

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

FAKULTA ŽIVOTNÍHO PROSTŘEDÍ

KATEDRA EKOLOGIE



**Modelování prostorové distribuce patogenu
Batrachochytrium dendrobatidis, původce
chytridiomykózy u obojživelníků, v České republice**

DIPLOMOVÁ PRÁCE

Vedoucí práce: Ing. Jiří Vojar, Ph.D.

Vypracoval: Bc. Martin Sedlák

2016

ČESKÁ ZEMĚDĚLSKÁ UNIVERZITA V PRAZE

Fakulta životního prostředí

ZADÁNÍ DIPLOMOVÉ PRÁCE

Martin Sedlák

Ochrana přírody

Název práce

Modelování prostorové distribuce patogenu *Batrachochytrium dendrobatidis*, původce chytridiomykózy u obojživelníků, v České republice

Název anglicky

Modelling of the pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* distribution in the Czech Republic

Cíle práce

Patogen *Batrachochytrium dendrobatidis* je chytridiomycetní houba způsobující závažné onemocnění obojživelníků – chytridiomykózu. Tato nemoc v posledních dvou desetiletích způsobila úplné vymizení či významný pokles početnosti řady druhů. V České republice byl patogen objeven v roce 2008 a do současné doby byla jeho přítomnost zjištěna u zhruba poloviny našich obojživelníků na několika desítkách lokalit po celé republice.

Cílem této diplomové práce je vytvořit model rozšíření patogenu v České republice a následné zhodnocení tohoto modelu (např. vliv faktorů prostředí, porovnání druhů z hlediska přítomnosti patogenu). Literární rešerše bude zaměřena zejména na rozšíření patogenu ve světě, Evropě a ČR. Pozornost bude věnována rovněž nově objevenému druhu plísně *B. salamandrivorans* a dále možnostem modelování prostorové distribuce organismů obecně.

Metodika

V rámci diplomové práce budou shromážděna všechna dostupná data o výskytu i absenci zkoumaného patogenu na území ČR. Pro modelování prostorové distribuce patogenu bude použita logistická regrese.

Doporučený rozsah práce

cca 30–40 stran textu, přílohy dle potřeby

Klíčová slova

Amphibia, logistická regrese, nemoci obojživelníků, obojživelníci, GIS, SDM

Doporučené zdroje informací

- Austin M. P., 2002: Spatial prediction of species distribution: an interface between ecological theory and statistical modelling. *Ecological Modelling* 157: 101–118
- Baláž V., Vojar J., Civiš P., Šandera M. & Rozínek R., 2014: Chytridiomycosis risk among Central European amphibians based on surveillance data. *Diseases Of Aquatic Organisms* 112: 1–8
- Civiš P., Vojar J., Literák I. & Baláž V., 2012: Current State of Bd Occurrence in the Czech Republic. *Herpetological Review* 43(1): 150–159
- Elith J. & Leathwick J. R., 2009: Species Distribution Models: Ecological Explanation and Prediction Across Space and Time. *Annual Review of Ecology and Systematics* 40: 677–97
- Franklin J. & Miller J. A., 2009: Mapping Species Distribution. *Spatial Inference and Prediction*. Cambridge University Press, England
- Lehmann A., Overton J. McC. & Austin M. P., 2002: Regression models for spatial prediction: their role for biodiversity and conservation. *Biodiversity and Conservation* 11: 2085–2092
- Olson D. H., Aanensen D. M., Ronnenberg K. L., Powell C. I., Walker S. F., Bielby J., Garner T. W. J., Weaver G. & Fisher M. C., 2013: Mapping the global emergence of *Batrachochytrium dendrobatidis*, the amphibian chytrid fungus. *PLoS One* 8, e56802
- Puschendorf R., Carnaval A. C., VanDerWal J., Zumbado-Ulate H., Chaves G., Bolaños F. & Alford R. A., 2009: Distribution models for the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis* in Costa Rica: proposing climatic refuges as a conservation tool. *Diversity and Distributions* 15: 401–408
- Tarrant J., Cilliers D., du Preez L. H. & Weldon C., 2013: Spatial assessment of amphibian chytrid fungus (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in South Africa confirms endemic and widespread infection. *PLoS One* 8, e69591
-

Předběžný termín obhajoby

2016/17 ZS – FŽP

Vedoucí práce

Ing. Jiří Vojar, Ph.D.

Garantující pracoviště

Katedra ekologie

Konzultant

Ing. Vojtěch Barták, Ph.D.

Elektronicky schváleno dne 5. 4. 2016

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.

Vedoucí katedry

Elektronicky schváleno dne 5. 4. 2016

prof. RNDr. Vladimír Bejček, CSc.

Děkan

V Praze dne 14. 12. 2016

PROHLÁŠENÍ

Prohlašuji, že jsem tuto práci vypracoval samostatně, na základě odborné literatury a pramenů uvedených v seznamu literatury a všechny použité zdroje jsem v textu řádně odcitoval.

V Praze, dne 15. 12. 2016

..... podpis

PODĚKOVÁNÍ

Tímto bych chtěl poděkovat mému vedoucímu diplomové práce Ing. Jiřímu Vojarovi, Ph.D., za cenné rady, podporu a za poskytnutí spousty vědomostí a dat pro napsání této práce. Dále Ing. Vojtěchu Bartákovi Ph.D., za cennou pomoc při tvorbě modelu a zasvěcení do tajů logistické regrese. V neposlední řadě bych chtěl poděkovat rodině, přátelům a mé přítelkyni za morální podporu a pevné nervy.

ABSTRAKT

V současnosti je chytridiomykóza, společně s klimatickými změnami, největší hrozbou pro světovou populaci obojživelníků. Toto celosvětově rozšířené onemocnění houbového původu je způsobeno patogenem *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) a v nedávné době objeveným druhem *Batrachochytrium salamandrivorans* (*Bsal*). Od roku 2008 probíhá v České republice (ČR) monitoring patogenu *Bd*, jehož výsledkem je více než 1000 vzorků v podobě stěrů, které byly získány na 51 lokalitách. Cílem této práce bylo vytvoření modelu rozšíření patogenu *Bd* na území ČR. Tvorba modelu byla založena na datech z monitoringu výskytu patogenu a přírodních charakteristikách území ČR. Jako nejvhodnější statistická metoda pro tvorbu modelu byla zvolena logistická regrese. Během analýzy dat nebyla pozorována žádná statisticky významná závislost výskytu patogenu na environmentálních proměnných. Absence závislosti mohla být způsobena zvolenými environmentálními proměnnými, které měly nízkou škálu hodnot nebo přílišnou podobnost vzorkovaných lokalit. Dalším důvodem může být klima a reliéf ČR, jež nedosahují takové variability, která by mohla výrazně ovlivnit výskyt patogenu.

KLÍČOVÁ SLOVA:

Amphibia, logistická regrese, nemoci obojživelníků, obojživelníci, GIS, SDM

ABSTRACT

Chytridiomycosis in connection with climate change is the most dangerous threat for world population of amphibians. This worldspread disease is caused by a fungus pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* and by the newly discovered genus *Batrachochytrium salamandrivorans*. The occurrence of *Batrachochytrium dendrobatidis* in the Czech Republic has been monitored since 2008. As a result of the monitoring, we have more than thousand swab samples at 51 localities. In this work, I tried to make a distribution model of pathogen occurrence for the area of the Czech Republic. Model was built on the pathogen presence-absence data, eleven environmental variables. Logistic regression was used as a method for model building. During the data analysis was not detected any statistically proofed relationship between pathogen occurrence and environmental variables. This could be caused by chosen environmental variables with low scale or by sampling too similar localities. Another reason could be the low variability of climate and relief in Czech Republic that give the same condition to pathogen survival.

KEY WORDS:

Amphibia, logistic regression, diseases of amphibians, amphibians, GIS, SDM

OBSAH

1. Úvod	10
2. Cíle práce	13
3. Literární rešerše	14
3.1 Chytridiomykóza – patologie a světové rozšíření	14
3.1.1 <i>Batrachochytrium dendrobatidis</i>	15
3.1.2 <i>Batrachochytrium salamandrivorans</i>	16
3.2 Přítomnost původců chytridiomykózy v ČR	17
3.3 Modelování prostorové distribuce organismů	18
3.4 Využití programů pro modelování distribuce	20
3.5 Logistická regrese	21
4. Metodika	24
4.1 Sběr dat na základě monitoringu patogenu <i>Bd</i> v ČR	24
4.2 Příprava vstupních dat	25
4.3 Exploratorní analýza environmentálních proměnných	32
4.4 Analýza dat s užitím logistické regrese	35
5. Výsledky práce	37
6. Diskuze	38
7. Závěr	41
Seznam použité literatury:	42

SEZNAM ZKRATEK

AUC	Area Under Curve
<i>Bd</i>	<i>Batrachochytrium dendrobatidis</i>
<i>Bsal</i>	<i>Batrachochytrium salamandrivorans</i>
CENIA	Česká informační agentura životního prostředí
ČHMÚ	Český hydrometeorologický ústav
ČÚZK	Český úřad zeměměřický a katastrální
ČZU	Česká zemědělská univerzita v Praze
FŽP	Fakulta životního prostředí ČZU
GIS	Geographical Information System
GLM	Generalized Linear Model
LAMP	Loop-Mediated Isothermal Amplification
LR	Logistic Regression
PCR	Polymerase Chain Reaction
ROC	Receiver Operating Characteristic
SDM	Species Distribution Modelling
S-JTSK	Systém jednotné trigonometrické sítě katastrální
TWI	Topographic Wetness Index
VFU	Veterinární a farmaceutická univerzita v Brně
WGS 84	World Geodetic System 1984

1. ÚVOD

V posledních desetiletích čelí biota na naší planetě velkému tlaku nejen kvůli změnám klimatu, ale také kvůli dalším rostoucím antropogenním vlivům na životní prostředí, mezi které patří narušování pralesních ekosystémů, lov ohrožených druhů a kontaminace prostředí. Příkladem dalšího takového negativního vlivu mohou být invazní druhy živočichů, rostlin či patogenů, které se díky současné rychlosti cestování a díky mezikontinentálním dopravním koridorům mohou snadno rozšiřovat z míst svého původního výskytu (Hallatschek & Fischer, 2014). Dle prací z posledních let vyplývá, že nejsilněji ohroženou skupinou obratlovců jsou obojživelníci (Skerratt et al., 2007). V současnosti jsou populace obojživelníků nejvíce ohrožovány úbytkem a změnami jejich původního prostředí vlivem člověka (Vojar et al., 2012). Kromě toho existují i patogeny rozšiřující se antropogenní cestou, které napadají obojživelníky po celém světě a v některých oblastech významně ovlivňují početnost jejich populací (Gibson & Freeman, 1997).

Jedním z mnoha příkladů rozšiřování chorob za přispění člověka je i houbové onemocnění chytridiomykóza. Toto onemocnění napadající obojživelníky, způsobené chytridiomycetní houbou *Batrachochytrium dendrobatidis* (dále jen *Bd*), bylo poprvé popsáno v práci Berger et al. (1998). V nedávné době byl objeven další příbuzný druh houby *Batrachochytrium salamandrivorans* (*Bsal*), taktéž způsobující chytridiomykózu a napadající ocasaté obojživelníky (Martel et al., 2013). Jedná se zatím o jediné známé onemocnění chytridiomycetního původu, které postihuje obratlovce (Skerratt et al., 2007). Jedinci zasažení tímto onemocněním trpí fyziologickými změnami kůže, které mají vliv na její osmoregulační a dýchací funkci. Tyto změny spojené i se změnami chování mohou vést až k uhynutí napadeného jedince (Berger et al., 1998; Voyles et al., 2009).

V současnosti je chytridiomykóza rozšířená na všech kontinentech s výskytem obojživelníků a její přítomnost byla indikována u více než 500 druhů (Berger et al., 2016). Takovéto globální ohrožení obojživelníků je důvodem, proč bylo toto onemocnění v roce 2001 zapsáno na Seznam nemocí volně žijících zvířat (Wildlife Disease List) Světovou organizací pro zdraví zvířat (The World Organization for Animal Health; Johnson & Speare, 2003).

