Czechoslovakia). *Acta Univ Caroli Biol.* 33:315-333.
- Puechmaille SJ, Frick WF, Kunz TH, Racey PA, Voigt CC, Wibbelt G, Teeling EC. 2011b. White-nose syndrome: is this emerging disease a threat to European bats? *Trends Ecol Evol* [Internet]. [cited 2014 Jan 22]; 26(11):570-576. Dostupný z: http://www.farmlandbirds.net/sites/default/files/Puechmaille_Tree_2011.pdf doi:10.1016/j.tree.2011.06.013
- Puechmaille SJ, Verdeyroux P, Fuller H, Ar Gouilh M, Bekaert M, Teeling EC. 2010. White-nose syndrome fungus (*Geomyces destructans*) in bat, France. *Emerg Infect Dis* [Internet]. [cited 2014 Jan 19]; 16:290-293. http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC2958029/pdf/09-1391_finalD.pdf doi:10.3201/eid1602.091391
- Puechmaille SJ, Wibbelt G, Korn V, Fuller H, Forget F, Mühlendorfer K, Kurth A, Bogdanowicz W, Borel Ch, Bosch T, et al. 2011a. Pan-European distribution of white-nose syndrome fungus (*Geomyces destructans*) not associated with mass mortality. *PLoS ONE* [Internet]. [cited 2014 Jan 23]; 6(4):e19167. Dostupný z: <http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0019167&representation=PDF> doi:10.1371/journal.pone.0019167
- Rajkumar SS, Li X, Rudd RJ, Okoniewski JC, Xu J, Chaturvedi S, Chaturvedi V. 2011. Clonal genotype of *Geomyces destructans* among bats with white-nose syndrome, New York, USA. *Emerg Infect Dis* [Internet]. [cited 2014 Feb 1]; 17(7):1273-1276. Dostupný z: http://wwwnc.cdc.gov/eid/article/17/7/10-2056_article.htm doi:10.3201/eid1707.102056
- Raudabaugh DB, Miller AN. 2013. Nutritional capability of and substrate suitability for *Pseudogymnoascus destructans*, the causal agent of bat white-nose syndrome. *PLoS ONE* [Internet]. [cited 2014 Jan 20]; 8(10):e78300. Dostupný z: <http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0078300&representation=PDF> doi:10.1371/journal.pone.0078300
- Reichard JD, Kunz TH. 2009. White-nose syndrome inflicts lasting injuries to the wings of little brown myotis (*Myotis lucifugus*). *Acta Chiropterol* [Internet]. [cited 2014 Jan 18]; 11(2):457-464. <http://www.bioone.org/doi/full/10.3161/150811009X485684> doi:<http://dx.doi.org/10.3161/150811009X485684>
- Sládek P. 2009. Jeskynní mikroklima a radioaktivita. In: Mackovčín P, Sedláček M, editors. *Chráněná území ČR XIV.: Jeskyně*. Praha: AOPK ČR a EkoCentrum Brno. s. 107-109.
- Thomas DW, Fenton MB, Barclay RM. 1979. Social behavior of the little brown bat, *Myotis lucifugus*: I. Mating behavior. *Behav Ecol Sociobiol* [Internet]. [cited 2014 Jan 24]; 6(2):129-136. Dostupné z: <http://www.jstor.org/stable/4599268> doi:10.2307/1931308
- Twente JW. 1955. Some aspects of habitat selection and other behavior of cavern-dwelling bats. *Ecology* [Internet]. [cited 2014 Feb 15]; 36(4):706-732. Dostupné z:

- <http://www.jstor.org/stable/pdfplus/1931308.pdf?acceptTC=true&acceptTC=true&jpdConfirm=true> doi:10.2307/1931308
- Vanderwolf KJ., McAlpine DF, Forbes GJ, Malloch D. 2012. Bat populations and cave microclimate prior to and at the outbreak of white-nose syndrome in New Brunswick. *Can Field Nat* [Internet]. [cited 2014 Feb 15]; 126(2):125-134. Dostupné z: <http://www.canadianfieldnaturalist.ca/cfn/index.php/cfn/article/download/1327/1320>
- Verant ML, Boyles JG, Waldrep W, Wibbelt G, Blehert DS. 2012. Temperature-dependent growth of *Geomyces destructans*, the fungus that causes bat white-nose syndrome. *PLoS ONE* [Internet]. [cited 2014 Jan 20]; 7(9):e46280. Dostupný z: <http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0046280&representation=PDF> doi:10.1371/journal.pone.0046280
- Warnecke L, Turner JM, Bollinger TK, Lorch JM, Misra V, Cryan PM, Wibbelt G, Blehert DS, Willis CKR. 2012. Inoculation of bats with European *Geomyces destructans* supports the novel pathogen hypothesis for the origin of white-nose syndrome. *P Natl Acad Sci USA* [Internet]. [cited 2014 Jan 20]; 109(18):6999-7003. Dostupný z: <http://www.pnas.org/content/109/18/6999.full.pdf+html> doi: 10.1073/pnas.1200374109
- Webb PI, Speakman JR, Racey PA. 1996. How hot is a hibernaculum? A review of the temperatures at which bats hibernate. *Can J Zool* [Internet]. [cited 2014 Feb 14]; 74(4):761-765. Dostupné z: http://www.abdn.ac.uk/energetics-research/speakman_publications/pdf_docs/94.pdf
- Wibbelt G, Kurth A, Hellmann D, Weishaar M, Barlow A, Veith M, Prüger J, Görföl T, Grosche L, Bontadina F, et al. 2010. White-nose syndrome fungus (*Geomyces destructans*) in bats, Europe. *Emerg Infect Dis* [Internet]. [cited 2014 Jan 15]; 16(8):1237-1242. Dostupný z: <http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3298319/> doi:10.3201/eid1608.100002
- Wibbelt G, Puechmaille SJ, Ohlendorf B, Mühldorfer K, Bosch T, Görföl T, Passior K, Kurth A, Lacremans D, Forget F. 2013. Skin lesions in European hibernating bats associated with *Geomyces destructans*, the etiologic agent of white-nose syndrome. *PLoS ONE* [Internet]. [cited 2014 Jan 18]; 8(9):e74105. Dostupný z: http://www.ncbi.nlm.nih.gov/pmc/articles/PMC3298319/pdf/10-0002_finalR.pdf doi:10.1371/journal.pone.0074105
- Wilder AP, Frick WF, Langwig KE, Kunz TH. 2011. Risk factors associated with mortality from white-nose syndrome among hibernating bat colonies. *Biol Lett* [Internet]. [cited 2014 Jun 21]; 7(6):950-953. Dostupný z: <http://rsbl.royalsocietypublishing.org/content/7/6/950.long> doi: 10.1098/rsbl.2011.0355
- White-Nose Syndrome [Internet]. c2014. [cited 2014 Mar 15]. Dostupné z: <http://www.whitenosesyndrome.org/>.
- Zukal J, Bandouchová H, Bartonička T, Berková H, Brack V, Brichta J, Dolinay M, Jaron KS, Kováčová V, Kovařík M, et al. 2014. White-Nose Syndrome Fungus: A Generalist Pathogen of Hibernating Bats. *PLoS ONE* [Internet]. [cited 2014 Apr 15]; 9(5): e97224. Dostupný z: <http://www.plosone.org/article/fetchObject.action?uri=info%3Adoi%2F10.1371%2Fjournal.pone.0097224&representation=PDF> doi: 10.1371/journal.pone.0097224