V České republice byl patogen *Bd* zaznamenán poprvé v roce 2008 (Civiš et al., 2010). První rozsáhlejší průzkum týkající se jeho přítomnosti u nás byl proveden Balážem, Civišem a Vojarem v roce 2009; poměrně intenzivní monitoring výskytu patogenu ve spolupráci FŽP ČZU Praha a VFU Brno pokračuje až do současnosti (Baláž et al., 2013; Vojar in verb.).

Údaje o výskytu obou patogenů, příp. záznamy projevů onemocnění jsou sbírány po celém světě a jsou cenným zdrojem informací, který může sloužit k výzkumu a prevenci před dalším rozšiřováním tohoto onemocnění. Největší databází zobrazující současné světové rozšíření patogenu *Bd* je www.bd-maps.net, která však není aktualizována o data z mnoha zemí během posledních let. Přesné rozšíření *Bd* není zcela známo, a to z několika důvodů. Jedním z nich je omezený počet vzorkování, který lze realizovat s ohledem na dostupný počet lidí podílejících se na sběru dat, s čím souvisí omezený počet odchycených jedinců z celkového počtu populace. Dalším faktorem je finanční a časová náročnost vzorkování, jelikož jsou převážně využívány molekulární metody, které nemohou být aplikovány přímo v terénu, a jejich užití může být omezeno jen na malý okruh specializovaných pracovišť (<http://www.optigene.co.uk/wp-content/uploads/2014/10/Using-the-Genie-Bd-3.pdf>). Jednou z obtíží komplikující monitoring je i různá rezistence napříč druhy vůči onemocnění. V mnoha případech jsou jedinci pouze nositeli patogenu, avšak nejsou u nich pozorovány žádné projevy onemocnění (Baláž et al., 2014). Z těchto důvodů se nejen při studiu chytridiomykózy a jejích původců přistupuje k použití statistických a prostorových analýz, které nám mohou pomoci odhadnout reálný rozsah zkoumaného problému.

Ve studiu Puschendorf et al. (2009) bylo použito modelu prostorové distribuce *Bd* k odhalení vhodných oblastí, jež by potencionálně mohly sloužit jako klimatická refugia chránící ohrožené druhy obojživelníků před šířením tohoto patogenu. Dle této idey byl vytvořen model rozšíření „původce“ chytridiomykózy pro ČR zahrnující data o výskytu za roky 2008–2009 (Civiš 2010). Následně v bakalářské práci Sedláka (2013) byla zpracována data až do roku 2012. Tato diplomová práce navazuje na zmíněnou bakalářskou práci z roku 2013 a jejím výstupem by měl být aktualizovaný model

rozšíření Bd v ČR vytvořený za použití logistické regrese a na základě vyhodnocení všech doposud dostupných dat do roku 2015.

2. CÍLE PRÁCE

Cílem této diplomové práce je vytvořit model rozšíření patogenu *Batrachochytrium dendrobatidis* v ČR a následné zhodnocení tohoto modelu (např. vliv faktorů prostředí, porovnání druhů z hlediska přítomnosti patogenu). Literární rešerše je zaměřena zejména na rozšíření patogenu ve světě, Evropě a v ČR. Pozornost je rovněž věnována nově objevenému druhu plísně *Batrachochytrium salamandrivorans* a dále možnostem modelování prostorové distribuce organismů obecně.

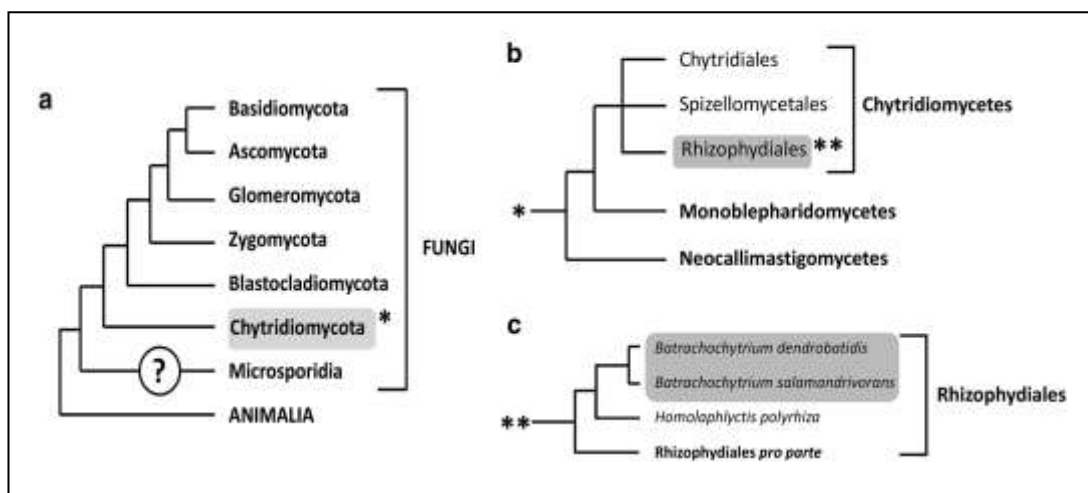
Hlavním cílem práce je vytvořit aktualizovaný model rozšíření patogenu *Bd* pro ČR z nashromážděných dat za roky 2008–2015 za použití logistické regrese. Dílčími cíli práce jsou:

- Stručná rešerše věnovaná problematice:
 - chytridiomykózy a jejím původcům,
 - modelování prostorové distribuce,
 - logistické regrese.
- Tvorba modelu rozšíření patogenu *Bd* na území ČR.

3. LITERÁRNÍ REŠERŠE

3.1 CHYTRIDIOMYKÓZA – PATOLOGIE A SVĚTOVÉ ROZŠÍŘENÍ

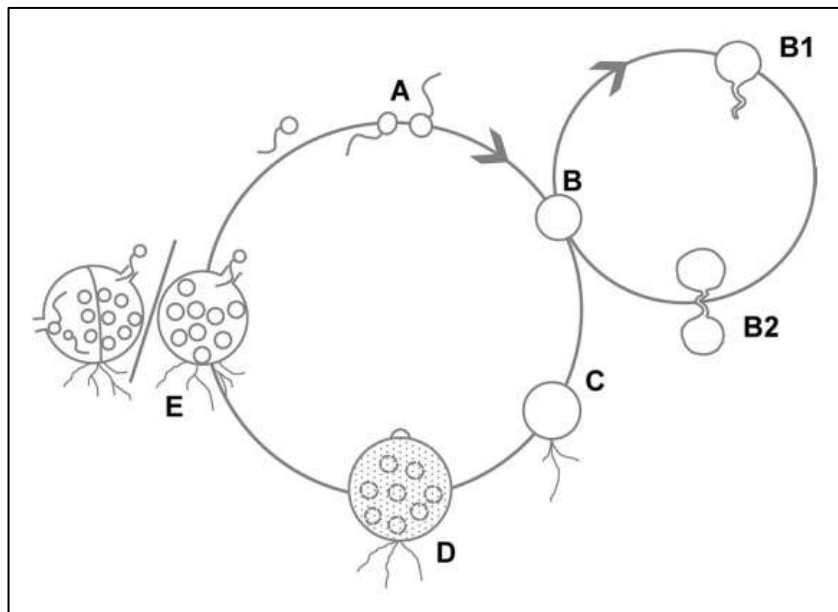
Chytridiomykóza je způsobena houbovými patogeny, které náleží do rodu *Batrachochytrium* (Berger et al., 1998; Longcore et al., 1999), a které dále spadají do řádu Rhizophydiales a třídy Chytridiomycetes (Letcher et al., 2006). V současnosti jsou z rodu *Batrachochytrium* známy pouze dva druhy, a to *Batrachochytrium dendrobatidis* a *Batrachochytrium salamandrivorans* (Martel et al., 2013). Houby spadající do třídy Chytridiomycetes jsou širokou skupinou, která se nejčastěji vyskytuje ve vodním prostředí či v půdě a řada z jejích zástupců žije saprofytickým nebo parazitickým způsobem života (Kalina & Váňa, 2005). Zástupci rodu *Batrachochytrium* jsou spolu s patogenem *Ichthyochytrium vulgare* (parazit ryb, řád Chytridiales) jedinými představiteli chytridiomycetních hub, parazitujících na obratlovcích (Longcore et al., 2011).



Obrázek č. 1 Fylogeneze patogenů *Batrachochytrium dendrobatidis* a *Batrachochytrium salamandrivorans*. Kladogram zobrazuje umístění rodu *Batrachochytrium* v rámci říše Fungi (a) třídy Chytridiomycetes (b) a řádu Rhizophydiales (c). Kladogram převzat z práce Van Rooij et al., 2015.

3.1.1 *BATRACHOCHYTRIUM DENDROBATIDIS*

Déle známým a ve větší míře rozšířeným druhem je *Batrachochytrium dendrobatidis* (dále jen *Bd*), který byl poprvé popsán v roce 1998 (Berger et al., 1998). Stavbou těla se jedná o chitinozní zoosporangia s přichytnými vlákny (rhizoidy), které slouží k vstřebávání živin a exkreci enzymů. Uvnitř zoosporangií se mitoticky vytvářejí pohyblivé, bičíkem opatřené zoospory, po jejichž vypuštění a následném uchycení v epidermálních buňkách dalšího hostitele dochází opět k tvorbě sporangia (Johnson & Speare, 2003; Berger et al., 2005).



Obrázek č. 2 Životní cyklus rodu *Batrachochytrium*. Vývojová stádia A–E jsou společná pro oba druhy, zatímco stádia B1–B2 byla pozorována pouze u *Bsal*. Jednotlivá stádia reprezentují: (A) pohyblivé zoospory; (B) encystované zoospory; (B1) cystická stélka se zárodečnou trubicí; (B2) přenos buněčného materiálu do nově vzniklé cysty; (C) cystická zoospora s rhizoidy; (D) nedospělé sporangium; (E) dospělé sporangium v jednobuněčné (vpravo) a koloniální podobě (vlevo). Převzato z Pascale et al., 2015.

Infikace *Bd* a tvorba sporangií v epidermálních buňkách hostitele je spojena s odlupováním či rohovatěním kůže napadeného jedince, což způsobuje narušení jejích dýchacích a osmoregulačních funkcí (Berger et al., 1998). To u napadeného jedince následně vede ke snížení kondice a narušení antipredačních reflexů, což může dospět i k jeho uhynutí (Voyles et al., 2009). V larválním stádiu dochází

pouze k napadení keratizovaných částí ústního ústrojí, což vzácně způsobuje smrt jedince, nicméně po metamorfóze dochází k nárůstu postižení (Marantelli et al., 2004). Růst *Bd* je omezen na rozmezí teplot 4 až 26 °C přičemž platí, že nižší teploty, blíží se 4 °C, jsou schopné snášet pouze zoospory (Piotrowski et al., 2004). U *Bd* můžeme pozorovat výskyt různých variet genotypu, což vedlo k vymezení několika poddruhů, které se na různých lokalitách přizpůsobují odlišným teplotám a lokálním druhům obojživelníků (Stevenson et al., 2013).

Fischer (2009) uvádí, že *Bd* již způsobila vyhynutí 34 druhů obojživelníků a její přítomnost byla potvrzena u 350 druhů po celém světě. V současnosti se odhaduje, že 520 druhů v 56 zemích světa je zasaženo chytridiomykózou způsobenou *Bd*, u které podle vědců došlo již k rozšíření do všech klimaticky vhodných oblastí a přesné číslo vyhynulých druhů je předmětem diskuzí (www.bd-maps.net; Olson et al., 2013; Berger et al., 2016). S ohledem na tyto skutečnosti se chytridiomykóza považuje za nejvíce devastující známou chorobu, která má vliv na biodiverzitu obratlovců (Skerratt et al., 2007).