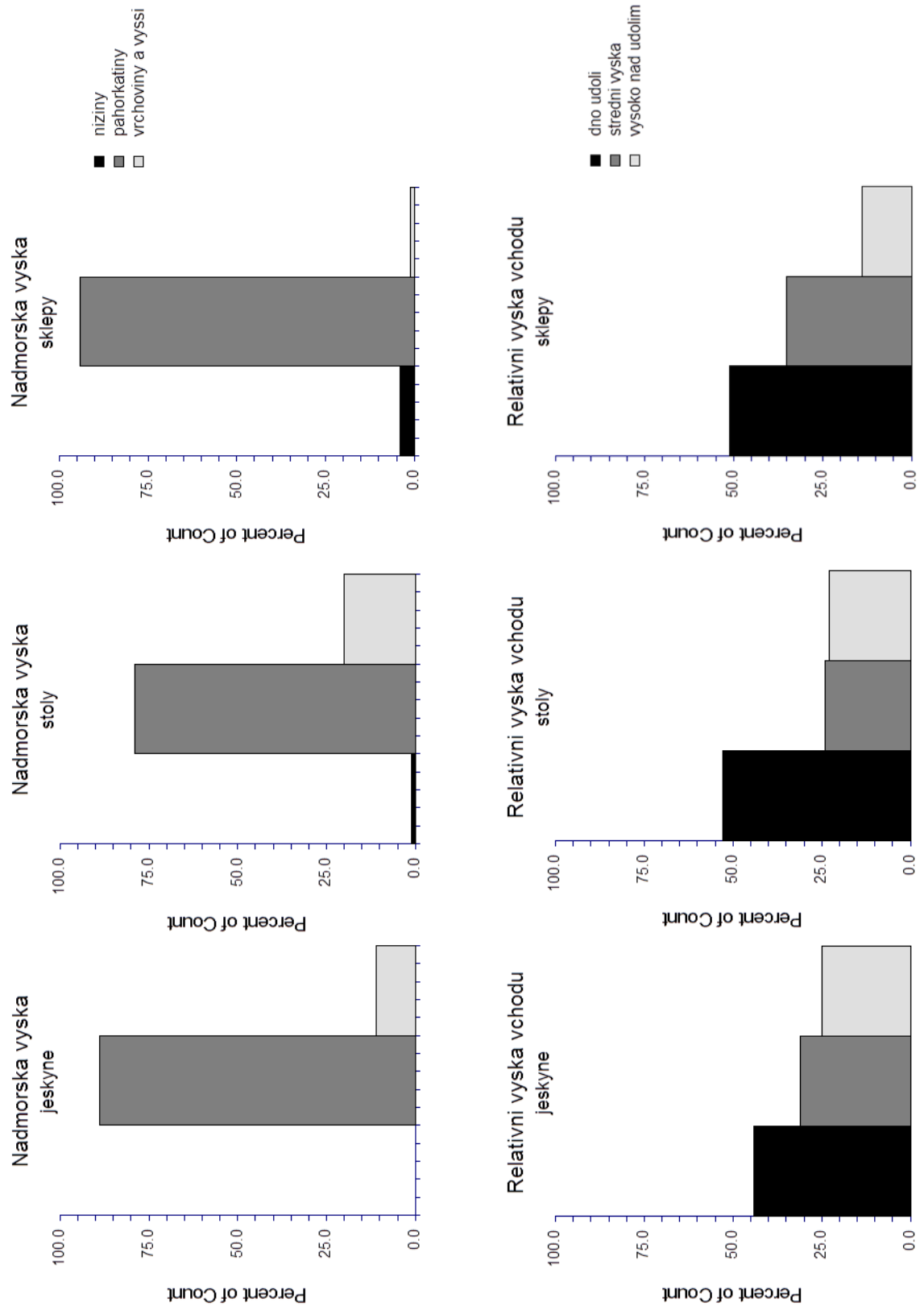
Přílohy

Příloha A: Mapa rozšíření WNS v Severní Americe

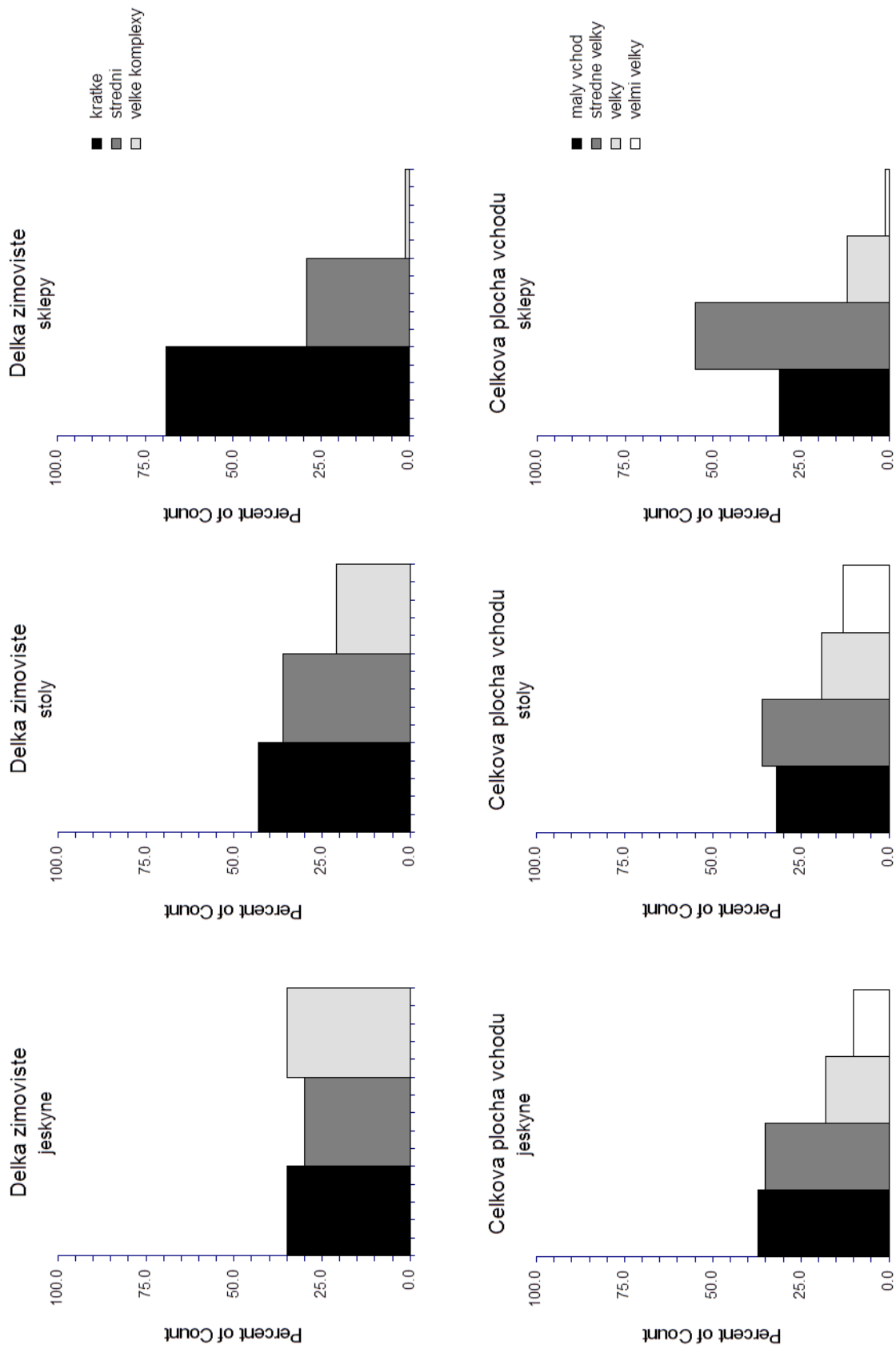


Obr. I: Průběh šíření WNS v Severní Americe (White-Nose Syndrome 2014) (© Cal Butchkoski)

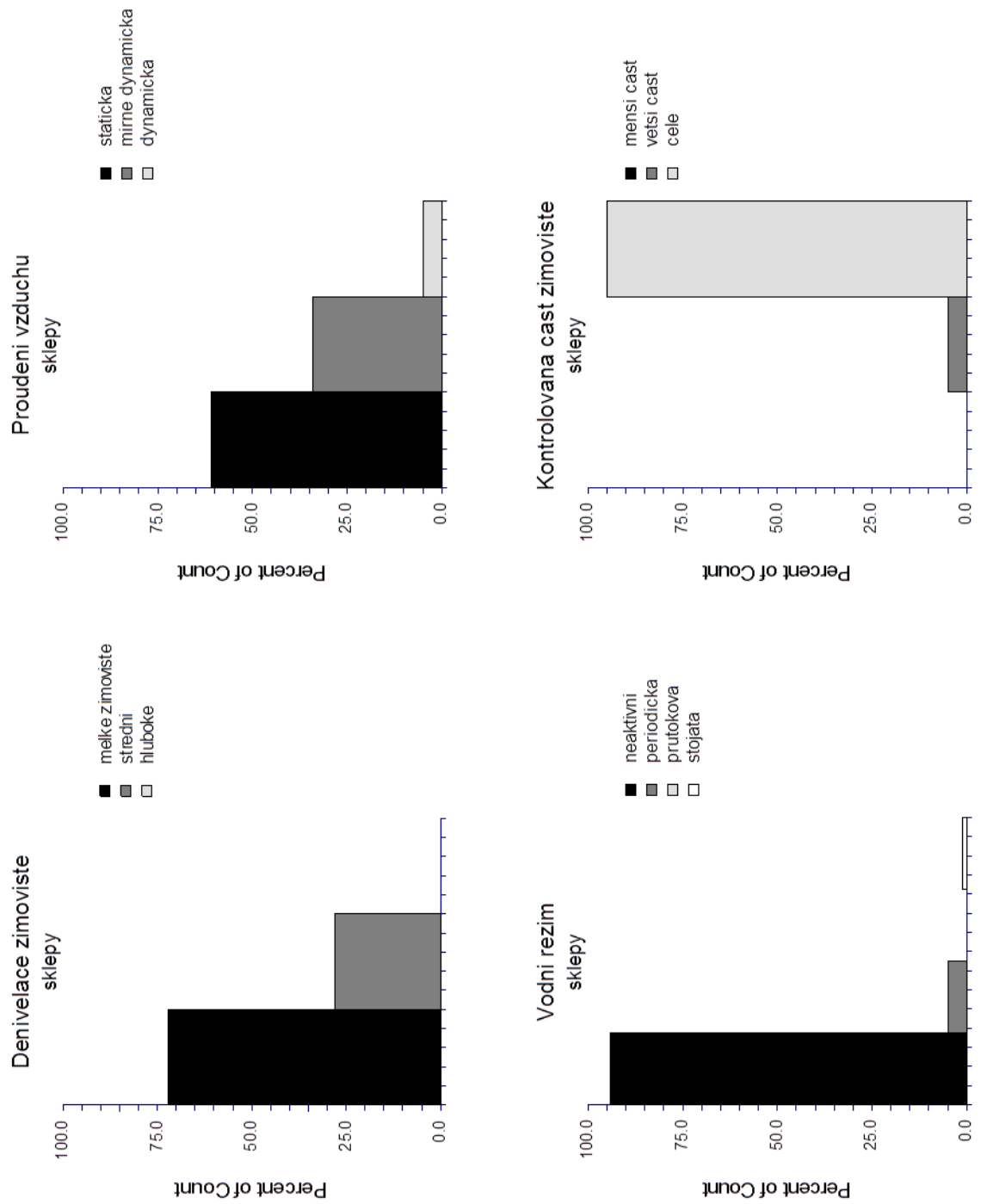
Příloha B: Sloupcové diagramy vybraných charakteristik pro jednotlivé typy zimovišť