Bd je kromě Antarktidy přítomna na všech kontinentech a podle zpětného testování muzejních vzorků se jako oblasti původu *Bd* označují Asie, Afrika a Brazílie (Bataille et al., 2013; Rodriguez et al., 2013; Tarrant et al., 2013). Na Evropském kontinentu je hlášen výskyt *Bd* v 16 státech, a to v České republice, Estonsku, Francii, Chorvatsku, Itálii, Lotyšsku, Lucembursku, Maďarsku, Německu, Portugalsku, Rakousku, Slovensku, Slovinsku, Španělsku, Švýcarsku a ve Velké Británii (Baláž et al., 2014), přičemž největší rozsah infekce je hlášen ze Španělska (Bosch & Martínez-Solano, 2001). Obecně lze říci, že horské a podhorské oblasti subtropického a tropického pásu, kde panuje chladnější, vlhčí a stabilnější klima jsou prostředím, které vykazuje vyšší výskyt onemocnění, a naopak suché oblasti s větším střídáním teplot jsou pro chytridiomykózu relativně nehostinné (Kriger & Hero, 2007; Berger et al., 2016).

3.1.2 *BATRACHOCHYTRIUM SALAMANDRIVORANS*

Druhým druhem způsobující chytridiomykózu u obojživelníků je *Batrachochytrium salamandrivorans* (dále jen *Bsal*), který byl nedávno objeven v souvislosti s rapidním

úbytkem populací *Salamandra salamandra* v Nizozemí (až 96 %; Martel et al., 2013). *Bsal* se liší od *Bd* v několika směrech. Při infikování jedince dochází u *Bsal* k pronikání do mnohem hlubších vrstev epidermis, než je tomu u *Bd*, a také k tvorbě mnohem větších ložisek infekce, což má na napadenou tkáň větší erozivní účinek než u *Bd*. Markantním rozdílem mezi *Bsal* a *Bd* je pak výběr hostitele, přičemž výskyt *Bsal* je vázán prakticky pouze na ocasaté obojživelníky (Martel et al., 2014). Dalším rozdílem je pak v případě *Bsal* užití teplotní nika, kdy optimum nastává mezi 10 a 15 °C a letálními jsou teploty nad 25 °C (Martel et al., 2013).

Oproti *Bd* se rozšíření *Bsal* omezuje pouze na severozápad Evropského kontinentu a východ Asie, kde však nezpůsobuje onemocnění jedinců a lze tedy předpokládat, že východoasijské oblasti jsou místem původu *Bsal*. V roce 2010 byl zaznamenán první výskyt *Bsal* v Nizozemsku, v roce 2013 a 2014 byl hlášen výskyt *Bsal* již i na území Belgie (Martel et al., 2014). Dalšími zeměmi, kde byla zjištěna přítomnost *Bsal* bylo Německo a Velká Británie, kde byl zaznamenán pouze úhyn jedinců chovaných v zajetí (Cunningham et al., 2015; Sabino-Pinto et al., 2015). Po zkušenostech s *Bd* a jinými houbovými onemocněními, jako je „nemoc bílých nosů“ (houbový patogen *Pseudogymnoascus destructans*), devastující populace netopýrů v Severní Americe, je prevence šíření *Bsal* prioritou mnoha zemí a při mezinárodním obchodu s obojživelníky jsou používána opatření, která již platí při prevenci šíření *Bd* (<http://static.zsl.org/files/biosecurity-arguk4-511.PDF>; Gray et al., 2015).

3.2 PŘÍTOMNOST PŮVODCŮ CHYTRIDIOMYKÓZY V ČR

Batrachochytrium dendrobatidis

V České republice byla přítomnost *Bd* poprvé zaznamenána v roce 2008 (Civiš et al. 2010). Výskyt patogenu v ČR byl zatím prokázán u sedmi druhů, nicméně ve střední Evropě byla zjištěna jeho přítomnost u 19 z 21 druhů vyskytujících se v ČR. Zasaženými druhy na našem území jsou: ropucha obecná (*Bufo bufo*), čolek horský (*Ichthyosaura alpestris*), kuňka obecná (*Bombina bombina*), kuňka žlutobřichá (*Bombina variegata*) a zelení skokani rodu *Pelophylax* (Baláž et. al, 2014). Celkem tedy byla přítomnost *Bd* na území ČR pozorována u 9 druhů z 21.

Přítomnost *Bd* byla nejvíce pozorována u rodu *Pelophylax*, o něco nižší četnost výskytu pak vykazovaly rody *Bufo* a *Bombina* (Baláž et al., 2014). Po započtení posledních vzorků sesbíraných během roku 2015 je celkový počet lokalit s evidovaným výskytem *Bd* roven 33. V porovnání s jinými zeměmi není výskyt patogenu v ČR nijak alarmující (necelých 14 % vzorkovaných jedinců) a byl zaznamenán pouze úhyn jednoho jedince druhu *Bombina variegata* (Baláž et al., 2014). Vzorkovaní jedinci jsou často pouze nositeli patogenu bez jakéhokoliv projevu onemocnění. Takto mírné patologické projevy chytridiomykózy jsou patrně způsobeny lokálním klimatem ČR, jež je pro vývoj a přežívání zárodků *Bd* méně příznivý, v porovnání s klimaticky stabilnějšími a vlhčími oblastmi, jakými jsou tropy a subtropy (Berger et al., 1998; Berger et al., 2016).

Batrachochytrium salamandrivorans

Na základě analýzy 140 jedinců mloků, provedené na území Prahy a v jejím okolí, nebyla přítomnost *Bsal* zjištěna a tedy její výskyt na území ČR není doposud evidován (Vojar, in verb.).

3.3 MODELOVÁNÍ PROSTOROVÉ DISTRIBUCE ORGANISMŮ

Modelování distribuce jedinců/populací/druhů v prostoru, (v angličtině SPECIES DISTRIBUTION MODELLING čili SDM, či MAPPING SPECIES DISTRIBUTION) se zakládá na statistických modelech týkajících se rozmístění dat v prostoru a pozorovaných ekologických procesech probíhajících v přírodě (Elith & Leathwick, 2009). Tyto predikční modely využívají korelace mezi výskytem jedinců a podmínkami prostředí, v němž se jedinci vyskytují (Franklin & Miller, 2009). Mohou přitom brát v úvahu buď pouhou přítomnost jedinců na stanovišti, nebo mohou být založeny na míře „využitosti“ stanoviště danými jedinci, čili frekvencí s jakou jedinci stanoviště využívají. Metoda porovnávající význam faktoru dostupnosti stanoviště versus jeho využitost je v angličtině nazývána RESOURCE SELECTION FUNCTION zkráceně RFS (Elith & Leathwick, 2009) a je využívána například k modelování migračních koridorů propojující vzdálená stanoviště chráněných druhů či centra biodiverzity (Chetkiewicz & Boyce, 2009). Distribuční model může být také založen pouze na datech o

přítomnosti vhodného hostitele či habitatu. V případě patogenu, jako je např. *Bd/Bsal*, můžeme pozorovat přítomnost patogenu na lokalitě, či jeho četnost s jakou se na lokalitě vyskytuje.

Prostorové modelování je dle Austina (2002) založeno na třech klíčových částech celkového modelu. Tyto tři části jsou reprezentovány ekologickým modelem, datovým modelem a statistickým modelem. Ekologický model sestává z ekologických poznatků a z teorie, která je v dané studii použita nebo testovaná (např. nároky *Bd/Bsal* na hostitele, teplotu apod.). Datový model představuje souhrn rozhodnutí, která byla utvořena s ohledem na sběr dat a na to, zda byla data změřena či pouze odhadnuta. Statistický model zahrnuje výběr metody statistického testování s ohledem na rozdělení dat, míru chyby a signifikance zvoleného testu či výběr vhodného softwaru. Tyto základní pilíře prostorového modelování se dají rozvést do následujících kroků (Franklin & Miller 2009):

- Výstavba teoretického modelu abiotických a biotických faktorů ovlivňujících rozšíření druhu v prostoru a čase, který je posouzen z několika různých pohledů v závislosti na zkoumané problematice.
- Posouzení přesnosti dat o rozmístění druhu v prostoru (geografické souřadnice) a jejich charakteru (prezence nebo nepřítomnost, využívanost biotopu, početnost na lokalitě, atd.).
- Zajištění mapových podkladů reprezentujících vlastnosti biotopu, nebo které korelují s jeho kvalitami. Tyto jsou odvozeny od modelů představujících procesy probíhající v životním prostředí nebo jsou jejich přímým výsledkem. Zdrojem těchto mapových podkladů jsou různé geoportály sloužící nástrojům GIS.
- Sestavení modelu, který spojuje nároky druhu na prostředí, nebo jeho využívanost druhem, s vlastnostmi které může toto prostředí danému druhu

nabídnout. Model může být statistický, deskriptivní, logický či jiný (Burgman et al. 2005).

- Použití nástrojů pro převedení modelu do mapové podoby zobrazující výsledné hodnoty modelu ve viditelné snadněji srozumitelné škále (barvy, stínování), především s využitím nástrojů GIS.
- Zhodnocení výstupních dat a kritérií ověřujících korektnost predikce, popřípadě zjištění správné interpretace chyb a nepřesností provedené analýzy.

Při tvorbě modelu je nutné dobře zvážit povahu environmentálních proměnných, tvar křivek závislosti mezi vysvětlovanou a vysvětlující proměnnou i možnost mezidruhových interakcí tak, aby bylo dosaženo jeho vhodné interpretovatelnosti a ekologické sensibility (Austin & Gaywood, 1994).

Využití prostorových modelů distribuce je v současnosti stále více používáno v přírodovědných oborech a s dokonalejší výpočetní technikou se jeví jako klíčové řešení budoucích problémů spjatých s úbytkem lokální i globální biodiverzity. Jak uvádí Lehmann et al. (2002), kombinace modelování prostorového rozšíření jedinců a nástrojů GIS je mocným nástrojem výzkumu zaměřeného na ochranu biodiverzity a /přírody obecně.

3.4 VYUŽITÍ PROGRAMŮ PRO MODELOVÁNÍ DISTRIBUCE

V současnosti existuje nepřehledné množství softwarů, které jsou využívány jak ke statistickému zpracování dat, tak k tvorbě distribučních modelů, které ze statistických operací vycházejí. V základu lze rozlišovat dvě skupiny softwarů. První skupinu lze označit jako programy širokého matematicko-statistického použití s vlastním programovacím jazykem. Mezi takové softwary lze zařadit např. program R (<https://www.r-project.org/>). Programy tohoto typu mají širokou škálu využití a jejich používání má jen velmi málo omezení. Umožňují zpracování dat různého

rozdělení a vzhledem k ovládání za pomoci vlastního programovacího jazyka jsou možnosti tohoto typu programů omezeny pouze znalostmi a schopnostmi uživatele. Druhou skupinou jsou specializované programy cílené na určitý druh prostorové analýzy a jejich fungování je založeno na algoritmu vytvořeném pouze pro potřeby této dané analýzy (např. BIOCLIM, GARP, MAXENT, PRESENCE a další; Franklin & Miller, 2009). Dalším specifikem těchto specializovaných softwarů je práce s daty omezenými na určitý druh informace, kdy jsou data definovaná do striktně daného formátu určeného pro import. Příkladem může být MaxEnt, do kterého vstupují pouze data výskytu (presence-only data) a ve formátu .csv v podobě zápisu, který je zobrazen na obrázku č. 3.

	A	B	C	D
1	species,dd long,dd lat			
2	Bd,-791264.064478,-980461.037976			
3	Bd,-793904.744302,-984972.663756			
4	Bd,-863853.037324,-1007193.85708			

Obrázek č. 3 Vzor zápisu dat potřebného pro import do programu MaxEnt. Každý řádek představuje jeden záznam o výskytu, kde pořadí informací je druh, zeměpisná délka, zeměpisná šířka. Zápis zeměpisné polohy je dán geografickým systémem vstupních environmentálních proměnných (mapové vrstvy formát ASCII). V tomto případě se jedná o S-JTSK.

3.5 LOGISTICKÁ REGRESE

Jako metoda, kterou bude modelován výskyt patogenu *Bd* na území ČR, byla vybrána logistická regrese. Běžná lineární regrese je založena na principu proložení přímky množinou bodů představující množinu zkoumaných dat, tak aby svou polohou co nejvhodněji vyjadřovala vztah mezi závislou proměnnou a proměnnou vysvětlující. Závislá proměnná je nejčastěji reprezentována daty o spojitém normálním rozdělení. V případě logistické regrese má závislá proměnná rozdělení binomické. Je tedy hojně používána pro testování přítomnosti určitého jevu, kdy zápis 1 či 0 reprezentuje výskyt či absenci zkoumaného jevu (Hosmer & Lemeshow, 2000). Rovnice závislosti pro lineární regresi je zapsána jako:

$$Y = \beta_0 + \beta_1 X \quad (1.1)$$

Jelikož proměnná y nabývá pouze dvou diskrétních hodnot a x může být vyjádřeno jakýmkoliv číslem v intervalu $(-\infty, +\infty)$, je v případě logistické regrese použito vyjádření hodnoty y jako pravděpodobnosti, že nastane jev $Y = 1$ (Zlámal, 2013):

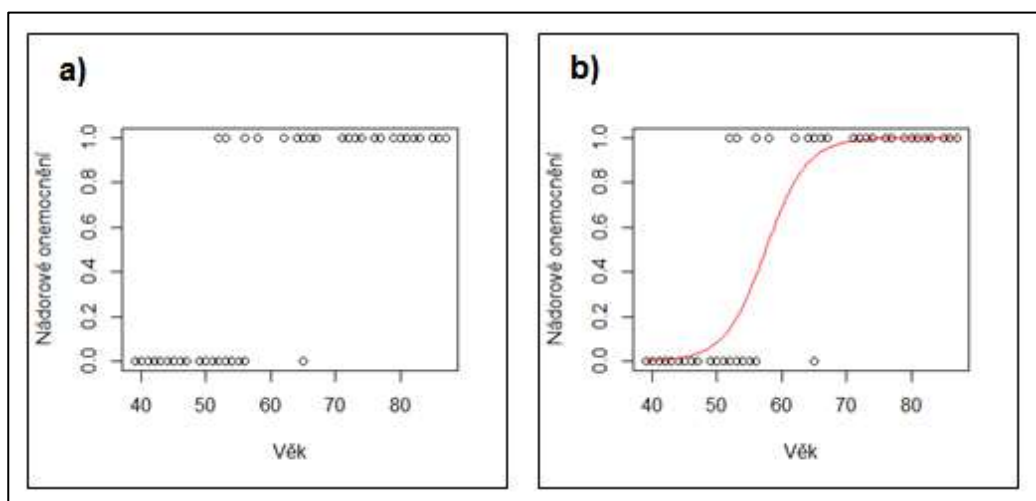
$$P(Y = 1) = \frac{1}{1 + e^{-(\beta_0 + \beta_1 x)}} \quad (1.2)$$

nebo naopak nastane $Y=0$:

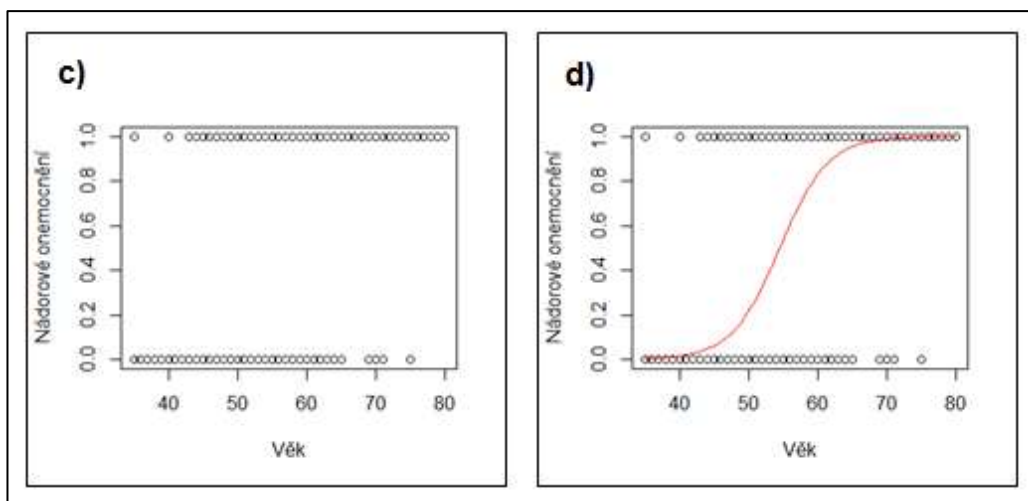
$$P(Y = 0) = \frac{1}{1 + e^{(\beta_0 + \beta_1 x)}} \quad (1.3)$$

Čili platí, že pro každé x je dána pravděpodobnost v intervalu $(0,1)$, že nastane jev $Y=1$ nebo $Y=0$.

S pomocí korelačních diagramů a křivky závislosti na obrázcích č. 4 a 5 lze demonstrovat praktičnost použití logistické funkce jako vyjádření vztahu proměnné y na vysvětlující x , což dokládá i Hosmer & Lemeshow (2000) s odkazem na Cox & Snell (1998).



Obrázek č. 4 Ilustrace využití regresní křivky závislosti v korelačních diagramech I). Grafy **a)** a **b)** zobrazují příklad o 60 pozorováních, kde je i bez křivky závislosti patrné rozložení výskytu nádorového onemocnění podle věku pacientů.



Obrázek č. 5 Ilustrace využití regresní křivky závislosti v korelačních diagramech II. Oproti obrázku č. 4 zobrazují grafy **c)** a **d)** počet pozorování roven 1000 a hustota zobrazení bodů již nelze tak snadno interpretovat pokud není použito křivky závislosti.

4. METODIKA

4.1 SBĚR DAT NA ZÁKLADĚ MONITORINGU PATOGENU *Bd* V ČR

Od roku 2008 je na našem území prováděn pravidelný monitoring výskytu *Bd*, na kterém se podílejí Civiš, Vojar a Baláž z pracovišť ČZU Praha a VFU Brno, od konce roku 2015 se monitoruje i výskyt *Bsal* (Civiš et al. 2010; Baláž et al., 2014, Vojar, in verb.).

Sběr vzorků je prováděn dle metodiky uvedené v práci Hyatt et al. (2007), kde se jako nejvhodnější postup uvádí stěr pokožky. Odchyt jedinců je prováděn ručně nebo za pomoci podběráku, přičemž při manipulaci s každým jedincem je použit nový pár latexových rukavic, aby nedocházelo k vzájemné kontaminaci jedinců (viz obrázek č. 6). Nástroje užívané k odchytu jsou mezi jednotlivými lokalitami očištěny nebo je použito nových. Adultním jedincům je prováděn stěr pokožky, zejména ventrální strany těla a na místech, jako jsou báze končetin, jejich záhyby a meziprstí. U pulců je stírána oblast ústního otvoru. V případě nálezu uhynulého dospělého se navíc odstřihávají poslední dva prsty z jedné končetiny a uchovávají se v 95% etanolu pro archivaci (Civiš et al., 2012).



Obrázek č. 6 Autor práce při sběru vzorků *Bsal*. Pořizování identifikačních fotografií pro pozdější rozpoznávání jedinců *Salamandra salamandra* (listopad 2015).

Testování vzorků na přítomnost DNA patogenu (*Bd/Bsal*) se v současnosti provádí převážně dvěma metodami. Déle a ve větší míře užívanou metodou je Real-time Taqman PCR (dále jen Taqman PCR). Tato relativně přesná metoda, která zaznamená

přítomnost i jediné zoospory ve vzorku (Boyle et al., 2004), má však i jisté nevýhody. Hlavním „handicapem“ je vyhodnocení sebraného materiálu, které lze provádět pouze ve vybavené laboratoři, což prodlužuje dobu potřebnou k potvrzení přítomnosti patogenu na dny až týdny a zároveň může dojít k degradaci či kontaminaci sebraného materiálu. Dále je prokázáno, že řada kmenů *Bd* nelze touto metodou spolehlivě indikovat (Goka et al., 2009; <http://www.optigene.co.uk/wp-content/uploads/2014/10/Using-the-Genie-Bd-3.pdf>). Druhou metodou, která se v ČR používá od roku 2014, je metoda LAMP (LOOP-MEDIATED ISOTHERMAL AMPLIFICATION; Notomi et al., 2000). Nejen, že je tato metoda schopná identifikovat více kmenů *Bd*, než metoda Taqman PCR, ale může být použita přímo v terénu, a tím je zajištěno vyvrácení či potvrzení přítomnosti patogenu na lokalitě v řádu desítek minut (<http://www.optigene.co.uk/wp-content/uploads/2014/10/Using-the-Genie-Bd-3.pdf>). Data z monitoringu *Bd* vstupující do distribučního modelu byla vyhodnocována pomocí obou výše zmíněných metod.

4.2 PŘÍPRAVA VSTUPNÍCH DAT

Data o výskytu *Batrachochytrium dendrobatidis*

Do modelu rozšíření patogenu *Bd* na území ČR vstupují data sesbíraná v terénu v průběhu let 2008–2015. Celkem se jedná o více jak 1000 vzorků sesbíraných na 51 lokalitách. Jako vysvětlovaná proměnná vstupuje do modelu přítomnost či nepřítomnost patogenu na lokalitě čili binární proměnná kódovaná pro zjednodušení jako 0 – nepřítomnost a 1 – přítomnost patogenu na lokalitě alespoň u jednoho ze vzorků. Pro potřeby modelu tedy není hlavní početnost pozitivních vzorků na lokalitě, ale pouze přítomnost patogenu. Lokality, kde byl zaznamenán alespoň jeden jedinec nesoucí na sobě patogen *Bd*, jsou označeny jako lokality pozitivní na výskyt *Bd* (čili 1). Z celkového počtu 51 lokalit bylo 33 evidováno jako pozitivních a 18 jako negativních na výskyt patogenu. Tato bodová data opatřená geografickými souřadnicemi S-JTSK byla pomocí programu ArcGIS doplněna o hodnoty environmentálních proměnných (princip graficky znázorněn na obrázku č. 6). Přílohou č. 1 je export atributové tabulky

bodové vrstvy výskytu *Bd* obsahující hodnoty environmentálních proměnných na jednotlivých lokalitách. Takto upravená data jsou finální podobou, která je připravena pro zpracování a tvorbu modelu v softwaru R.

Environmentální proměnné

Výběr environmentálních proměnných (reprezentujících vysvětlující/nezávislé proměnné), byl proveden s ohledem na ekologické nároky patogenu *Bd*. Jak bylo uvedeno výše, bylo prokázáno, že výskyt patogenu je četnější v horských a podhorských oblastech, kde panuje chladnější, vlhčí a stabilnější klima, jak uvádí Berger et al. (2016), nicméně toto tvrzení platí pro tropické a subtropické oblasti. Obecně je patogen limitován teplotou a vlhkostí a tyto hodnoty ve většině případů korelují s nadmořskou výškou.

S ohledem na výše uvedené skutečnosti a s ohledem na práce Puschendorf et al. (2009) a Ron (2005) byly jako základní environmentální proměnné ovlivňující výskyt *Bd* zvoleny:

- nadmořská výška,
- úhrn srážek,
- maximální, minimální a průměrná teplota,
- hustota výskytu obojživelníků,
- vlhkostní (topografický) index – TWI.

Z důvodu malého rozsahu klimatických podkladů získaných od ČHMÚ byl jako doplňující zdroj mapových podkladů zvolen server WORLDCLIM (<http://www.worldclim.org>). Z tohoto zdroje byly použity následující bioklimatické proměnné:

- BIO1 = roční průměrná teplota (ANNUAL MEAN TEMPERATURE),
- BIO8 = průměrná teplota nejchladnějšího čtvrtletí (MEAN TEMPERATURE OF WETTEST QUARTER),
- BIO12 = roční srážky (ANNUAL PRECIPITATION),
- BIO15 = sezónnost srážek (PRECIPITATION SEASONALITY – COEFFICIENT OF VARIATION).

K získání proměnných se správnou vypovídající hodnotou pro následující analýzu bylo nutné některé vrstvy upravit či vytvořit za použití zdrojových dat uvedených v příloze práce (viz příloha č. 3) a využití nástrojů software ArcGIS (ArcMap 10.2, ESRI).

Bodová vrstva obojživelníků čítající 39 350 záznamů o jejich výskytu na území ČR, byla pomocí funkce *KERNEL DENSITY* převedena na rastrovou vrstvu reprezentující hustotu výskytu obojživelníků. Vzniklá vrstva *amph* udává počet lokalit s výskytem obojživelníků vztažený na jednotku plochy, za kterou byl zvolen čtvereční kilometr.