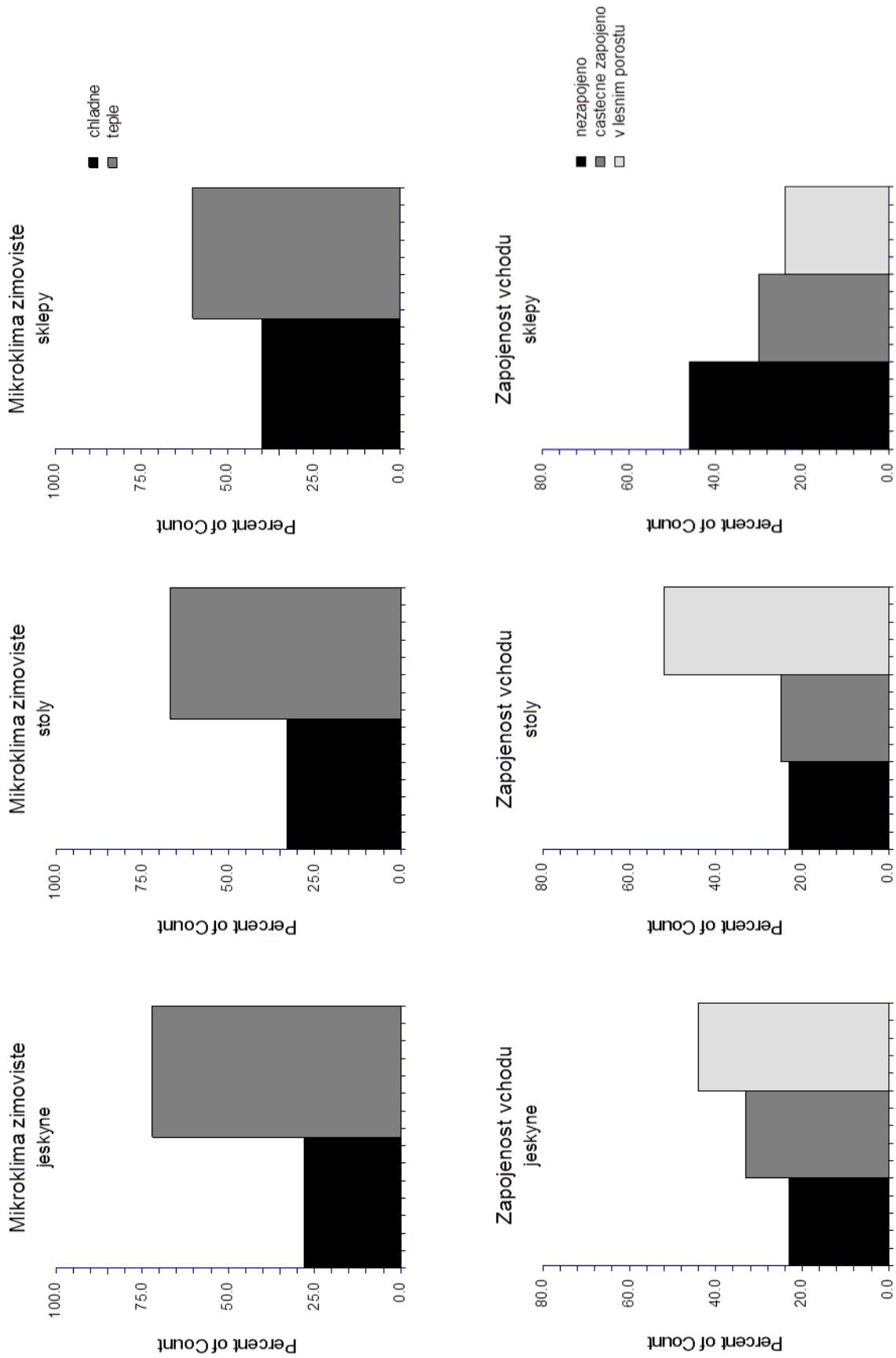
Obr. I: Přehled zastoupení kategorií proměnných nadmořská výška vchodu a relativní výška nad okolním terénem u jednotlivých typů zimovišť