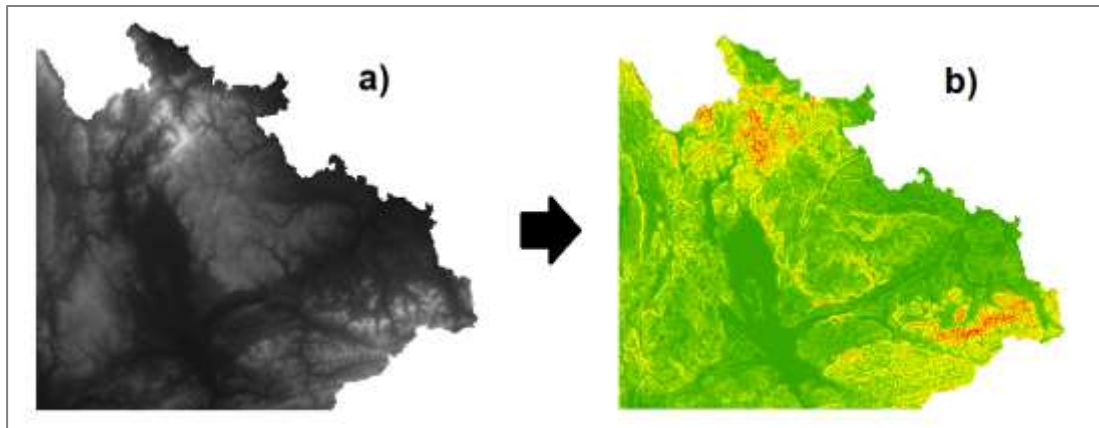
Topografický neboli vlhkostní index (TWI – TOPOGRAPHIC WETNESS INDEX nebo též CTI – COMPOUND TOPOGRAPHIC INDEX) je využíván v hydrologii k určení ploch s tendencí akumulace vody. Základní rovnice pro vyjádření tohoto indexu je:

$$w = \ln \frac{a}{\tan b} \quad (1.4)$$

Kde a představuje plochu přispívající přítokem a $\tan b$ sklon terénu v radiánech (Beven & Kirkby, 1979). Tato rovnice je založena na předpokladu, že plochá místa pod svažitéjším terénem mají tendenci k větší akumulaci vody (Barták, 2008). Pro potřeby modelování distribuce *Bd* je mapa představující hodnoty tohoto indexu proměnnou reprezentující místa, na nichž je větší pravděpodobnost vzniku mokřadního biotopu vhodného pro výskyt obojživelníků a také vhodnějšího pro přežívání patogenu.

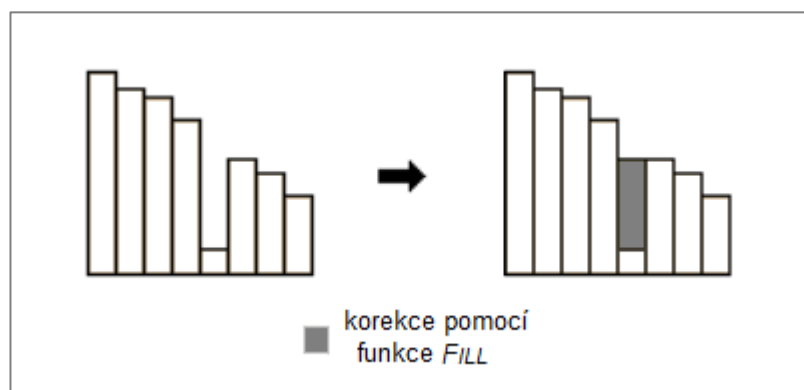
Pro tvorbu rastru představujícího hodnoty TWI byl použit digitální model reliéfu čtvrté generace (dále jen DMR; ČUZK, <http://ags.cuzk.cz/arcgis/services>). Pro zjednodušení výpočtu TWI bylo pracováno s výřezy rastru DMR. Jejich podoba, s ohledem na hydrologickou povahu indexu, byla volena jako tvar povodí toků IV. stupně (DIBAVOD, http://www.dibavod.cz/download.php?id_souboru=1418) a byla vybírána ta povodí, v nichž se nacházely lokality sběru vzorků *Bd*. Následující kroky výpočtu TWI byly již prováděny jen v rámci výřezů vybraných povodí.

V prostředí software ARCGIS byl vytvořen rastr zobrazující svažitost terénu pomocí funkce *SLOPE*, čímž po přepočtu do radiánů byla získána proměnná *b* do rovnice 1.1.



Obrázek č. 7 Tvorba proměnné *b* s využitím software ArcGIS. Použitím funkce *SLOPE* byla z digitálního modelu reliéfu ČR a) získána rastrová vrstva představující svažitost terénu b).

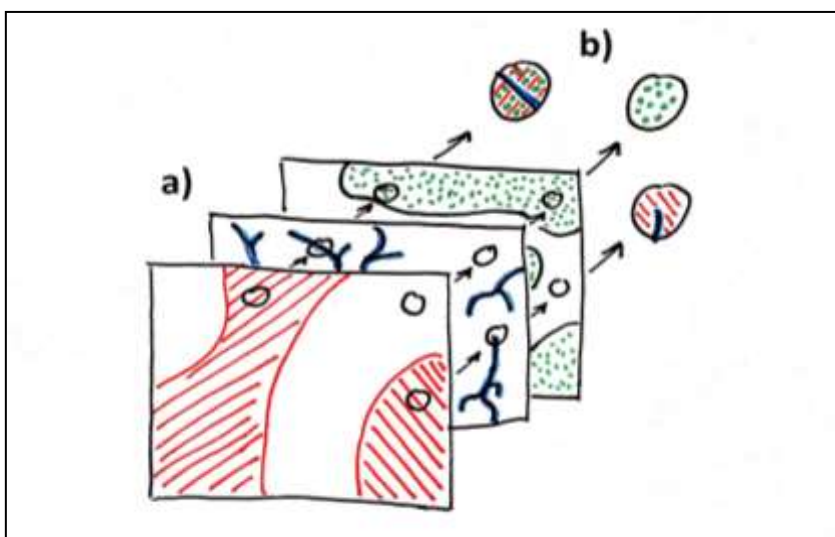
Pro výpočet proměnné *a* bylo potřebné upravit hodnoty DMR a to tak, že musely být odstraněny „chyby“ DMR v podobě terénních depresí tzv. SINKS (Mark, 1988). Tyto deprese znemožňují správný výpočet směrů odtoků, protože v nich dochází k chybné akumulaci simulované vody a je tedy nezbytné jejich vyplnění pomocí funkce *FILL*, která je součástí hydrologických funkcí software ArcGIS, a také je nejčastěji používanou metodou korekce depresí v DMR (Barták, 2008).



Obrázek č. 8 Grafické zobrazení korekce depresí v DMR. Dvouzměrný obrázek představující terén před a po odstranění depresí pomocí funkce *Fill* (zdroj: ArcGIS for Desktop Help).

Po odstranění depresí byly na základě DMR vypočítány směry odtoků vody po terénu pomocí funkce *FLOW DIRECTION*. Následně byla použita funkce *FLOW ACCUMULATION*, čímž byl získán výsledný rastr akumulace vody udávající hodnoty a rovnice 1.4.

Výpočet indexu TWI byl uskutečněn pomocí funkce *RASTER CALCULATOR*, kde byly hodnoty rastrů akumulace vody a svažitosti terénu dosazeny do rovnice 1.4. Po dokončení výpočtu vznikl rastr udávající hodnoty TWI pro každý pixel (rozlišení 5x5 m) dříve vybraných povodí, proto muselo být provedeno zprůměrování hodnot TWI pro širší okolí lokality, aby výsledná hodnota indexu nerepresentovala pouze prostor velikosti 5 m². Průměr byl vypočten funkcí *MEAN* s poloměrem výpočtu 500 m od vzorkované lokality. Tato vzdálenost byla vybrána jako přibližný akční rádius obojživelníků (Vojar et al., 2012). Výsledkem výše popsaných kroků je rastr *mtwi*.



Obrázek č. 9 Projekce environmentálních proměnných do bodových dat o výskytu druhu. **a)** Body udávající výskyt druhu, umístěné na několika mapových podkladech představujících environmentální proměnné (např. nadmořská výška, typ biotopu, atp.) **b)** Informace z mapových podkladů promítnuté do bodové vrstvy výskytu. Obrázek zobrazuje princip funkce *EXTRACT MULTI VALUES*.

Klimatické vrstvy (srážky, minimální t , maximální t , průměrná t) byly převedeny z vektorové do rastrové podoby, která byla potřebná k následné projekci jejich hodnot. Tímto vznikly klimatické rastry *prean*, *minan*, *maxan*, *tmean*.

Úpravami v programu ArcGIS byly získány tyto rastry představující výše zmíněné environmentální proměnné:

- ***elev*** – nadmořská výška
- ***amph*** – hustota výskytu obojživelníků
- ***mtwi*** – průměrná hodnota vlhkostního indexu
- ***prean*** – roční průměr srážek
- ***maxan*** – průměrná maximální teplota
- ***minan*** – průměrná minimální teplota
- ***tmean*** – průměrná roční teplota
- ***bio1*** – průměrná roční teplota
- ***bio8*** – průměrná teplota nejchladnějšího čtvrtletí
- ***bio12*** – roční úhrn srážek
- ***bio15*** – sezónnost srážek

Hodnoty všech rastrů byly promítnuty do bodové vrstvy představující lokality odběru vzorků *Bd*, a to pomocí funkce *EXTRACT MULTI VALUES*. Tímto krokem byly všem lokalitám přiřazeny hodnoty environmentálních proměnných. Export hodnot atributové tabulky byl použit jako vstupní data pro program R (příloha č. 1).

Tabulka č. 1 Základní statistické parametry environmentálních proměnných. Vysvětlivky k tabulce:
¹ minimum proměnné; ² maximum proměnné; ³ směrodatná odchylka

základní proměnné	název proměnné	MIN ¹	MAX ²	mean	SD ³	rozdíl MAX - MIN
vlhkostní index	<i>mtwi</i>	5,83	14,86	8,48	2,10	9,03
nadmořská výška	<i>elev</i>	152,13	639,33	362,65	141,39	487,20
maximální průměrná teplota	<i>maxan</i>	32	37	34,63	1,06	5
min. průměrná teplota	<i>minan</i>	-20	-15	-16,92	0,99	5
průměrné roční srážky	<i>prean</i>	600	1100	709,80	79,84	500
hustota obojživelníků (kernel)	<i>amph</i>	0	9,07	2,16	2,38	9,07
průměrná teplota	<i>tmean</i>	-0,25	2,75	1,49	0,75	3

Tabulka č. 2 Základní statistické parametry environmentálních proměnných z databáze WorldClim.