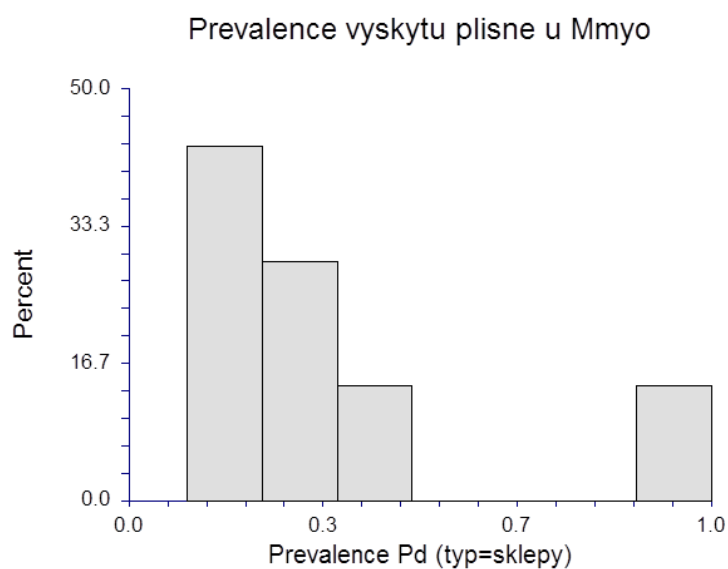
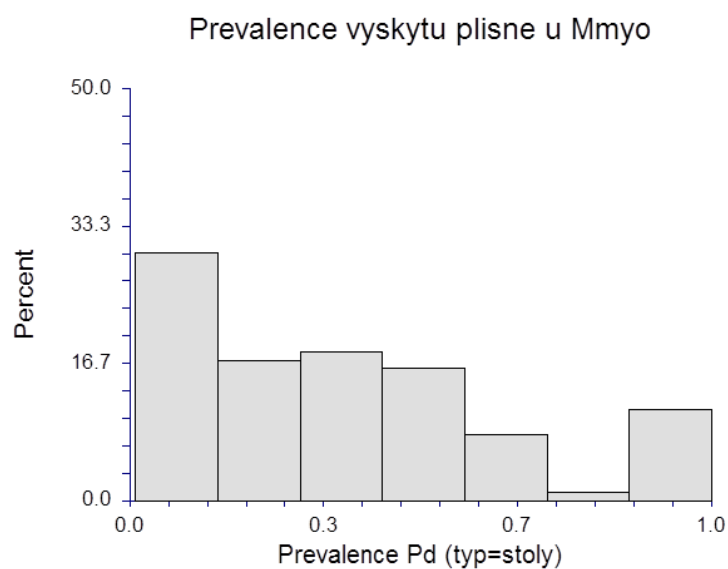
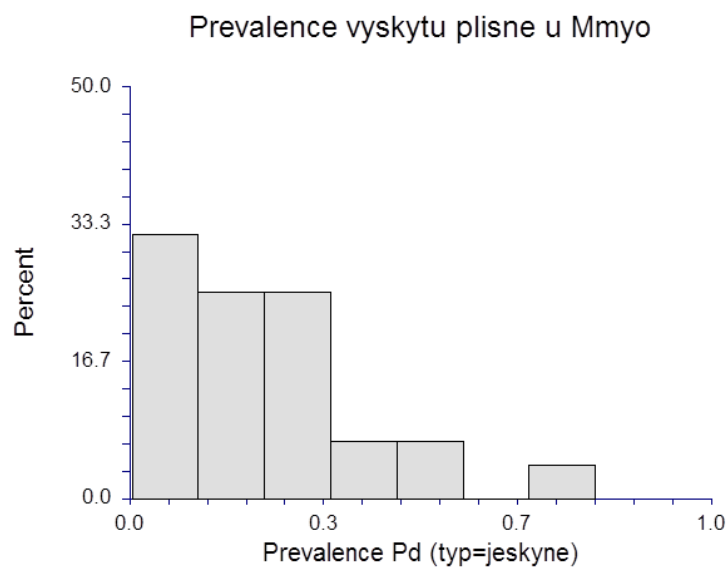
Obr. II: Přehled zastoupení kategorií proměnných délka zimoviště a celková plocha vchodu u jednotlivých typů zimovišť



Obr. III: Přehled zastoupení kategorií proměnných denivelace, vodní režim, proudění vzduchu a kontrolovaná část zimoviště u sklepů