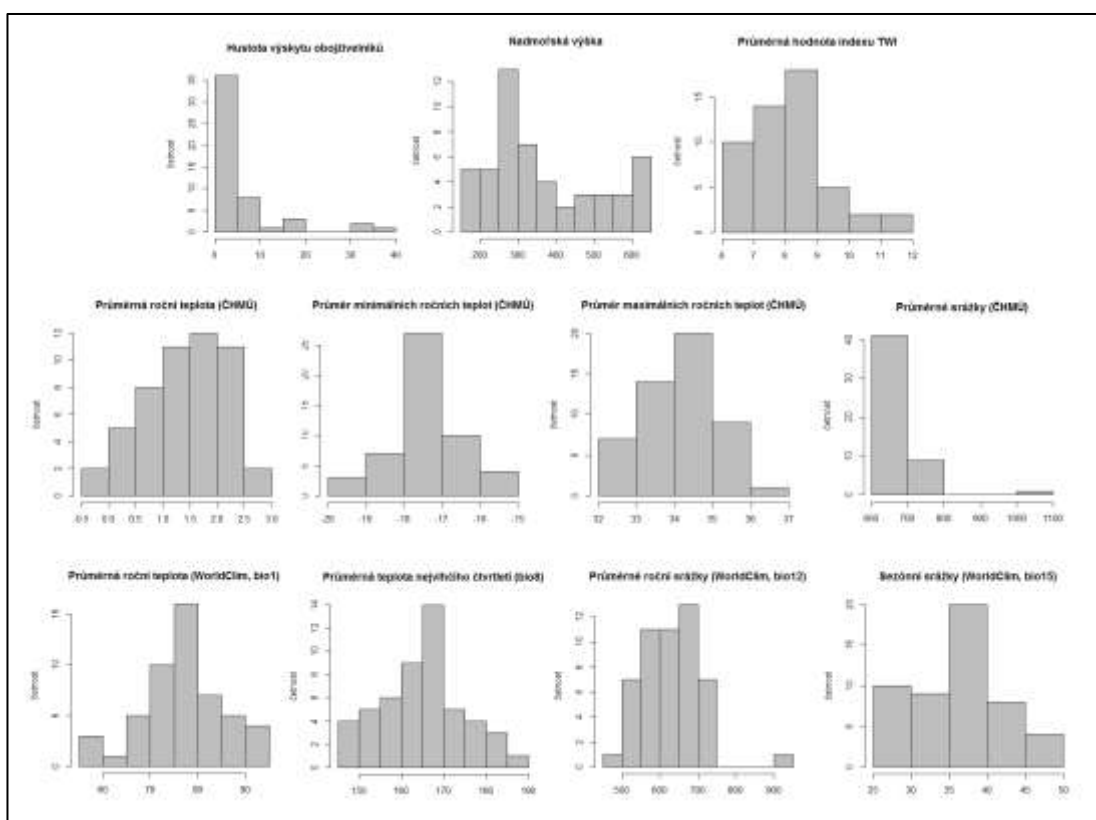
proměnné WorldClim	název proměnné	MIN	MAX	mean	SD	rozdíl MAX - MIN
Annual Mean Temperature	<i>bio1</i>	59	95	77,35	8,50	36
Mean Temper. of Wet. Q.	<i>bio8</i>	146	187	165,57	9,56	41
Annual Precipitation	<i>bio12</i>	495	917	627,72	74,69	422
Precipitation Seasonality	<i>bio15</i>	26	47	36,80	5,74	21

4.3 EXPLORATORNÍ ANALÝZA ENVIRONMENTÁLNÍCH PROMĚNNÝCH

Před tvorbou modelu byla provedena analýza vstupních dat, pro zjištění základních charakteristik environmentálních proměnných a pro zobrazení jejich závislosti na výskytu *Bd* a pomocí grafů. V následujících kapitolách bude je pracováno v prostředí programu R (verze 3.3.1, <https://www.r-project.org/>)

Analýza rozdělení proměnných

U jednotlivých environmentálních proměnných bylo vizuálně posuzováno jejich rozdělení dle histogramů vytvořených v software R, a to pomocí funkce *hist*. U histogramů bylo posuzováno, zda se přibližný tvar přibližuje k normálnímu rozdělení a jaké jsou pozorované četnosti hodnot v rámci škály jednotlivých prediktorů (viz obrázek č. 10).

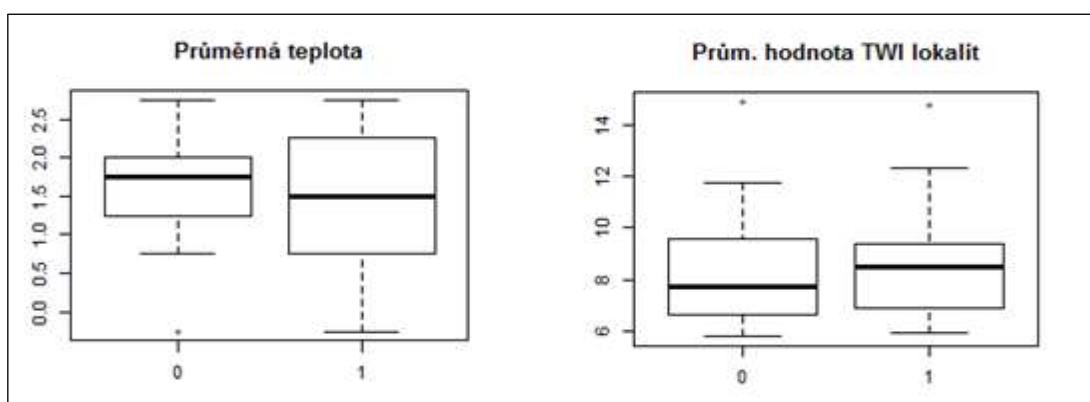


Obrázek č. 10 Histogramy 12 environmentálních proměnných vybraných pro tvorbu modelu rozšíření *Bd* v ČR, které byly vybrány pro tvorbu modelu. Osy x u grafů udávají hodnotu proměnné a osy y zobrazují četnost jednotlivých hodnot.

Vzhledem k rozložení histogramů uvedených na obrázku č. 10 nebyla již ověřována normalita dat, která v případě vysvětlujících proměnných není podmínkou pro jejich použití v modelu.

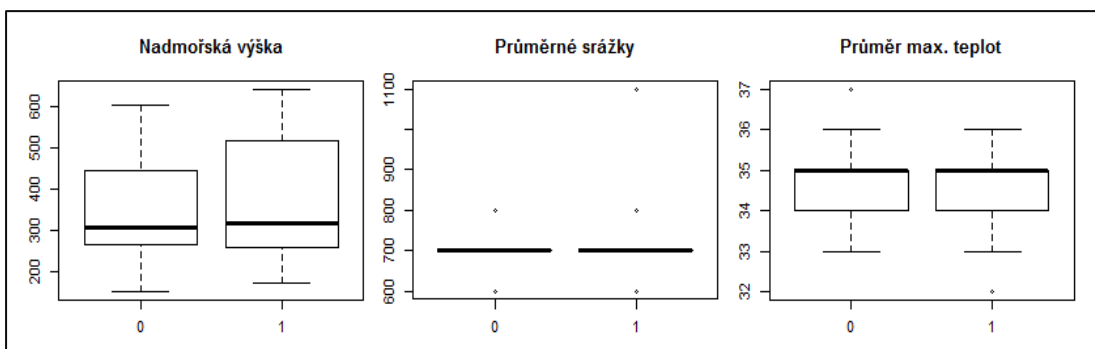
Analýza rozložení hodnot prediktorů v závislosti na výskytu patogenu

Dalším krokem analýzy bylo vytvoření krabicových grafů, anglicky Box PLOTS, zobrazujících rozložení hodnot proměnných v závislosti na přítomnosti patogenu *Bd* na lokalitách. V prostředí programu R slouží k zobrazení dat pomocí krabicových grafů funkce *boxplot*.



Obrázek č. 11 Krabicové grafy – průměrná teplota a hodnota indexu TWI. U obou grafů představuje vodorovná osa výskyt *Bd* na lokalitách. Svislé osy představují hodnotu proměnné uvedené v titulku grafu.

Z obrázku č. 11 je patrné, že na lokalitách s výskytem *Bd* panují přibližně stejné podmínky jako na lokalitách, kde výskyt patogenu zaznamenán nebyl. Tato skutečnost patrná z krabicových grafů byla v různé míře pozorována u většiny proměnných (viz příloha č. 2). U 10 z celkových 12 environmentálních proměnných byla pozorována shodná nebo téměř shodná poloha mediánu u lokalit s výskytem *Bd* a lokalit bez výskytu. Největší „grafický“ rozdíl v poloze mediánu byl zaznamenán u proměnných zobrazených na obrázku č. 11. U prezence i absence *Bd*, se hodnoty mezi 1. a 3. kvartilem z velké části překrývají u většiny environmentálních proměnných. Tato skutečnost je nejvíce patrná u proměnných zobrazených na obrázku č. 12.



Obrázek č. 12 Krabicové grafy proměnných *elev*, *prean*, *maxan*. Grafický rozdíl v hodnotách proměnných je v závislosti na výskytu *Bd* minimální.

Po předběžném zhodnocení dat pomocí krabicových grafů je patrné, že kvalitativní podmínky prostředí vykazují značnou homogenitu, porovnáme-li hodnoty lokalit s výskytem a absencí *Bd*. Tato stejnorodost v datech může být komplikací pro následnou tvorbu modelu vlivem málo významného rozdílu mezi lokalitami s výskytem a absencí *Bd*.

4.4 ANALÝZA DAT S UŽITÍM LOGISTICKÉ REGRESE

Nulová hypotéza byla definována takto: Patogen se na celém území ČR vyskytuje se stejnou pravděpodobností a jeho přítomnost v prostoru je zcela náhodná. Následně byla provedena statistická analýza za pomoci logistické regrese, která měla potvrdit/vyvrátit tuto hypotézu.

V prostředí software R se k tvorbě modelu logistické regrese využívá funkce *glm*. Tato funkce je běžně používána pro zobecněné lineární modely a v tomto případě bude rozdělení závislé proměnné nastaveno jako binomické (*family = binomial*). Model s použitím všech environmentálních proměnných *mbd* byl definován jako:

```
mbd <- glm (formula = pres ~ maxan + minan + prean + tmean + mtwi +  
             elev+ amph + bio1 + bio8 + bio12 + bio15,  
             family = binomial, data = bdch)
```

Tabulka č. 3 Výsledky modelu *mbd*.

testovaná proměnná	hodnota test. statistiky z-value	průkaznost Pr(> z)
<i>maxan</i>	0.25	0.79
<i>minan</i>	0.88	0.38
<i>prean</i>	2.12	0.03*
<i>tmean</i>	-0.68	0.49
<i>mtwi</i>	0.74	0.46
<i>elev</i>	-0.98	0.33
<i>amph</i>	2.40	0.02 *
<i>bio1</i>	1.51	0.13
<i>bio8</i>	-1.44	0.15
<i>bio12</i>	1.77	0.08 .
<i>bio15</i>	-0.06	0.95

Výsledky z výpočtu modelu *mbd* zobrazují, že velká část proměnných nevykazuje signifikantní vztah mezi závislou proměnnou a zvolenými prediktory. U 9 z 11 environmentálních proměnných je hodnota *p* výrazně nižší než 0,05. U proměnné *bio12* (roční srážky z databáze WORLDCLIM) se hodnota *p* = 0,07 přibližuje hladině významnosti a proměnné *prean* (roční srážky CHMU) a *amph* (hustota obojživelníků) se svými hodnotami *p* = 0,03 a *p* = 0,02 dostávají pod hladinu významnosti α .

Na základě výsledků prvního modelu byl vytvořen druhý model *mbd1*, v kterém byly ponechány proměnné *amph* a *prean*:

```
mbd1 <- glm (formula = pres ~ prean + amph, family = binomial,
data = bdch)
```

Tabulka č. 4 Výsledky modelu *mbd1*.

testovaná proměnná	hodnota test. statistiky z-value	průkaznost Pr(> z)
<i>prean</i>	1.930	0.0536
<i>amph</i>	2.128	0.033

Zhodnocení modelu *mbd1* označilo pouze proměnnou *amph* jako signifikantní při hodnotě $p = 0,03$. Stejně redukce modelu lze též dosáhnout použitím funkce *step(mbd)*, která na základě hodnoty AIC (Akaikeova informačního kritéria) provede zpětnou eliminaci neprůkazných proměnných. Z modelu *mbd1* byl vytvořen model *mbd2*, a to odstraněním proměnné *prean*:

```
mbd2 <- glm (formula = pres ~ amph, family = binomial, data = bdch)
```

Tabulka č. 5 Výsledky modelu *mbd2*.

testovaná proměnná	hodnota test. statistiky z-value	průkaznost Pr(> z)
<i>amph</i>	1.762	0.0781

Výsledný *mbd2* zobrazuje proměnnou *amph* s hodnotou $p = 0,08$ jako neprůkaznou. Z čehož vyplývá, že žádná z proměnných nelze použít k predikci výskytu *Bd*, a to vzhledem k nízké závislosti mezi výskytem patogenu a vysvětlujícími proměnnými.