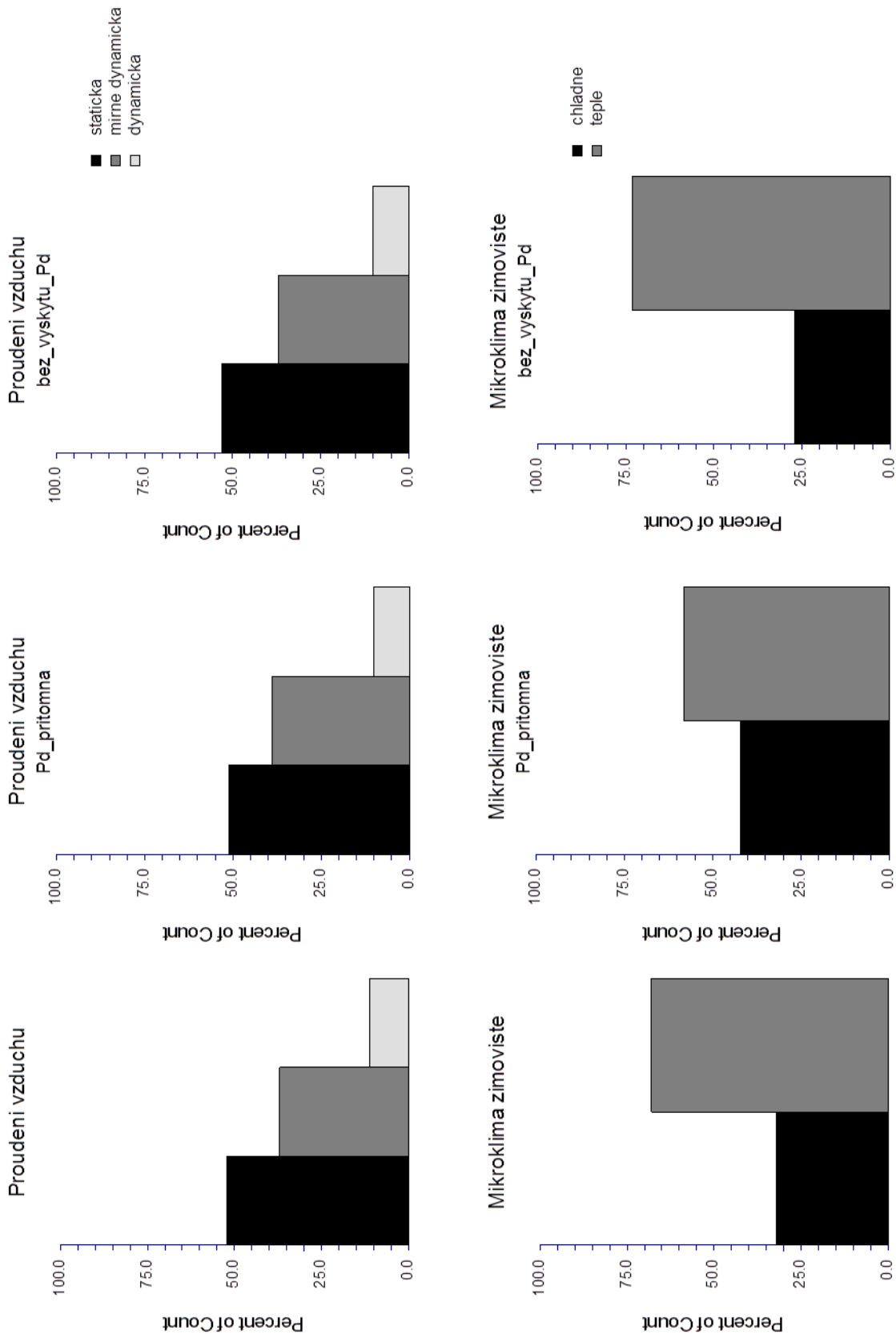


Obr. IV: Přehled zastoupení kategorií proměnných mikroklima zimoviště a zapojenost vchodu u jednotlivých typů zimovišť