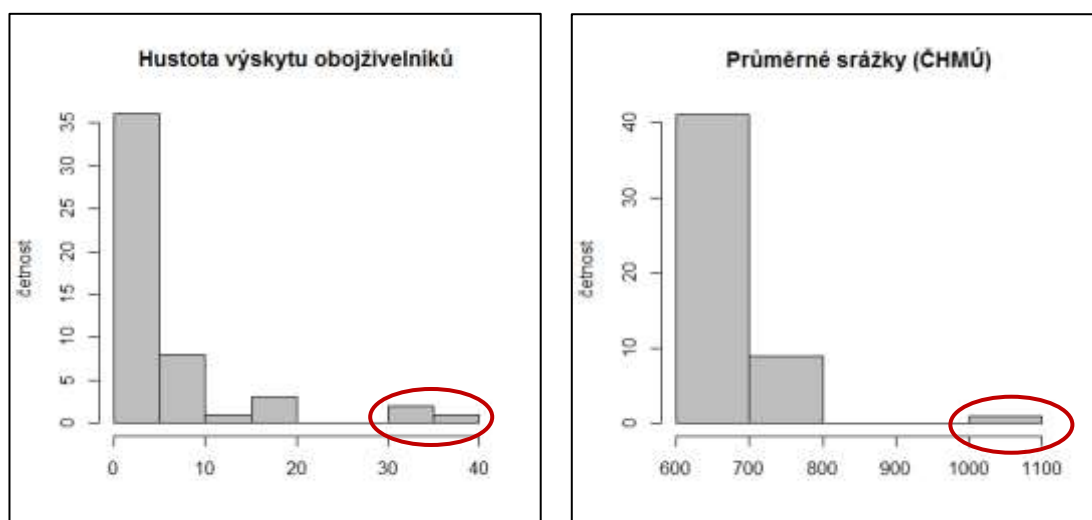
5. VÝSLEDKY PRÁCE

Cílem práce, bylo vytvoření distribučního modelu patogenu *Batrachochytrium dendrobatidis* s užitím logistické regrese a s daty sebranými během monitoringu patogenu v ČR za roky 2008–2015. Regresní modely vytvořené v rámci této práce (popsané v kapitole 4.4) vykazují minimální závislost mezi výskytem *Bd* a environmentálními proměnnými. Postupnou redukcí regresního modelu, z kterého byly odebírány proměnné bez závislosti s výskytem *Bd*, bylo dosaženo finálního modelu obsahujícího pouze proměnnou *amph* (hustota výskytu obojživelníků). Ani tento redukovaný model, o jediné vysvětlující, nevykazoval signifikantní závislost výskytu *Bd* na vysvětlující proměnné *amph*. Vzhledem k hodnotě $p = 0,08$ nebyla zamítnuta nulová hypotéza. To znamená, že pravděpodobnost výskytu *Bd* je na celém území ČR stejná a tedy výskyt patogenu je zcela náhodný a nelze jej predikovat žádnou z použitých environmentálních proměnných.

6. DISKUZE

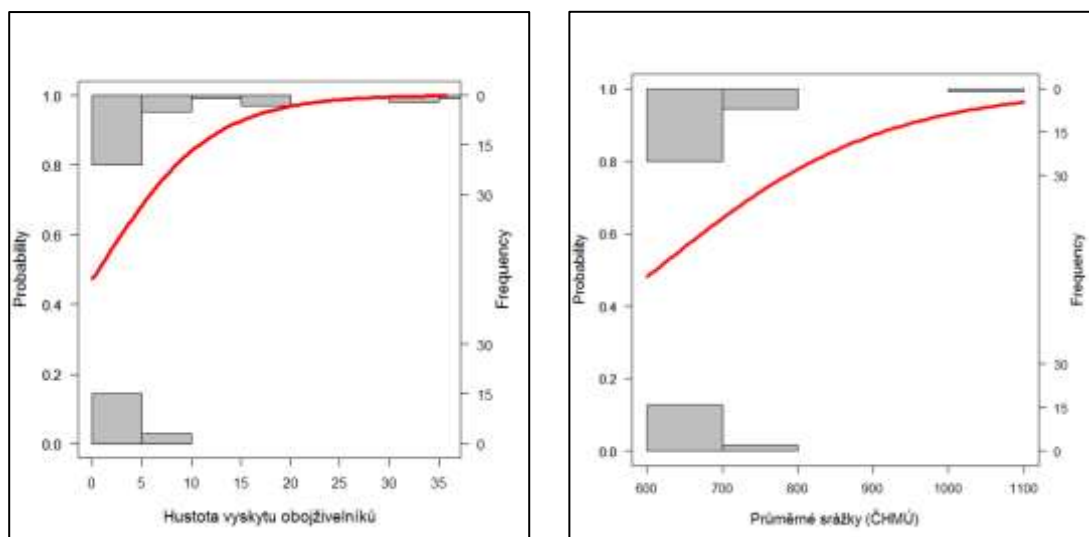
Jak již bylo uvedeno v předchozí kapitole, žádná environmentální proměnná se na základě statistické analýzy nezdá být zodpovědná za distribuci *Bd*. Již při předběžné analýze vstupních dat byly zaznamenány skutečnosti vypovídající o nízké variabilitě lokalit po stránce charakteristik popisujících kvalitu prostředí. Většina vzorkování probíhala na lokalitách s velmi málo odlišnými přírodními podmínkami. Příkladem může být proměnná *prean*, kde je viditelné, že většina hodnot se nachází v intervalu 600–800 mm srážek a pouze jedna lokalita vykazovala hodnotu 1100 mm (viz obrázek č. 13).

U některých environmentálních proměnných použitých pro model byl pozorován malý gradient či příliš hrubá škála hodnot. Tato skutečnost je nejlépe pozorovatelná na klimatických datech od ČHMÚ, v jejichž případě se jedná o diskrétní náhodné veličiny o škále s pouhými pěti hodnotami (viz tabulka č. 1). Bohužel dostupnost klimatických dat ze zdrojů ČHMÚ je poměrně problematická a je plně závislá na financích žadatele. Oproti tomu data získaná z databáze WorldClim měla větší rozsah, a to hlavně díky použitým jednotkám, kterými jsou stupně Fahrenheita namísto stupňů Celsia (použitím environmentálních podkladů ve stupních Fahrenheita de facto docílíme zjemnění teplotních proměnných $1\text{ }^{\circ}\text{C} = 33.8\text{ }^{\circ}\text{F}$). Další výhodou tohoto zdroje je jejich volná přístupnost, avšak nevýhodou představuje omezené rozlišení (pixel 1x1 km) a souřadnicový systém WGS-84, který může být značnou komplikací v použití pro území ČR, kde se obecně používá S-JTSK.



Obrázek č. 13 Histogramy proměnných *amph* a *prean*. Červeně jsou vyznačeny extrémní hodnoty zkreslující výsledky výpočtu modelu logistické regrese.

Když se zaměříme na výsledky modelů *mbd* a *mbd1* (viz kapitola 4.4), tak je pozorovatelná signifikantní závislost výskytu *Bd* na proměnných *prean* a *amph*. Dle histogramů vytvořených při předběžné analýze můžeme pozorovat, že tato závislost pochází z odlehlých hodnot vysvětlujících proměnných, které se blíží k jejich maximu, což je zobrazeno histogramy na obrázku č. 13.



Obrázek č. 14 Korelační diagramy proměnných *amph* a *prean*. Korelační diagramy jsou doplněny četnostními histogramy šedé barvy a červeně je vyznačena křivka závislosti, která by v případě logistické regrese měla mít typický tvar sigmoidy.

Pro lepší ilustraci této skutečnosti byly vytvořeny grafy pomocí funkce *logi.hist.plot* z knihovny *popbio* (viz obrázek č. 14). Na těchto grafech je patrné, že křivka závislosti pro jednotlivé proměnné jen vzdáleně připomíná tvar křivky logistické funkce. Tento typ grafu je přehlednějším oproti klasickému korelačnímu diagramu (*scatter plot*), u kterého v případě interpretace výsledků logistické regrese může docházet k překrývání hodnot na intervalech 0 a 1 osy *y* (viz kapitola 3.5), a není tak dobře patrné rozložení dat závislé proměnné podle gradientu prostředí (Smart et al., 2004), což platí hlavně při větším počtu pozorování.

Významným faktorem, který patrně ovlivnil výsledek práce, jsou zpracovávaná data o výskytu *Bd*. Jak již bylo uvedeno v kapitole 4.1, použitá data byla shromažďována od roku 2008, avšak nebyla sbírána za konkrétním účelem jejich budoucího použití pro tvorbu distribučního modelu. Došlo tedy k vzorkování lokalit, které vykazují velmi podobné hodnoty prostředí. Pro možnosti budoucí tvorby distribučního modelu

z těchto dat bude nutné vybrat nové lokality odběru vzorků, tak aby došlo k pokrytí širší škály environmentálních proměnných.

Při porovnání výsledků této práce s jinými pracemi zabývajícími se problematikou modelování rozšíření chytridiomykózy a jejích původců (Ron et. al, 2005; Puschendorf et. al, 2009), je nutné se zamyslet, zda v rámci tak malého a relativně klimaticky homogenního území jakým je ČR je vůbec možné predikovat výskyt patogenu *Bd*. Práce Ron et al. (2005) zahrnovala území Jižní a Severní Ameriky. Hodnoty proměnných jako jsou srážky nebo nadmořská výška se v tomto případě pohybovali na škále o více než 4000 jednotkách (nadmořská výška 23–4112 m a srážky 290–4383 mm). Oproti tomu studie popsána v Puschendorf et al. (2009), zahrnuje území Kostariky, které je svou rozlohou menší než ČR avšak klimatické rozdíly mezi západním a východním pobřežím jsou v porovnání s ČR nesrovnatelné. V případě této studie se gradient nadmořské výšky sledovaných lokalit pohybuje mezi 62–2000 m. V případě modelu pro ČR se hodnoty nadmořské výšky pohybovaly v rozmezí 152–639 m. Většina environmentálních proměnných byla volena obdobně jako v případě prací uvedených výše a byly pouze doplněné o hustotu výskytu obojživelníků a o index TWI představující míru zamokření lokalit. Při porovnání prací z hlediska použitých technik modelování bylo v Ron et. al (2005) a Puschendorf et. al (2009) použito ne zcela stejného postupu predikce. V práci Ron et. al (2005) bylo v software GARP vytvořeno 10 predikcí a posuzoval se výsledný počet překrytí jednotlivých modelů. Technika zvolená v Puschendorf et. al (2009) zahrnovala tvorbu 100 modelů v software MaxEnt z nichž výsledný model kombinoval 10 nejpřesnějších predikcí, které byly vybrány na základě hodnocení AUC.

7. ZÁVĚR

Tématem této práce je vyhodnocení dat o výskytu patogenu *Batrachochytrium dendrobatidis* (*Bd*) v ČR, jehož výsledkem měl být model výskytu tohoto patogenu na našem území. V současnosti celosvětově rozšířený patogen *Bd* představuje jednu z největších hrozeb pro biodiverzitu obojživelníků a dle některých vědeckých prací i největší ohrožení biodiverzity obratlovců jako takové. Patogen *Bd* spolu s nedávno objeveným příbuzným druhem *Batrachochytrium salamandrivorans* (*Bsal*) způsobuje vážné houbové onemocnění obojživelníků zvané chytridiomykóza. V rámci ochrany tuzemských obojživelníků před tímto onemocněním probíhá od roku 2008 monitoring patogenu *Bd*, během kterého bylo do konce roku 2015 sesbíráno přes 1000 vzorků na 51 lokalitách. Model rozšíření patogenu *Bd*, jež byl hlavním cílem této práce, se měl zakládat na těchto sebraných vzorcích, a na poznatcích o ekologických nárocích tohoto patogenu. Na základě 11 environmentálních proměnných reprezentujících přírodní podmínky panující v ČR byla provedena statistická analýza výskytu *Bd*. Tato analýza porovnávala místa výskytu s hodnotami těchto vysvětlujících proměnných. Během statistického zpracování dat bylo zjištěno, že zaznamenaný výskyt *Bd* nevykazuje signifikantní závislost na environmentálních proměnných a nebylo možné vytvořit model výskytu patogenu pro ČR.

I přes tento výsledek, práce obsahuje problematiku výskytu *Bd* a nastiňuje principy, jež jsou používány při tvorbě distribučních modelů.

SEZNAM POUŽITÉ LITERATURY:

- **Austin M. P., 2002:** Spatial prediction of species distribution: an interface between ecological theory and statistical modelling. *Ecological Modelling* 157: 101–118
- **Austin M. P. & Gaywood M. J., 1994:** Current problems of environmental gradients and species response curves in relation to continuum theory. *Journal of Vegetation Science* 5: 473–482
- **Baláž V., Vojar J., Civiš P., Šandera M. & Rozínek R., 2014:** Chytridiomycosis risk among Central European amphibians based on surveillance data. *Diseases of Aquatic Organisms* 112: 1–8
- **Baláž V., Vörös J., Civiš P., Vojar J., Hettyey A., Sós A., Dankovics R., Jehle R., Christiansen D. T., Clare F., Fisher M. C., Garner T. W. J. & Bielby J., 2014:** Assessing Risk and Guidance on Monitoring of *Batrachochytrium dendrobatidis* in Europe through Identification of Taxonomic Selectivity of Infection. *Conservation Biology* 28: 213–223
- **Bataille A., Fong J. J., Cha M., Wogan G. O., Baek H. J., Lee H., Min M. S. & Waldman B., 2013:** Genetic evidence for a high diversity and wide distribution of endemic strains of the pathogenic chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* in wild Asian amphibians. *Molecular Ecology* 22: 4196–4209
- **Berger L., Speare R., Daszak P., Green D. E., Cunningham A. A., Goggin C. L., Slocombe R., Ragan M. A., Hyatt A. D., McDonald K. R., Hines H. B., Lips K. R., Marantelli G. & Parkes H., 1998:** Chytridiomycosis causes amphibian mortality associated with population declines in the rain forests of Australia and Central America. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 95: 9031–9036

- **Berger L., Hyatt A., Speare R. & Longcore J. E., 2005:** Lifecycle stages of *Batrachochytrium dendrobatidis*, the amphibian chytrid. *Diseases of Aquatic Organisms* 68: 51–63
- **Berger L., Roberts A. A., Voyles J., Longcore J. E., Murray K. A. & Skerratt L. F., 2016:** History and recent progress on chytridiomycosis in amphibians. *Fungal Ecology* 19: 89–99
- **Beven K. J. & Kirkby M. J., 1979:** A physically based, variable contributing area model of basin hydrology". *Hydrological Science Bulletin* 24: 43–69.
- **Bosch J. & Martínez-Solano I., 2005:** Chytrid fungus infection related to unusual mortalities of *Salamandra salamandra* and *Bufo bufo* in the Peñalara Natural Park (Central Spain). *Biological Conservation* 97: 331–337
- **Boyle D. G., Boyle B. D., Olsen V., Morgan J. A. T. & Hyatt A. D., 2004:** Rapid quantitative detection of chytridiomycosis (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in amphibian samples using real-time Taqman PCR assay. *Diseases of Aquatic Organisms* 60: 141–148
- **Burgman M. A., Lindenmayer D. B. & Elith J., 2005:** Managing landscapes for conservation under uncertainty. *Ecology* 86: 2007–2017
- **Civiš P., Vojar J. & Baláž V., 2010:** Chytridiomykóza, hrozba pro naše oboživelníky? *Ochrana přírody* 65(4): 18–20
- **Civiš P., Vojar J., Literák I. & Baláž V., 2012:** Current State of *Bd* Occurrence in the Czech Republic. *Herpetological Review* 43(1): 150–159

- **Cox D. R. & Snell E. J., 1989:** Analysis of Binary Data, Second Edition. Chapman & Hall, London.
- **Cunningham A. A., Beckmann K., Perkins M. & Fitzpatrick L., 2015:** SURVEILLANCE Emerging disease in UK amphibians. Institute of Zoology, Zoological Society of London
- **Elith J. & Laethwick J. R., 2009:** Species Distribution Models: Ecological Explanation and Prediction Across Space and Time. Annual Review of Ecology and Systematics 40: 677–97
- **Franklin J., 1995:** Predictive vegetation mapping: geographic modelling of biospatial patterns in relation to environmental gradients. Progress in Physical Geography 19: 474–499
- **Franklin J. & Miller J. A., 2009:** Mapping Species Distribution. Spatial Inference and Prediction. Cambridge University Press, England
- **Gibson R. C. & Freeman M., 1997:** Conservation at home: Recovery programme for the agile frog *Rana dalmatina* in Jersey. Dodo-Journal of the Wildlife Preservation Trusts 33: 91–104
- **Goka K., Yokoyama J., Une Y., Kuroki T., Suzuki K., Nakahara M., Kobayashi A., Inaba S., Mizutani T. & Hyatt A. D., 2009:** Amphibian chytridiomycosis in Japan: distribution, haplotypes and possible route of entry into Japan. Molecular Ecology 18: 4757–4774
- **Gray M. J., Lewis J. P., Nanjappa P., Klocke B., Pasmans F., Martel A., Stephen C., Olea G. P., Smith S. A., Sacerdote-Velat A., Christman M. R., Williams J. M. & Olson D. H., 2015:** *Batrachochytrium salamandrivorans*: The North American Response and a Call for Action. PLoS Pathogens 11(12): e1005251

- **Hallatschek O. & Fischer D. S., 2014:** Acceleration of evolutionary spread by long-range dispersal. *Proceedings of the National Academy of Sciences* 111 (46): E4911–E4919

- **Hosmer D. W. & Lemeshow S., 2000:** *Applied Logistic Regression*, 2nd ed., New York; Chichester, Wiley, ISBN 0-471-35632-8.

- **Hyatt A. D., Boyle D. G., Olsen V., Boyle D. B., Berger L., Obendorf D., Dalton A., Kriger K., Hero M., Hines H., Phillott R., Campbell R., Marantelli G., Gleason F. & Colling A.– 2007:** Diagnostic assays and sampling protocols for the detection of *Batrachochytrium dendrobatidis*. *Diseases of Aquatic Organisms* 73: 175–192

- **Johnson M. L. & Speare R., 2003:** *Batrachochytrium dendrobatidis* in water: quarantine and disease control implications. *Emerging Infectious Diseases* 9: 922–925

- **Kalina T. & Váňa J., 2005:** *Sinice, řasy, houby, mechorosty a podobné organismy v současné biologii*. Karolinum, Praha

- **Kriger K. M. & Hero J. M., 2007:** The chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis* is non-randomly distributed across amphibian breeding habitats. *Diversity and Distributions* 13: 781–788

- **Longcore J. E., Pessier A. P. & Nichols D. K., 1999:** *Batrachochytrium dendrobatidis* gen et sp. nov., a chytrid pathogen to amphibians, *Mycologia* 91: 219–227

- **Lehmann A., Overton J. McC. & Austin M. P., 2002:** Regression models for spatial prediction: their role for biodiversity and conservation. *Biodiversity and Conservation* 11: 2085–2092

- **Letcher P. M., Powell M. J., Churchill P. F. & Chambers J. G., 2006:** Ultrastructural and molecular phylogenetic delineation of a new order, the *Rhizophydiales* (Chytridiomycota). *Mycological Research* 110: 898–915

- **Marantelli G., Berger L., Speare R. & Keegan L., 2004:** Distribution of the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis* and keratin during tadpole development. *Pacific Conservation Biology* 10: 173–179

- **Mark D. M., 1988:** Network Models in Geomorphology. *Modelling Geomorphological Systems*, ed. M. G. Anderson. New York: John Wiley. 73–97

- **Martel A., Spitzen-van der S. A., Blooi M., Bert W., Ducatelle R., Fisher M. C., Woeltjes A., Bosman W., Chiers K., Bossuyt F. & Pasmans F., 2013:** *Batrachochytrium salamandrivorans* sp. nov. causes lethal chytridiomycosis in amphibians. *Proceedings of the National Academy of Sciences of the United States of America* 110: 15325–15329

- **Martel A., Blooi M., Adriaensen C., Rooij V. P., Beukema W. & 22 others, 2014:** Recent introduction of chytrid fungus endangers Western Palearctic salamanders. *Science* 346: 630–631

- **Notomi T., Okayama H., Masubuchi H., Yonekawa T., Watanabe K., Animo N. & Hese T., 2000:** Loop-mediated isothermal amplification of DNA. Oxford University Press, *Nucleic Acid Research* 28 (12): e63

- **Olson D. H., Aanensen D. M., Ronnenberg K. L., Powell C. I., Walker S. F., Bielby J., Garner T. W. J., Weaver G. & Fisher M. C., 2013:** Mapping the global emergence of *Batrachochytrium dendrobatidis*, the amphibian chytrid fungus. *PLoS One* 8 e56802

- **Piotrowski J. S., Annis S. L. & Longcore J. E., 2004:** Physiology of *Batrachochytrium dendrobatidis*, a chytrid pathogen of amphibians. *Mycologia* 96: 9–15

- **Puschendorf R., Carnaval A. C., VanDerWal J., Zumbado-Ulate H., Chaves G., Bolaños F. & Alford R. A., 2009:** Distribution models for the amphibian chytrid *Batrachochytrium dendrobatidis* in Costa Rica: proposing climatic refuges as a conservation tool. *Diversity and Distributions* 15: 401–408

- **Rodriguez D., Becker C. G., Pupin N. C., Haddad C. F. B. & Zamudio K. R., 2013:** Long-term endemism of two highly divergent lineages of the amphibian-killing fungus in the Atlantic Forest of Brazil. *Molecular Ecology* 23: 774–787

- **Ron S. R., 2005:** Predicting the Distribution of the Amphibian Pathogen *Batrachochytrium dendrobatidis* in the New World. *BIOTROPICA* 37(2): 209–221

- **Sabino-Pinto J., Bletz M., Hendrix R., Perl R. G. B., Martel A., Pasmans F., Lötters S., Mutschmann F., Schmeller D. S., Schmidt B. R., Veith M., Wagner N., Vences M. & Steinfartz S., 2015:** First detection of the emerging fungal pathogen in Germany. *Amphibia-Reptilia* 36: 411–416

- **Sedlák M., 2013:** Modelování prostorové distribuce chytridiomykózy pomocí software MaxEnt. Bakalářská práce (nepublikováno). Katedra ekologie, Fakulta životního prostředí, Česká zemědělská univerzita v Praze.

- **Skerratt L. F., Berger L., Speare R., Cashins S., McDonald K., Phillott A., Hines H. & Kenyon N., 2007:** The spread of chytridiomycosis has caused the rapid global decline and extinction of frogs. *EcoHealth* 4: 125–134

- **Smart J., Sutherland W. J., Watkinson A. R. & Gill J. A., 2004):** A New Means of Presenting the Results of Logistic Regression. *The Bulletin of the Ecological Society of America* 85: 100–102

- **Stevenson L. A., Alford R. A., Bell S. C., Roznik E. A., Berger L. & Pike D. A., 2013:** Variation in thermal performance of a widespread pathogen, the amphibian chytrid fungus *Batrachochytrium dendrobatidis*. *PLoS One* 8, e73830

- **Tarrant J., Cilliers D., du Preez L. H. & Weldon C., 2013:** Spatial assessment of amphibian chytrid fungus (*Batrachochytrium dendrobatidis*) in South Africa confirms endemic and widespread infection. *PLoS One* 8, e69591

- **Tatem A. J., Rogers D. J. & Hay S. I., 2006:** Global transport networks and infectious disease spread. *Advances in Parasitology* 62: 293–343

- **Van Rooij P., Martel A., Haesebrouck F. & Pasmans F., 2015:** Amphibian chytridiomycosis: a review with focus on fungus-host interactions. *Veterinary Research* 46: 137

- **Vojar J., Zavadil V. & Musilová R., 2012:** Biodiverzita obojživelníků. In: Machar I., Drobilová L. [eds]: *Ochrana přírody a krajiny v České republice: vybrané aktuální problémy a možnosti jejich řešení*. Univerzita Palackého, Olomouc, pp: 653–659

- **Zlámal F., 2013:** Logistická regrese v R. Bakalářská práce (nepublikováno). Ústav statistiky a matematiky, Přírodovědecká fakulta, Masarykova univerzita v Brně.