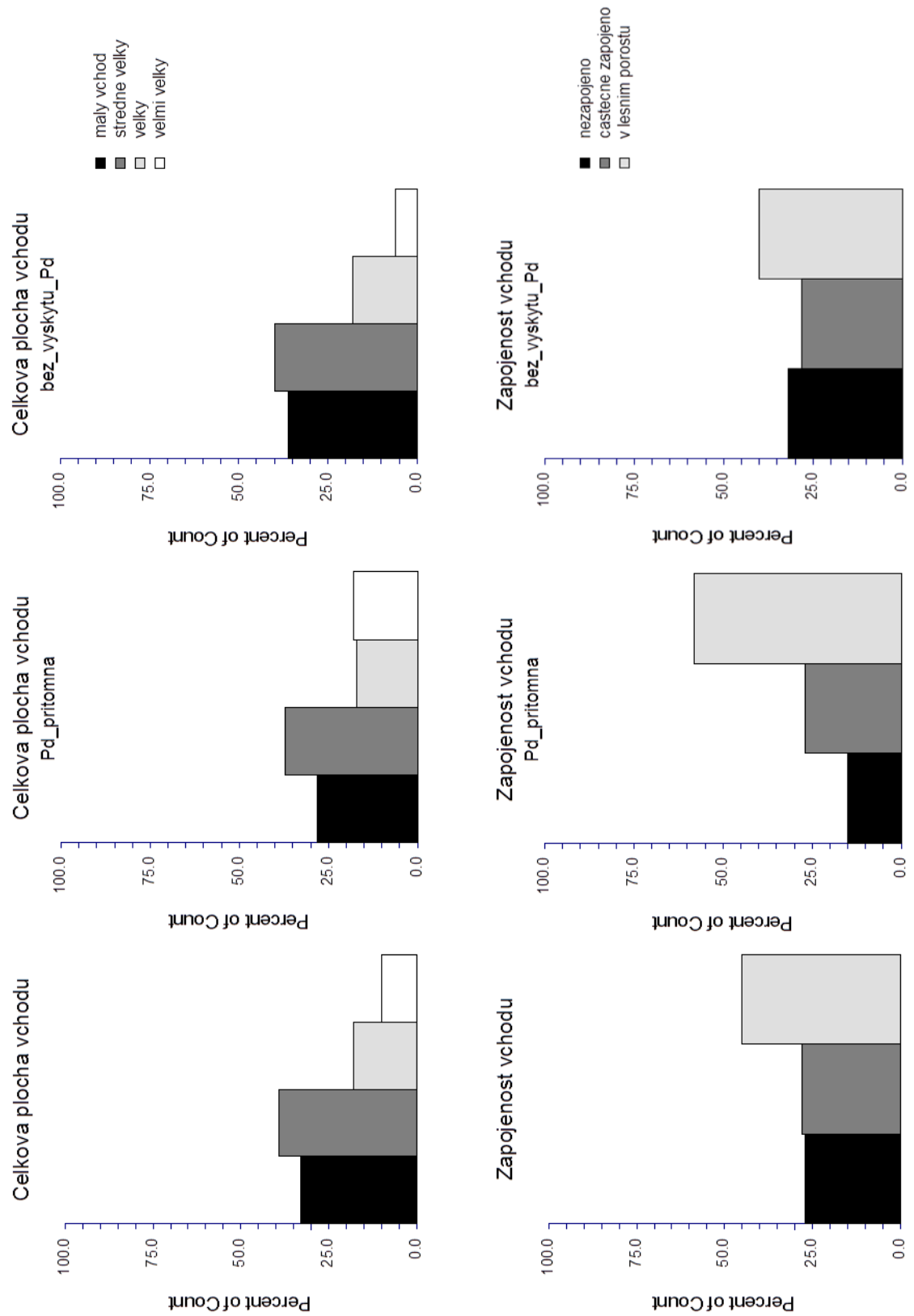


Obr. V: Přehled prevalence výskytu *P. destructans* (*Pd*) u *M. myotis* (*Mmyo*) na zimovištích s přítomností plísně pro jednotlivé typy zimovišť

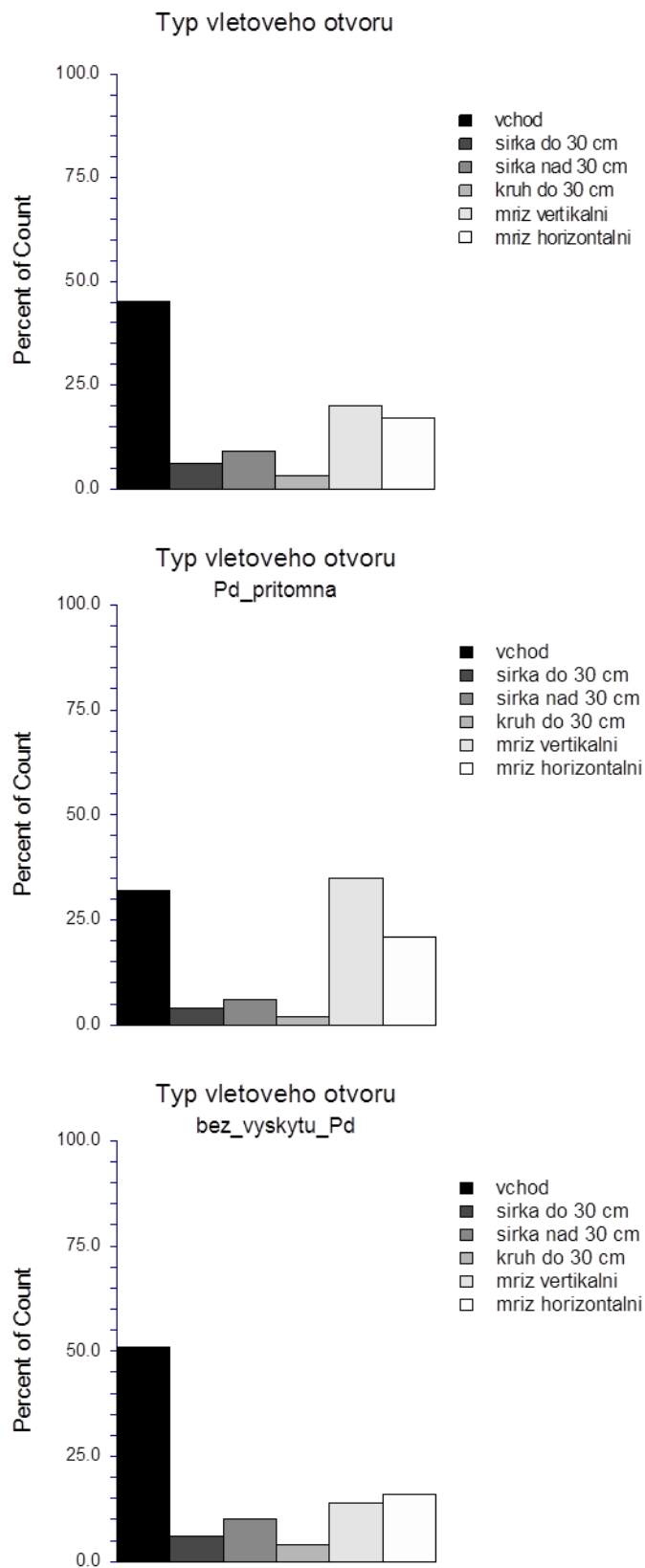
Příloha C: Sloupcové diagramy vybraných charakteristik pro všechna zimoviště a zimoviště s absencí či přítomností *P. destructans*



Obr. I: Přehled zastoupení kategorií proměnných proudění vzduchu a mikroklima zimoviště pro všechna zimoviště, zimoviště s přítomností *P. destructans* (*Pd*) a zimoviště bez výskytu *Pd*



Obr. II: Přehled zastoupení kategorií proměnných celková plocha vchodu a zapojenost vchodu pro všechna zimoviště, zimoviště s přítomností *P. destructans* (*Pd*) a zimoviště bez výskytu *Pd*



Obr. III: Přehled zastoupení kategorií proměnné typ vletového otvoru pro všechna zimoviště, zimoviště s přítomností *P. destructans* (*Pd*) a zimoviště bez výskytu *Pd*